

Aus der Medizinischen Klinik  
der Universität Würzburg  
Direktor: Professor Dr. med. G. Ertl

**Einfluss zusätzlicher Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorblockade auf  
postinterventionelle Troponin-Freisetzung und Inflammationsantwort bei  
elektiver perkutaner Koronarintervention am Menschen**

**Die doppelblind-randomisierte prospektive TOPSTAR-Studie**

Inaugural – Dissertation  
zur Erlangung der Doktorwürde der  
Medizinischen Fakultät  
der  
Bayerischen Julius-Maximilians-Universität zu Würzburg

vorgelegt von

Björn Daniel Lengenfelder  
aus Würzburg

Würzburg, Oktober 2004

Referent: Professor Dr. W. Voelker

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. A. Bonz

Dekan: Professor Dr. G. Ertl

Tag der mündlichen Prüfung: 12. Januar 2007

Der Promovend ist Arzt

Meinen wunderbaren Eltern  
in Liebe und Dankbarkeit

## Abkürzungen

ACC	American College of Cardiology
ACE	Angiotensin converting enzyme
ACT	Activated clotting time
CK	Kreatinkinase
CK-MB	Kreatinkinase-MB
CRP	C-reaktives Protein
ESC	European Society of Cardiology
GP	Glykoprotein
Hb	Hämoglobin
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 $\beta$
IL-6	Interleukin-6
INR	international normalized ratio
LDH	Laktatdehydrogenase
MEDU	Medizinische Überwachungsstation
PAU	Platelet aggregation units
PCI	Perkutane Koronarintervention
PTT	Partial thromboplastin time
RCA	Rechte Koronararterie
RCX	Ramus circumflexus
RIVA	Ramus interventricularis anterior
RPFA	Rapid platelet function assay
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor- $\alpha$
TnT	Troponin T
TOPSTAR	<b>T</b> roponin in elective <b>P</b> TCA / <b>S</b> Tentimplantation with or without <b>A</b> ministration of the glycoprotein IIb/IIIa <b>R</b> eceptor antagonist Tirofiban
TVR	Target vessel revascularisation

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1</b>	<b>Einleitung</b> ..... 1
1.1	Troponin-Freisetzung nach elektiver PCI ..... 1
1.2	Entzündungsreaktion nach elektiver PCI ..... 2
1.3	Ziel der TOPSTAR-Studie ..... 3
<b>2</b>	<b>Patienten und Methoden</b> ..... 4
2.1	Studiendesign ..... 4
2.2	Einschluss- und Ausschlusskriterien ..... 5
2.3	Definition von Komplikationen ..... 5
2.4	Patienten ..... 6
2.5	Patientencharakteristik und Ausgangsmedikation ..... 7
2.6	Patientenrandomisierung und Blutabnahmen ..... 8
2.7	Ultegra® rapid platelet function Assay (RPFA)-Thrombozyten- funktionsmessung ..... 11
2.8	Troponin T-Assay ..... 12
2.9	Zytokin-Detektions-Assay ..... 13
2.10	Follow-up-Abfrage ..... 13
2.11	Datenbank ..... 14
2.12	Statistische Analyse ..... 14
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b> ..... 15
3.1	Angiographie- und Interventionsdaten ..... 15
3.2	Klinischer Verlauf und Komplikationen ..... 16
3.3	Thrombozytenfunktion..... 17
3.4	Sekundärer Studienendpunkt..... 18
3.5	Primärer Studienendpunkt ..... 19
3.5.1	Kardiale Ischämieparameter nach PCI ..... 19
3.5.1.1	Troponin T ..... 19
3.5.1.2	Kreatinkinase (CK)/ Kreatinkinase-MB Isotyp (CK-MB) ..... 21
3.5.1.3	Laktatdehydrogenase ..... 22
3.5.2	Entzündungsparameter nach PCI ..... 23
3.5.2.1	C-reaktives Protein ..... 23
3.5.2.2	Tumornekrosefaktor- $\alpha$ ..... 25
3.5.2.3	Interleukin-6..... 27
3.5.2.4	Interleukin-1 $\beta$ ..... 29
3.5.3	Hämoglobin ..... 30
3.5.4	Gerinnungsparameter ..... 30
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> ..... 32
4.1	Vorbehandlung mit Aspirin und Clopidogrel ..... 32
4.2	Thrombozyten-Inhibition durch Aspirin, Clopidogrel <i>und</i> Tirofiban .... 34
4.3	Korrelation zwischen Troponin T/ CK-MB und Ergebnis..... 34
4.4	Troponin-Freisetzung nach PCI..... 35

4.5	Reduktion Troponin T-positiver Patienten durch Tirofiban.....	39
4.6	Entzündungsantwort nach PCI.....	40
<b>5</b>	<b>Grenzen der Studie</b> .....	<b>46</b>
5.1	Ischämieparameter.....	46
5.2	Entzündungsreaktion.....	47
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>49</b>
<b>7</b>	<b>Schlussfolgerung</b> .....	<b>51</b>
<b>8</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>53</b>
8.1	Aufklärungsbogen.....	53
8.2	Einverständniserklärung.....	54
<b>9</b>	<b>Finanzielle Unterstützung</b> .....	<b>55</b>
<b>10</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>56</b>

# 1 Einleitung

## 1.1 Troponin-Freisetzung nach elektiver PCI

Lange Zeit vertraute man im Streben nach einer optimalen Behandlung bei elektiven perkutanen Koronarinterventionen (PCI) auf die Gabe von Aspirin vor oder während der PCI. Mitte der neunziger Jahre wurden dann Daten veröffentlicht, die zeigten, dass bei Koronarinterventionen und Stentimplantationen eine Inhibition der Thrombozytenfunktion mit Aspirin und Clopidogrel als zusätzlichen Thrombozyten-Aggregationshemmern die Inzidenz von In-Stent-Thrombosen senken konnte<sup>1,2</sup>. Darüber hinaus konnte die CURE-Studie bei Patienten mit instabiler Angina pectoris eine signifikante Reduktion der Mortalität unter Kombinationstherapie mit Aspirin *und* Clopidogrel nachweisen<sup>3</sup>. Obwohl bekannt ist, dass zwischen Freisetzung des Herzmuskelenzyms Kreatinkinase bzw. dem herzspezifischen Troponin und klinischer Prognose ein Zusammenhang besteht, liegen bisher noch keine Daten vor, inwieweit diese Kombinationsbehandlung Einfluss auf die peri- und postinterventionelle Troponin-Freisetzung bei elektiven Interventionen hat<sup>4,5</sup>. Eine noch weitergehende Thrombozyteninhibition lässt sich durch Einsatz von Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten, welche die Endstrecke der Thrombozytenvernetzung regulieren, erreichen. Möglicherweise auch durch Verbesserung der koronaren Mikrozirkulation erwiesen sie sich bei interventioneller Therapie akuter Koronarsyndrome als sehr effektiv<sup>6,7,8,9,10</sup>. Bei elektiver PCI wurde der Einfluss von Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten auf Freisetzung ischämischer Parameter bisher allerdings ausschließlich im Rahmen von Subgruppenanalysen großer klinischer Studien analysiert. Dabei gibt es Hinweise, dass auch bei nicht-akuten perkutanen Koronarinterventionen Troponin freigesetzt wird<sup>11,12</sup>. Dies ist deshalb von Bedeutung, weil die Freisetzung kardialer Ischämieparameter mit der Kurz- und Langzeitprognose elektiver Patienten korreliert<sup>13,14</sup>.

## 1.2 Entzündungsreaktion nach elektiver PCI

Die Entzündungsreaktion ist eines der Schlüsselereignisse während der Entstehung und dem Fortschreiten der koronaren Herzkrankheit<sup>15,16,17</sup>. Ein Anstieg entzündlicher Marker wie C-reaktives Protein (CRP) oder Zytokine wurde bei an Angina pectoris leidenden Patienten gefunden<sup>18</sup>. Noch deutlicher war der Anstieg der Entzündungswerte bei Patienten mit akuten Koronarsyndromen<sup>19,20</sup>. Es konnte gezeigt werden, dass die prä- und postinterventionellen Spiegel zirkulierender Entzündungsmarker Aussagekraft für die klinische Kurz- und Langzeitprognose bei akuten, aber ebenso bei elektiven Koronarinterventionen besitzen<sup>21,22</sup>. Nach Gabe des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Abciximab wurde eine Suppression postinterventioneller Entzündungsparameter beschrieben<sup>23</sup>. Es blieb allerdings ungeklärt, auf welchem Mechanismus diese reduzierte Entzündungsreaktion beruht. So könnte dies auf einen Nebeneffekt des Fab-Antikörper-Fragmentes (c7E3) durch Blockade des Vitronektin ( $\alpha_v\beta_3$ )-Rezeptors und des Mac-1 ( $\alpha_M\beta_2$ )-Rezeptors auf Leukozyten zurückzuführen sein<sup>23</sup>. Aber auch eine Reduzierung von Mikroembolisation mit nachfolgend geringeren ischämisch bedingten Myokardnekrosen könnte für die beobachtete Abschwächung der Entzündungsantwort verantwortlich sein.

### 1.3 Ziel der TOPSTAR-Studie

Ziel der TOPSTAR-Studie war es,

- 1) die Inzidenz und den zeitlichen Verlauf einer Troponin-Freisetzung als Marker myokardialer Ischämie bei elektiven Interventionen unter Vorbehandlung mit Aspirin und Clopidogrel zu untersuchen,
- 2) den zusätzlichen Einfluss des peri- und postinterventionell verabreichten Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptor-antagonisten Tirofiban (Aggrastat<sup>®</sup>) auf die Freisetzung ischämischer Parameter nach elektiver PCI zu prüfen,
- 3) die Inzidenz und den zeitlichen Verlauf einer Entzündungsreaktion nach elektiver PCI zu analysieren und den postinterventionellen inflammatorischen Verlauf nach elektiver PCI sowie einen potenziellen Einfluss des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Tirofiban auf die Entzündungsreaktion zu untersuchen.

Primärer Endpunkt der Studie war die Inzidenz postinterventioneller Troponin-Freisetzung.

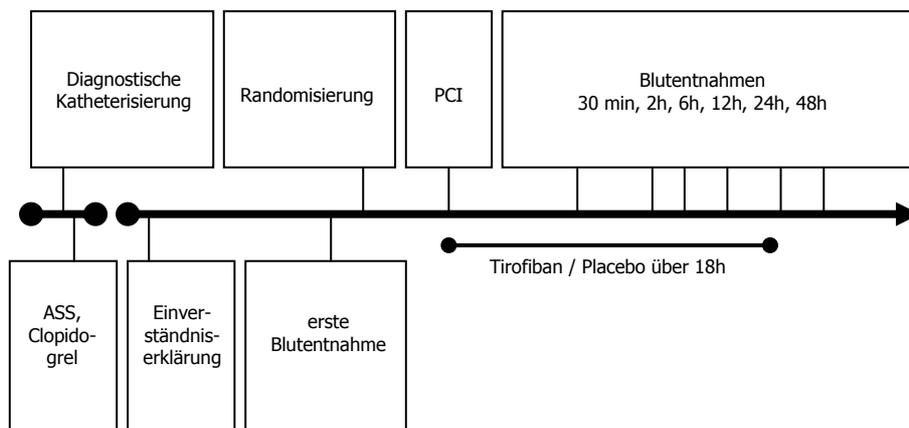
Sekundärer kombinierter Endpunkt war das Auftreten von Tod, Myokardinfarkt oder operativer Revaskularisation des Zielgefäßes.

Ebenso wurde das inflammatorische Profil der beiden Gruppen nach PCI verglichen.

## 2 Patienten und Methoden

### 2.1 Studiendesign

Die TOPSTAR-Studie ist eine monozentrische, doppelblind-randomisierte, prospektive Studie, welche vom 24. Juli 2000 bis zum 30. März 2001 an der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg durchgeführt wurde. Die Patienten unterzogen sich einer diagnostischen Koronarangiographie zur Abklärung einer koronaren Herzerkrankung bei typischer pektanginöser Beschwerdesymptomatik. Bei Diagnosestellung einer signifikanten, interventionsbedürftigen Stenose an einem Herzkranzgefäß wurde ein zweizeitiges Vorgehen mit einer optimalen medikamentösen Vorbehandlung mit Aspirin (500 mg) und Clopidogrel (375 mg) vor geplanter Intervention vereinbart. Die Gabe erfolgte spätestens einen Tag vor der elektiven PCI.



**Abb. 1:** Flow-Chart der TOPSTAR-Studie. Im Anschluss an die diagnostische Katheteruntersuchung wurden die Patienten mit Aspirin und Clopidogrel vorbehandelt. Nach Randomisierung wurde bei den Patienten in einer zweiten Sitzung die elektive PCI unter peri- und postinterventioneller 18-stündiger Tirofiban- bzw. Placebo-Therapie durchgeführt. Die Blutentnahmen fanden zu den angegebenen Zeitpunkten statt.

Die die Studienkriterien erfüllenden Patienten wurden in der Zwischenzeit dem verantwortlichen Studienleiter gemeldet, der nun die Patienten über Inhalt und Durchführung der Topstar-Studie aufklärte. Nach ausreichender Bedenkzeit und

Gelegenheit zur Nachfrage erklärten die Patienten schriftlich ihr Einverständnis zur Studienteilnahme (siehe Anhang 1 und 2). Die Studie basierte auf den Richtlinien der revidierten Deklaration von Helsinki vom 10.10.1975 und wurde von der Ethik-Kommission der Universität Würzburg genehmigt.

## 2.2 Einschluss- und Ausschlusskriterien

In die Studie wurden Patienten eingeschlossen, bei denen in der diagnostischen Koronarangiographie eine signifikante Lumeneinengung eines Koronargefäßes von  $\geq 70$  % festgestellt und somit die Indikation zur elektiven Ballondilatation/ Stentimplantation gestellt wurde. Die Hauptausschlusskriterien definierten sich durch jegliche Art von akuten ischämischen kardialen Ereignissen (akutes Koronarsyndrom, subakuter oder akuter Myokardinfarkt, anhaltende pektanginöse Schmerzen während der letzten sieben Tage) und Stenosierungen in venösen oder arteriellen Bypass-Gefäßen.

Weiterhin waren Patienten von der Studie ausgeschlossen, wenn sie eine oder mehrere der folgenden Ausschlusskriterien erfüllten: Alter  $\leq 18$  und  $\geq 81$  Jahre, Niereninsuffizienz, gegenwärtige Ulcera ventriculi oder bereits frühere Blutungsanamnese, bekannte oder aktuell aufgetretene Thrombozytopenie, thrombolytische Therapie innerhalb der letzten 24 Stunden, Insult innerhalb der letzten zwei Jahre, unkontrollierbare Hypertonie, bekannte Neoplasmen und letztlich eine vorausgegangene oder aktuell geplante Gabe eines Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten.

## 2.3 Definition von Komplikationen

Bei Blutungen wurde zwischen kleineren und größeren Blutungen differenziert. Kleinere Blutungen waren definiert als verlängerte Blutung aus der Punktionsstelle im Anschluss an das Entfernen der arteriellen Schleuse oder die Notwendigkeit einer verlängerten Kompression (FemoStop<sup>®</sup>). Größere Blutungen waren definiert durch Hämoglobin-Abfall um mehr als 5 g/dl sowie durch die Notwendigkeit einer Erythrozyten-Konzentrat-Transfusion.

Unter schweren Komplikationen des kardiovaskulären Systems wurden Tod, Myokardinfarkt sowie frühe Re-Intervention binnen 24 Stunden, das Auftreten eines akuten Koronarsyndroms mit charakteristischen EKG-Veränderungen, nicht-hämorrhagischer Insult oder intrakranielle Blutung verstanden.

#### 2.4 Patienten

Von 109 in die Studie aufgenommenen Patienten konnten letztendlich 96 Patienten endgültig eingeschlossen werden. Diese Differenz erklärt sich wie folgt: Aufgrund technischer Gründe mussten fünf Patienten wieder ausgeschlossen werden, bei drei Patienten handelte es sich bei der Ausgangsstenose um einen initialen Koronarspasmus ohne Behandlungsrelevanz, ein weiterer Patient wurde nach iatrogen drahtinduzierter Seitenastperforation noch vor Gabe der Studienmedikation ausgeschlossen, bei drei Patienten wurde eine Bypass-Operation der PCI vorgezogen und ein Patient musste entblindet sowie die Medikation nach vier Stunden gestoppt werden, da der Patient ein klinisch nicht relevantes, aber kontinuierlich andauerndes Nasenbluten entwickelte. Dieser Patient wurde in der intensio-n-to-treat Analyse berücksichtigt.

## 2.5 Patientencharakteristik und Ausgangsmedikation

Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug  $63,7 \pm 1,5$  Jahre in der Tirofiban-Gruppe und  $65,5 \pm 1,6$  Jahre in der Placebo-Gruppe (n.s.). Bezüglich der übrigen Patientenbasisdaten wie Geschlecht, Gewicht, Größe sowie Body Mass Index (BMI) waren beide Gruppen ebenfalls nicht signifikant unterschiedlich.

	Tirofiban (n=50)	Placebo (n=46)	Signifikanz p
Alter (Jahre)	$63,7 \pm 1,5$	$65,5 \pm 1,6$	n.s.
Geschlecht (% männlich)	74,0	76,1	n.s.
Gewicht (kg)	$79,3 \pm 1,8$	$80,0 \pm 1,9$	n.s.
Größe (cm)	$171,0 \pm 1,1$	$170,0 \pm 0,9$	n.s.
Body-Mass-Index (BMI)	$27,1 \pm 0,4$	$27,7 \pm 0,6$	n.s.
Nikotinabusus (%)	40,0	34,8	n.s.
Arterielle Hypertonie (%)	74,0	76,1	n.s.
Familiäre Disposition (%)	74,0	87,0	n.s.
Hyperlipoproteinämie (%)	61,2	52,2	n.s.
• LDL (mg/dl)	$131,3 \pm 4,1$	$134,0 \pm 6,4$	n.s.
• HDL (mg/dl)	$49,9 \pm 2,1$	$46,7 \pm 1,7$	n.s.
• Gesamtcholesterin (mg/dl)	$216,4 \pm 4,6$	$225,0 \pm 7,6$	n.s.
• Triglyzeride (mg/dl)	$171,2 \pm 11,6$	$221,8 \pm 17,2$	n.s.
Diabetes mellitus (%)	20,0	26,1	n.s.
Früherer Infarkt (%)	42,0	34,8	n.s.

**Tab. 1:** Tabellarische Übersicht über die Basisdaten sowie das Risikoprofil der Studienpatienten.

Auch bei den kardiovaskulären Risikofaktoren (Nikotinabusus, arterielle Hypertonie, familiäre Disposition, Hyperlipoproteinämie und Diabetes mellitus) sowie der Anamnese früherer Infarktereignisse ergab sich kein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen. Die Medikamentenanamnese bei Klinikaufnahme zeigte hinsichtlich Glykosiden, Beta-Blockern, Calciumantagonisten, ACE-Inhibitoren/ AT<sub>1</sub>-Rezeptorantagonisten, Nitraten, Diuretika, Lipidsenkern, Antikoagulantien, Clopidogrel und Aspirin eine gleichmäßige Verteilung zwischen den Gruppen.

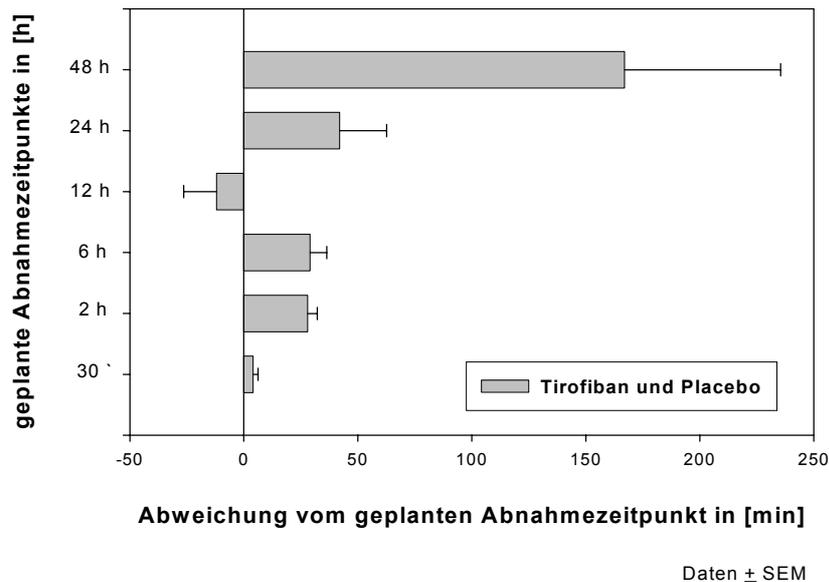
	Tirofiban (n=50)	Placebo (n=46)	Signifikanz p
Glykoside (%)	8,0	6,5	n.s.
Beta-Blocker (%)	62,0	47,8	n.s.
Calciumantagonisten (%)	8,0	8,7	n.s.
ACE-Inhibitoren / AT <sub>1</sub> -Antagonisten (%)	38,0	41,3	n.s.
Nitrate (%)	12,0	28,3	n.s.
Diuretika (%)	32,0	15,2	n.s.
Lipidsenker (%)	50,0	52,2	n.s.
Aspirin bei Aufnahme (%)	88,0	84,8	n.s.
Aspirin vor PCI (%)	100,0	100,0	n.s.
Clopidogrel bei Aufnahme (%)	12,0	13,0	n.s.
Clopidogrel vor PCI (%)	100,0	100,0	n.s.
Antikoagulantien (%)	6,0	4,4	n.s.

**Tab. 2:** Tabellarische Übersicht über den Medikamentenplan der Studienpatienten bei Klinikaufnahme.

## 2.6 Patientenrandomisierung und Blutabnahmen

Die Patienten wurden durch eine unabhängige „study nurse“ im Gesamtverhältnis 1:1 randomisiert einer Studiengruppe (Tirofiban (T) vs. Placebo (P) [0,9% NaCl-Lösung]) zugeteilt. Die eigentliche Studienmedikation (Bolus und Erhaltungsinfusion) wurde unmittelbar vor dem geplanten Eingriff doppelblind durch die „study nurse“ zur Verfügung gestellt. Die Dosierung sowohl des Tirofiban/ Placebo Bolus (10 µg/ kg KG ) als auch der anschließenden Infusion (0,15 µg/ kg KG/ min ) wurde entsprechend der RESTORE-Studie gewählt<sup>8</sup>. Nach Einbringen der arteriellen Schleuse wurde eine Citrat-Monovette<sup>®</sup> abgenommen, um die Ausgangsthrombozytenfunktion unter Aspirin und Clopidogrel, jedoch noch vor Gabe der Studienmedikation zu bestimmen. Anschließend wurde über die punktierte Arterie 5000–10000 I.E. unfraktioniertes Heparin verabreicht, wobei eine „aktivierte Koagulationszeit“ (ACT) von 250 Sekunden angestrebt wurde. Die mittlere Heparin-Dosis während der PCI betrug  $8388 \pm 228$  I.E. in der Tirofiban-Gruppe und  $9089 \pm 308$  I.E. in der Placebo-Gruppe (n.s.). Die ACT war in beiden Gruppen gleich hoch (T:  $242 \pm 7,9$  s / P:  $244 \pm 9,1$  s; n.s.). Nachdem der Führungsdraht erfolgreich über der Stenose platziert werden konnte, wurde der Studienbolus

langsam über drei Minuten intravenös infundiert und anschließend – ohne Zeitverzögerung – die Studieninfusion für 18 Stunden über den venösen Zugang verabreicht. Nach erfolgreicher PCI wurden die Patienten für 24 Stunden auf die Medizinische Überwachungsstation (MEDU) verlegt, bevor sie von der peripheren Station übernommen wurden. Insgesamt wurde bei jedem Patienten zu sieben verschiedenen Zeitpunkten Blut abgenommen.



**Abb. 2:** Übersicht der geplanten und tatsächlichen Zeitpunkte der Blutabnahme in beiden Randomisierungsgruppen.

So wurden Blutabnahmen zur Kontrolle von Blutbild, CK/ CK-MB, LDH, cTroponin T , Myoglobin, PTT und INR vor PCI sowie 30 Minuten ( $34 \pm 2$  min), 2 Stunden ( $148 [2h 28min] \pm 4$  min) , 6 Stunden ( $389 [6h 29min] \pm 7$  min), 12 Stunden ( $708 [11h 48min] \pm 14$  min), 24 Stunden ( $1482 [24h 42min] \pm 20$  min) und letztlich 48 Stunden ( $3047 [50h 47min] \pm 68$  min) nach Intervention durchgeführt. Unmittelbar nach der Blutabnahme am Patientenbett wurden die Blut-Monovetten<sup>®</sup> in das Zentrallabor der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg gebracht. Nach zehnminütiger Zentrifugation mit 4000 Umdrehungen pro Minute wurden aus den Serum-Monovetten<sup>®</sup> 500 µl Serum in Eppendorf-Caps<sup>®</sup> abpipettiert. Das in der Monovette<sup>®</sup> verbliebene Serum wurde ebenso wie

die Citrat- und EDTA-Monovette<sup>®</sup> dem Personal des Zentrallabors zur weiteren Analyse der Blutparameter übergeben. Die Eppendorf-Caps dagegen wurden umgehend bei minus 80° Celcius tiefgefroren. Somit konnte die Analyse der Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-1 $\beta$  am Ende der Studie im April 2001 en bloc durchgeführt werden. Durch die kurzen Wege innerhalb der Medizinischen Klinik konnte garantiert werden, dass die Zeit zwischen Blutabnahme inklusive Zentrifugation und Archivierung im Eisschrank nicht länger als 20 Minuten in Anspruch nahm. Die Thrombozyteninhibition wurde unter Verwendung des Ultegra<sup>®</sup> „rapid platelet function assay“ (RPFA) vor und unmittelbar nach Bolusgabe sowie 6 Stunden, 12 Stunden, 24 Stunden und 48 Stunden nach PCI gemessen.



Schritt 1: Einsetzen der Kartusche



Schritt 2: Einsetzen der Blutprobe



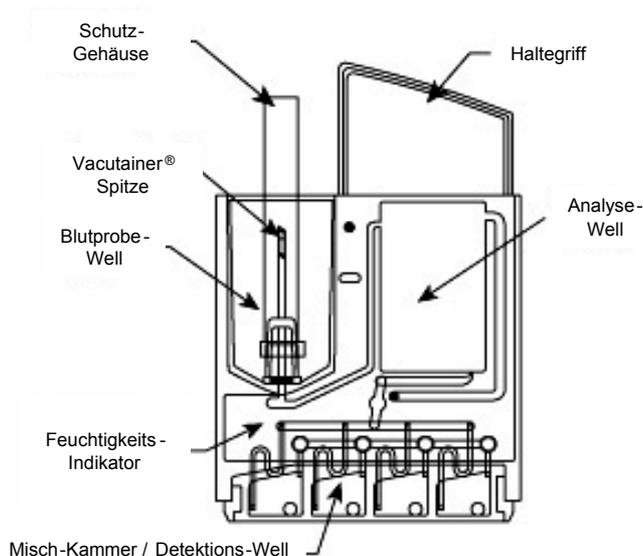
Schritt 3: Ablesen des Resultates

**Abb. 3:** Automatisierte Thrombozytenfunktionsmessung mittels Ultegra<sup>®</sup>-RPFA.

Um den doppelblinden Studiencharakter aufrechtzuerhalten, wurden die im Katheterlabor ermittelten Thrombozyteninhibitionswerte durch die „study nurse“ analysiert und dem untersuchenden Arzt nicht mitgeteilt.

## 2.7 Ultegra® rapid platelet function Assay (RPFA)-Thrombozyten-funktionsmessung

Der Ultegra® rapid platelet function Assay zur automatisierten Thrombozytenfunktionsmessung einer Vollblut-Probe basiert auf der Fähigkeit aktivierter Thrombozyten, sich an Fibrinogen-besetzte Kügelchen zu binden.



**Abb. 4:** Ultegra® rapid platelet function Assay zur automatisierten Thrombozytenfunktionsmessung. Die Thrombozytenfunktion wurde vor und unmittelbar nach Bolusgabe sowie nach 6h, 12h, 24h und 48h nach PCI gemessen.

Im Analyse-Well der Kartusche befindet sich eine Aktivatorsubstanz, die bei Thrombozyten eine Aktivierung und dadurch eine Konformationsänderung des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptors hin zu einer Fibrinogen-bindenden Form bewirkt. Zusätzlich enthält das Detektions-Well Fibrinogen-besetzte Kügelchen, die sich an die aktivierten Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptoren binden. Da mehrere Thrombozyten sich gleichzeitig an ein Kügelchen binden können, kommt es in der Folge zu einem Aggregationzustand, der letztlich die Anzahl frei verteilter Kügelchen und Thrombozyten in der Kartusche verringert. Das Analysegerät misst die Lichtdurchlässigkeit der Blutprobe. Wenn nun die Mehrzahl der Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptoren auf den Thrombozyten der Blutprobe bereits

durch Tirofiban inhibiert sind, wird sich nur ein sehr kleiner Anteil der Fibrinogen-besetzten Kügelchen an die Rezeptoren anheften können. Folglich wird durch die hohe Anzahl freier Kügelchen und Thrombozyten die Lichtdurchlässigkeit der Probe nur sehr gering sein. Das Messergebnis wird als „platelet aggregation unit“ (PAU) bezeichnet und mit arbiträren Einheiten angegeben.

## 2.8 Troponin T-Assay

Troponin T wurde im Zentrallabor der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg mit dem Troponin T STAT Immunoassay (ECLIA) gemessen. Dabei handelt es sich um einen immunologischen in vitro Test zur quantitativen Bestimmung von Troponin T in Humanserum und -plasma. Der ECLIA (ElektroChemilumineszenz-ImmunoAssay) wurde am Analyseautomaten Elecsys<sup>®</sup> 2010 der Firma Roche durchgeführt. Der Test selbst basiert auf dem Sandwich-Prinzip und gliedert sich in drei Schritte: während einer ersten Inkubation bilden Serum-Probe und zwei Biotin- bzw. Ruthenium-markierte monoklonale Troponin T spezifische Antikörper einen Sandwich-Komplex. Nach Zugabe von Streptavidin-beschichteten Mikropartikeln wird der Komplex über Biotin-Streptavidin-Wechselwirkungen an die Festphase gebunden. Anschließend werden die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf der Oberfläche der Elektrode fixiert. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenz-Emission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen. Die Ergebnisse werden dann anhand einer Kalibrierkurve ermittelt und umgerechnet in [ $\mu\text{g/l}$ ] angegeben. In dieser Studie wurden Patienten als Troponin-positiv gewertet, sobald ihre Troponin T-Werte zu einem oder mehreren Zeitpunkten um  $\geq 0.01 \mu\text{g/l}$  (cut-off level entspricht 0,009  $\mu\text{g/l}$ ; 99. Perzentile der Werte einer Referenz-Kontrollgruppe) verglichen mit dem Ausgangswert angestiegen waren.

## 2.9 Zytokin-Detektions-Assay

Bei den zur Detektion der Zytokine TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-1 $\beta$  eingesetzten Assays handelt es sich um so genannte Sandwich-Enzym-Immunoassays der Firma R&D Systems. Eine Mikrotiterplatte wird mit für die jeweiligen Zytokine spezifischen monoklonalen Antikörpern beschichtet. Auf diese Platte werden eine Standardreihe und Plasma der Studienpatienten aufgebracht und inkubiert. Das jeweilige Zytokin wird während dieser Inkubationszeit an den immobilisierten Antikörper gebunden. Nachdem in mehreren Waschschrritten alle nicht gebundenen Substanzen entfernt wurden, wird ein Zytokin-spezifischer Enzym-gekoppelter polyklonaler Antikörper in die Vertiefungen der Platte aufgetragen und inkubiert. Ein weiterer Waschgang entfernt alle ungebundenen Antikörper-Enzym-Komplexe, bevor die Substratlösung in die Vertiefungen der Mikrotiterplatte gegeben wird. Durch Zugabe einer so genannten Amplifier-Lösung wird die Substratreaktion verstärkt. Nach einer vorgegebenen Inkubationszeit wird die Substratreaktion gestoppt und die Farbintensität in einem „ELISA-reader“ bei definierter Wellenlänge gemessen. Es verhält sich die dabei gemessene „optische Dichte“ proportional zur Menge der im ersten Schritt gebundenen Zytokin-Moleküle. Die Bestimmung der jeweiligen Zytokin-Konzentration erfolgt mit Hilfe einer Standardreihe.

## 2.10 Follow-up-Abfrage

Nach 30 Tagen und nach 9 Monaten wurden die Studienpatienten telefonisch nach ihrem Befinden befragt. Dabei wurde das Hauptaugenmerk auf die definierten sekundären Studienendpunkte Tod, Myokardinfarkt oder operative Revaskularisation des Zielgefäßes gelegt. Zusätzlich wurden etwaige Thrombosen, Rehospitalisierungen aufgrund kardialer Ursachen sowie subjektive Angaben wie Beschwerdefreiheit in Ruhe und bei Belastung zu Protokoll genommen. Bei der 30-Tage Telefonabfrage wurden alle 96 Patienten persönlich erreicht. Nach 9 Monaten konnten bei der Telefonabfrage 95

Patienten wiederum persönlich befragt werden, in einem Fall informierte ein Angehöriger über den Tod eines Patienten.

### 2.11 Datenbank

Um die zahlreichen Patienten- und Angiographiedaten sowie alle Blutparameter der 96 Studienpatienten über die sieben Blutabnahmezeitpunkte zentral und übersichtlich zu erfassen, wurde eine Datenbank auf Basis von Microsoft Access 2002 erstellt. Über die Patienten-ID als Primärschlüssel wurden alle verarbeiteten Tabellen miteinander verknüpft. Auf diese Weise wurde über gezielte Abfragen ab April 2002 die Ergebnis-Auswertung erarbeitet.

### 2.12 Statistische Analyse

Da es sich bei Patientencharakteristik und Inzidenz der Ischämieparameter-Freisetzung um kategoriale (qualitativ-beschreibende) Variablen auf der Grundlage von unverbundenen Daten handelt, wurde für den statistischen Vergleich der Chi-Quadrat-Test angewendet. Ein Grenzwert von 3,84 entspricht dabei einem p-Level von  $< 0,05$  und 6,63 entspricht einem p-Level von  $< 0,01$ . Beim Vergleich der beiden Randomisierungsgruppen untereinander handelt es sich dagegen um stetige (quantitativ-zählende) Variablen, die ebenfalls auf der Grundlage unverbundener Daten basieren. Da diese Variablen zusätzlich weder intervallskaliert noch nominalverteilt sind, wurde für die Analyse der beiden Randomisierungsgruppen der Mann-Whitneys U-Test eingesetzt. Ein P-Wert von  $p < 0,05$  wird als Signifikanz erachtet.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Angiographie- und Interventionsdaten

Bei insgesamt 88 der 96 Studieneingriffe (91,7%) wurde ein Stent eingesetzt (T: 92,0% / P: 91,3%; n.s.).

	Tirofiban (n=50)	Placebo (n=46)	Signifikanz p
Implantierte Stents (%)	92	91,3	n.s.
Direktes Stenting (%)	32	17,4	n.s.
Mittlerer Stent-Durchmesser (mm)	3,5 ± 0,2	3,6 ± 0,16	n.s.
Anzahl implantierter Stents	1,14 ± 0,08	1,04 ± 0,07	n.s.
Anzahl reine PTCA	1,26 ± 0,17	1,39 ± 0,17	n.s.
PTCA ohne Stentimplantation (%)	8	8,7	n.s.
Stenosierung in RCA (%)	25	22	n.s.
Stenosierung in RIVA (%)	45	46	n.s.
Stenosierung in RCX (%)	30	32	n.s.
Anzahl der Dilatationen	1,3 ± 0,2	1,4 ± 0,2	n.s.
Inflationszeit (sec)	77,2 ± 6,7	85,6 ± 6,9	n.s.
Inflationsdruck (atm)	12,1 ± 0,3	12,1 ± 0,3	n.s.
Seitenastokklusion (%)	2,1	4	n.s.

**Tab. 3:** Übersicht der angiographischen Daten der Studienpatienten unterteilt nach Randomisierungsgruppe.

Die Anzahl der implantierten Stents betrug in der Tirofiban-Gruppe  $1,14 \pm 0,08$  bei einem mittleren Durchmesser von  $3,5 \pm 0,2$  mm, in der Placebo-Gruppe kamen  $1,04 \pm 0,07$  Stents mit einem mittleren Durchmesser von  $3,6 \pm 0,2$  mm (n.s.) zum Einsatz. 32% (n=16) der Tirofiban-Patienten wurden ohne Vordilatation direkt gestentet. In der Placebo-Gruppe belief sich der Anteil der direkt gestenteten Patienten auf 17,4% (n=8). Bei zwei Patienten der Tirofiban-Gruppe und einem Patienten der Placebo-Gruppe wurde als Folge der Stentimplantation ein Seitenast verschlossen (n.s.). Eine PTCA ohne Stentimplantation wurde bei 8% (n=4) der Tirofiban-Patienten und bei 8,7% (n=4) der Placebo-Patienten durchgeführt (n.s.). Die Anzahl der reinen Ballondilatationen

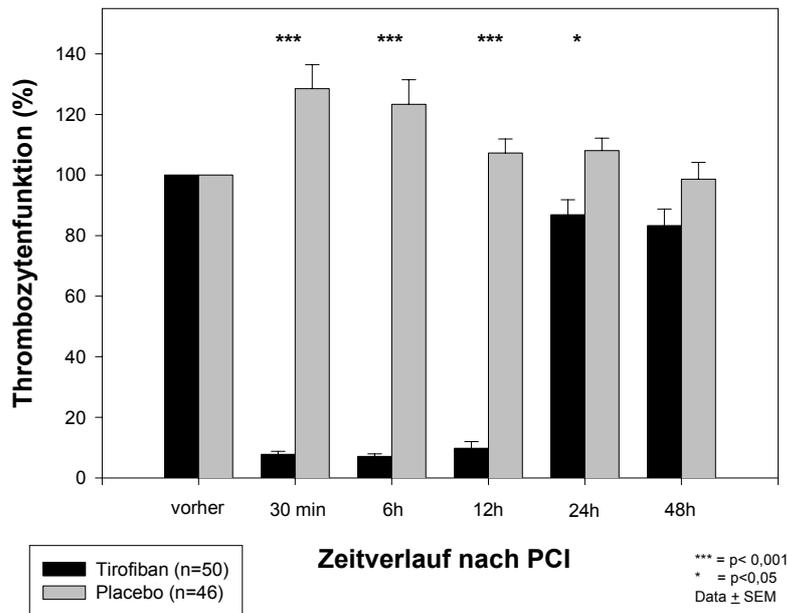
(T:  $1,26 \pm 0,17$  / P:  $1,39 \pm 0,17$ ) sowie deren mittlerer Ballondurchmesser (T:  $4,69 \pm 0,43$  mm / P:  $4,43 \pm 0,38$  mm) unterschieden sich nicht signifikant. Bei Betrachtung der Mittelwerte von Stent incl. PTCA ergaben sich bezüglich der Inflationszeit (T:  $77,2 \pm 6,8$  s / P:  $85,6 \pm 7,0$  s) und des Inflationsdruckes (T:  $12,1 \pm 0,3$  atm / P:  $12,1 \pm 0,3$  atm) ebenfalls keine Unterschiede von signifikanter Relevanz zwischen Verum- und Placebo-Gruppe. Die Verteilung der Stenosen auf die einzelnen Koronargefäße gliederte sich wie folgt: Rechte Koronararterie (RCA, T: 25% / P: 22%; n.s.), Ramus interventricularis anterior (RIVA, T: 45% / P: 46%; n.s.) und Ramus circumflexus (RCX, T: 30% / P: 32%; n.s.).

### 3.2 Klinischer Verlauf und Komplikationen

Im Anschluss an die erfolgreiche perkutane Koronarintervention erreichten alle an der Studie teilnehmenden Patienten einen TIMI-III-Fluss. Es traten weder ischämisch bedingte Insulte noch intrakranielle Blutungen bei Studienpatienten während ihres Klinikaufenthaltes auf. Bei jeweils einem Patienten beider Gruppen musste aufgrund postinterventioneller Nachblutungen aus der Punktionsstelle der Arteria femoralis ein Erythrozyten-Konzentrat transfundiert werden (n.s.). Bei einem Patienten war man nach vier Stunden wegen mäßigem, jedoch kontinuierlich andauerndem Nasenbluten ohne signifikanten Hämoglobin-Abfall gezwungen, die Studieninfusion abzustellen. Der Patient wurde in der klinischen Auswertung als intention-to-treat Patient geführt. Häufiger als in der Placebo-Gruppe (8,7%) traten kleinere Blutungen in der Tirofiban-Gruppe (14,0%) auf (n.s.).

### 3.3 Thrombozytenfunktion

Allen Patienten wurde im Vorfeld der PCI entsprechend der „loading-dose“ Aspirin und Clopidogrel verabreicht. Unter dieser Medikation lagen die mittleren PAU-Werte unmittelbar vor Intervention bei PAU  $142,6 \pm 5,5$  (Tirofiban) vs. PAU  $146,3 \pm 7,3$  (Placebo); (n.s.).



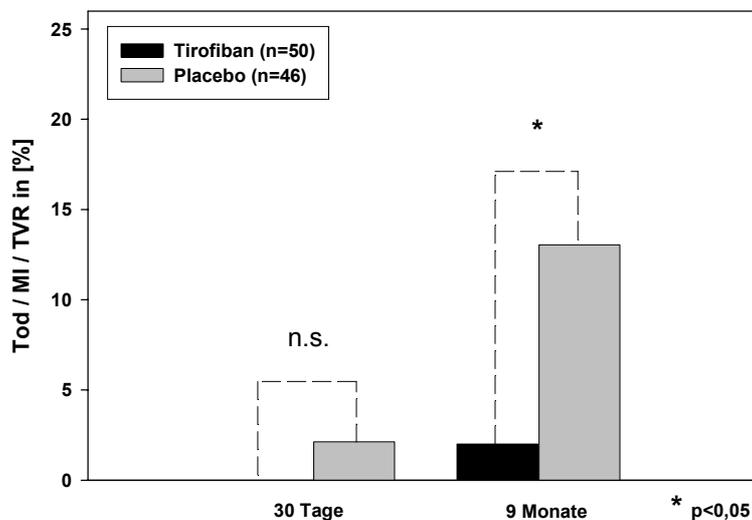
**Abb. 5:** Thrombozytenfunktion vor und im Zeitverlauf nach PCI. Während der Tirofiban-Infusion wurde die Thrombozytenfunktion auf unter 10% des Ausgangswertes gesenkt. Eine heparininduzierte Thrombozytenaktivierung wurde in der Placebo-Gruppe beobachtet (siehe Diskussion).

Unmittelbar nach Applikation des Studienbolus wurden die PAU-Werte abermals gemessen: in der Tirofiban-Gruppe waren die Werte nun auf PAU  $10,8 \pm 1,4$  ( $7,8 \pm 1,0\%$  des Ausgangswertes) abgesunken. Dagegen stiegen die PAU-Werte in der Placebo-Gruppe zum gleichen Zeitpunkt auf PAU  $171,7 \pm 5,7$  ( $128,5 \pm 7,9\%$  des Ausgangswertes;  $p < 0,001$  vs. Tirofiban). Bei weiteren Messungen während der Gabe der Studienmedikation wurden in der Tirofiban-Gruppe PAU-Werte von PAU  $9,5 \pm 1,2$  ( $7,0 \pm 0,9\%$ ;  $p < 0,001$  vs. Placebo) nach 6 Stunden und PAU  $12,3 \pm 2,5$  ( $9,8 \pm 2,3\%$ ;  $p < 0,001$  vs. Placebo) nach 12

Stunden erzielt. Nach 48 Stunden und damit 30 Stunden nach Ende der Studienmedikation hatten sich die Werte der Tirofiban-Gruppe mit PAU  $112,6 \pm 5,9$  ( $83,3 \pm 4,3\%$ ) wieder weitestgehend ihrem Ausgangsniveau angeglichen. Die Werte der Placebo-Gruppe betragen PAU  $129,5 \pm 6,9$  ( $98,7 \pm 6,3\%$ ; n.s.) nach 48 Stunden.

### 3.4 Sekundärer Studienendpunkt

Als sekundärer kombinierter Studienendpunkt waren Tod, Myokardinfarkt sowie eine operative Revaskularisation des Zielgefäßes definiert. Innerhalb der ersten 30 Tage nach PCI musste ein Patient aus der Placebo-Gruppe aufgrund eines Myokardinfarktes nach Stentverschluss rehospitalisiert werden. Im gleichen Zeitintervall wurde in der Tirofiban-Gruppe kein Ereignis registriert.



**Abb. 6:** Sekundärer Endpunkt: Tod, Myokardinfarkt, Revaskularisation des Zielgefäßes (TVR) nach 30 Tagen und nach 9 Monaten.

Nach 9 Monaten wurden ein Patient aus der Tirofiban-Gruppe (2,3%) und fünf Patienten aus der Placebo-Gruppe aufgrund von Myokardinfarkt bzw. operativer Revaskularisation wieder aufgenommen, zusätzlich starb ein Patient aus der Placebo-Gruppe (13,04%;  $p < 0,05$ ).

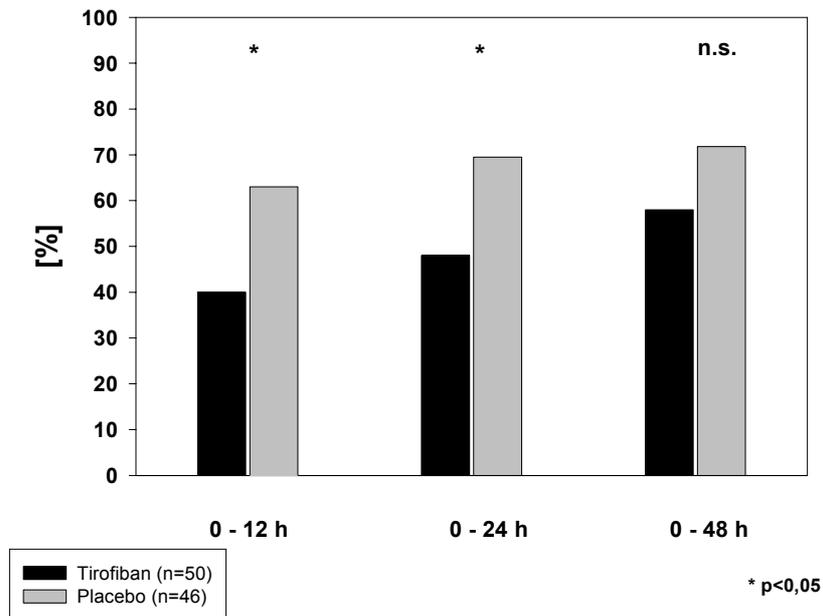
### 3.5 Primärer Studienendpunkt

#### 3.5.1 Kardiale Ischämieparameter nach PCI

##### 3.5.1.1 Troponin T

###### Positiver Troponinnachweis nach PCI

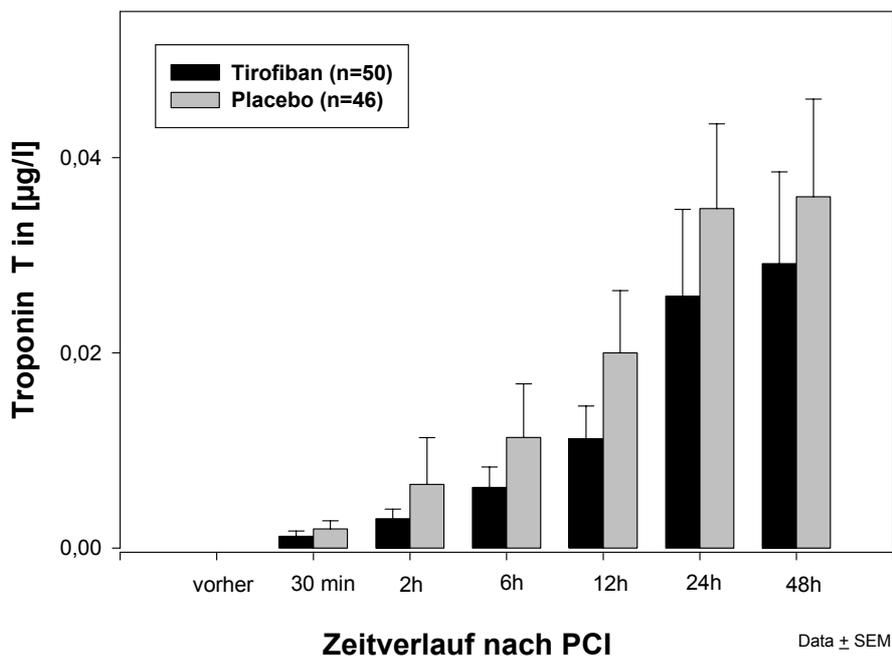
12 und 24 Stunden nach PCI zeigten sich signifikant weniger Troponin T-positive Patienten in der Tirofiban-Gruppe verglichen mit der Placebo-Gruppe (12h: T: 40% / P: 63%;  $p < 0,05$ ), (24h: T: 48% / P: 69%;  $p < 0,05$ ). Nach 48 Stunden zeigte sich noch ein Trend zugunsten von Tirofiban, ohne jedoch statistische Signifikanz zu erreichen (48h: T: 58% / P: 74%; n.s.).



**Abb. 7:** Prozentsatz der Patienten mit positiven Troponin T-Werten nach erfolgreicher PCI innerhalb von 12h, 24h und 48h.

### Absolute Troponin T-Werte

Ein kontinuierlicher Anstieg der Troponin T-Werte innerhalb der ersten 48 Stunden war beiden Randomisierungsgruppen gemeinsam. Dabei ließ sich ein Trend hinsichtlich niedrigerer Troponin T-Werte in der Tirofiban-Gruppe feststellen, welcher allerdings die Signifikanzgrenze nicht erreichte.

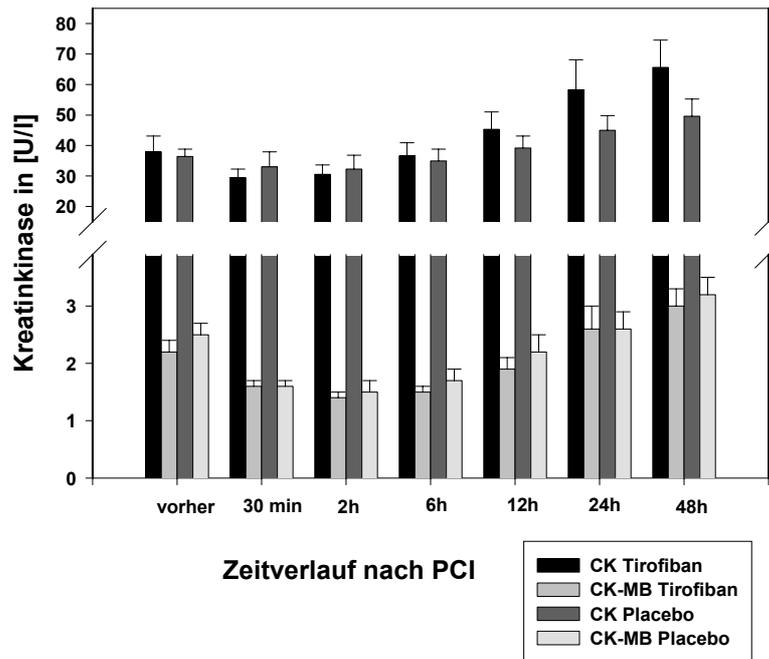


**Abb.8:** Troponin T-Freisetzung im Zeitverlauf nach PCI unterteilt nach beiden Randomisierungsgruppen.

Um beide Gruppen im Verlauf miteinander direkt zu vergleichen, wurden Mittelwerte über die Zeit als relativer Anstieg zum Ausgangswert angegeben. In der Tirofiban-Gruppe stiegen die Troponin T-Werte von  $0,0112 \pm 0,0034 \mu\text{g/l}$  nach 12 Stunden über  $0,0258 \pm 0,0090 \mu\text{g/l}$  nach 24 Stunden bis auf  $0,0291 \pm 0,0098 \mu\text{g/l}$  nach 48 Stunden. Vergleichsweise deutlicher, allerdings nicht-signifikant, war der Troponin-Verlauf in der Placebo-Gruppe. Dort erreichten die Werte  $0,0200 \pm 0,0065 \mu\text{g/l}$  nach 12 Stunden,  $0,0348 \pm 0,0088 \mu\text{g/l}$  nach 24 Stunden bis  $0,0360 \pm 0,0108 \mu\text{g/l}$  nach 48 Stunden.

### 3.5.1.2 Kreatinkinase (CK)/ Kreatinkinase-MB Isotyp (CK-MB)

Die Mittelwerte der Kreatinkinase (CK) betragen vor Intervention  $37,9 \pm 5,2$  U/l in der Tirofiban-Gruppe und  $36,4 \pm 2,4$  U/l in der Placebo-Gruppe (n.s.).

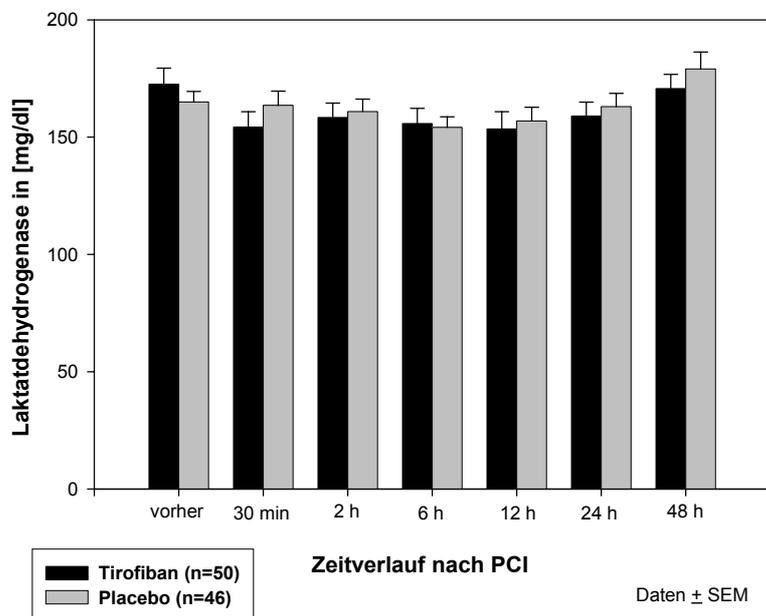


**Abb. 9:** Kreatinkinase (CK) und Kreatinkinase MB-Fraktion (CK-MB) im Zeitverlauf nach PCI unterteilt nach beiden Randomisierungsgruppen.

Im gesamten Zeitverlauf von 48 Stunden konnten keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich CK oder Serum-CK-MB Isotyp zwischen beiden Gruppen festgestellt werden. Die höchsten Werte wurden in beiden Gruppen nach 48 Stunden gemessen (CK: T:  $55,6 \pm 9,0$  U/l / P:  $49,6 \pm 5,6$  U/l).

### 3.5.1.3 Laktatdehydrogenase

Die jeweiligen Ausgangswerte der Tirofiban- und der Placebo-Gruppe zeigten eine nur geringe und nicht-signifikante Differenz (T:  $172,6 \pm 6,8$  mg/dl / P:  $165,0 \pm 4,5$  mg/dl). Im weiteren Verlauf sanken die LDH-Werte beider Gruppen auf  $153,5 \pm 7,4$  mg/dl nach 12 Stunden in der Tirofiban- bzw. auf  $154,2 \pm 4,5$  mg/dl nach 6 Stunden in der Placebo-Gruppe. Anschließend stiegen die Werte beider Gruppen erneut in den Bereich der Ausgangswerte.



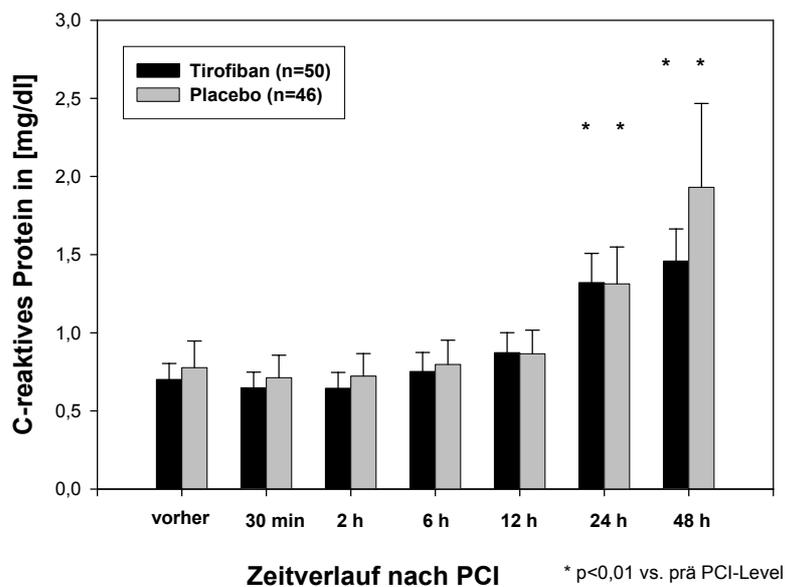
**Abb. 10:** Laktatdehydrogenase im Zeitverlauf nach PCI unterteilt nach beiden Randomisierungsgruppen.

### 3.5.2 Entzündungsparameter nach PCI

#### 3.5.2.1 C-reaktives Protein

##### Tirofiban vs. Placebo

Ausgehend von annähernd gleichen CRP-Ausgangswerten beider Randomisierungsgruppen (T:  $0,70 \pm 0,10$  mg/dl / P:  $0,78 \pm 0,17$  mg/dl; n.s.) erreichten beide Gruppen nach 24 (T:  $1,32 \pm 0,19$  mg/dl / P:  $1,31 \pm 0,24$  mg/dl;  $p < 0,01$  vs. prä-PCI) sowie nach 48 Stunden (T:  $1,47 \pm 0,21$  mg/dl / P:  $1,93 \pm 0,54$  mg/dl;  $p < 0,01$  vs. prä-PCI) signifikant erhöhte CRP-Werte verglichen mit den jeweiligen präinterventionellen Ausgangswerten.

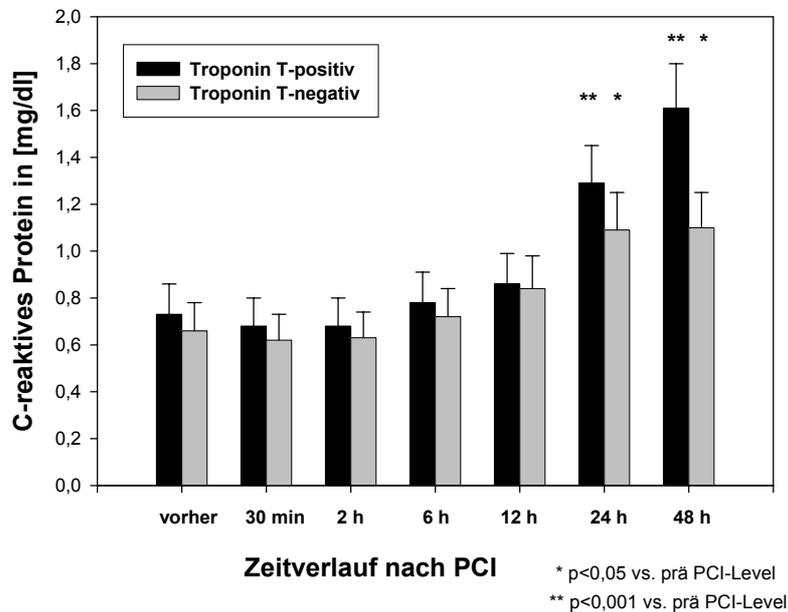


**Abb. 11:** C-reaktives Protein im Zeitverlauf nach PCI unterteilt nach beiden Randomisierungsgruppen.

Zwischen den beiden Randomisierungsgruppen selbst erwiesen sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

## Troponin T-positive (TnT p) vs. Troponin T-negative (TnT n) Patienten

Auch bei direktem Vergleich des Patientenkollektivs, welches im Verlauf der Blutabnahmen Troponin T-positiv konvertierte, mit dem Kollektiv, welches zu jedem Zeitpunkt Troponin T-negativ blieb, ergab sich ein statistisch signifikanter Anstieg der CRP-Werte verglichen mit dem jeweiligen Ausgangswert (24h: TnT p:  $1,34 \pm 0,17$  mg/dl;  $p < 0,001$  / TnT n:  $1,29 \pm 0,27$  mg/dl;  $p < 0,05$  und 48h: TnT p:  $1,66 \pm 0,20$  mg/dl;  $p < 0,001$  / TnT n:  $1,75 \pm 0,70$  mg/dl;  $p < 0,05$ ).

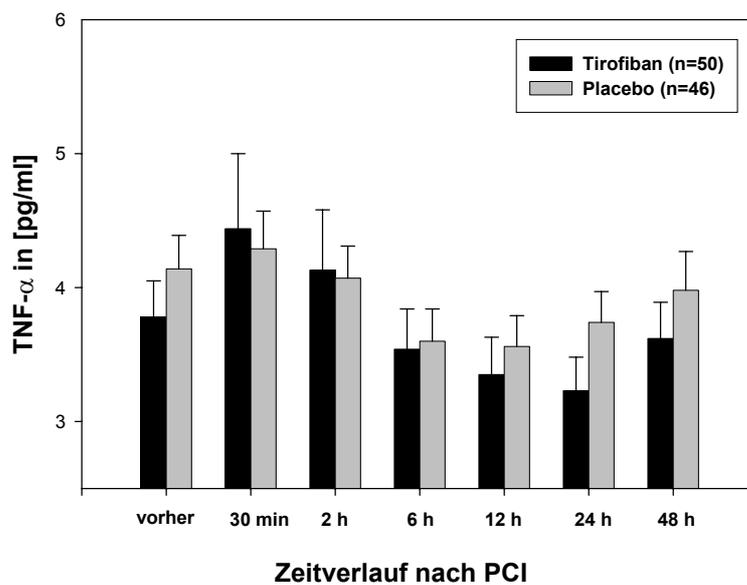


**Abb. 12:** C-reaktives Protein nach PCI unterteilt nach Troponin T-positiven und Troponin T-negativen Patienten.

### 3.5.2.2 Tumornekrosefaktor- $\alpha$

#### Tirofiban vs. Placebo

Die Ausgangswerte vor Intervention betragen  $3,79 \pm 0,27$  pg/ml in der Gruppe der Tirofiban- und  $4,15 \pm 0,25$  pg/ml bei Placebo-behandelten Patienten.

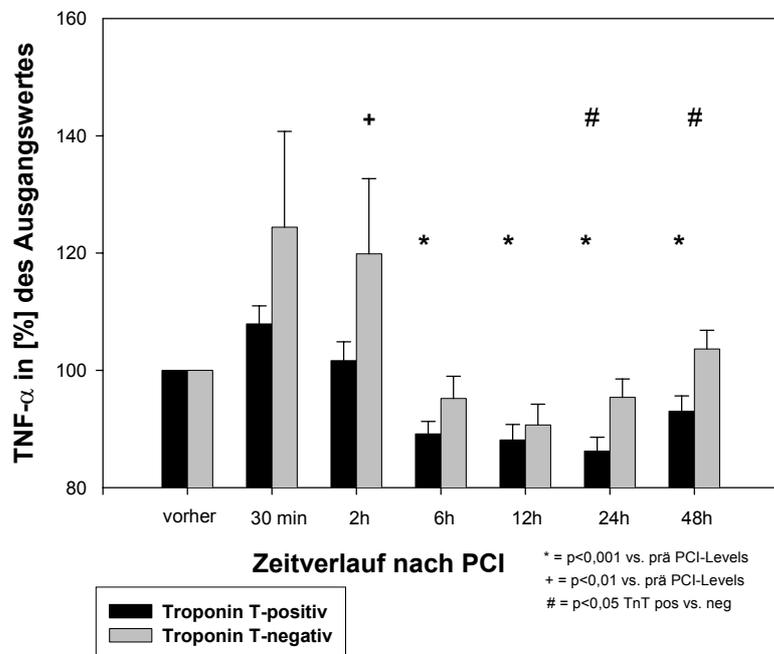


**Abb. 13:** Tumornekrosefaktor- $\alpha$  im Zeitverlauf nach PCI unterteilt nach beiden Randomisierungsgruppen.

Die TNF- $\alpha$  Werte erreichten in beiden Gruppen ihren Spitzenwert nach 30 Minuten (T:  $4,44 \pm 0,57$  pg/ml / P:  $4,29 \pm 0,29$  pg/ml), um im weiteren gemessenen Zeitverlauf zwischen 6 und 48 Stunden unter das Ausgangsniveau zu sinken. Zwischen beiden Gruppen ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede.

## Troponin T-positive (TnT p) vs. Troponin T-negative (TnT n) Patienten

Bei Messungen 30 Minuten (TnT p:  $108,48 \pm 3,30\%$  / TnT n:  $121,75 \pm 14,85\%$ ) und 2 Stunden (TnT p:  $102,60 \pm 3,40\%$  / TnT n:  $116,40 \pm 11,69\%$ ) nach Intervention waren die TNF- $\alpha$  Werte sowohl bei Troponin T-positiven als auch bei Troponin T-negativen Patienten prozentual zum Ausgangswert erhöht (n.s.). Zwischen 6 Stunden ( $89,50 \pm 2,25\%$ ;  $p < 0,001$ ) und 48 Stunden ( $92,88 \pm 2,81\%$ ;  $p < 0,001$ ) fielen die TNF- $\alpha$  Werte der Troponin T-positiven Patienten statistisch signifikant unter den Ausgangswert.



**Abb. 14:** Tumornekrosefaktor- $\alpha$  in Prozent des Ausgangswertes im Zeitverlauf nach PCI unterteilt nach Troponin T-positiven und Troponin T-negativen Patienten.

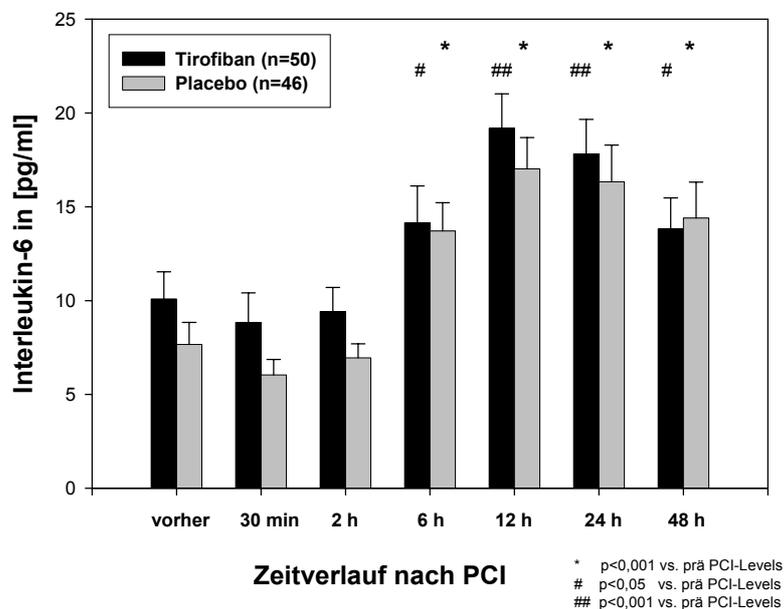
Diese Signifikanz konnte bei den Troponin T-negativen Patienten nicht erreicht werden. Beim direkten Vergleich zwischen Troponin T-positiven und Troponin T-negativen Patienten führten die in Prozent der jeweiligen Ausgangswerte angegebenen TNF- $\alpha$  Werte zu signifikanten Unterschieden nach 24 und 48

Stunden (24h: TnT p:  $85,76 \pm 2,55\%$  / TnT n:  $95,12 \pm 2,85\%$ ;  $p < 0,05$  und 48h: TnT p:  $92,88 \pm 2,81\%$  / TnT n:  $102,63 \pm 2,91\%$ ;  $p < 0,05$ ).

### 3.5.2.3 Interleukin-6

#### Tirofiban vs. Placebo

Die Ausgangswerte von Interleukin-6 (IL-6) betragen  $10,06 \pm 1,46$  pg/ml in der Tirofiban-Gruppe und  $7,86 \pm 1,19$  pg/ml in der Placebo-Gruppe (n.s.).



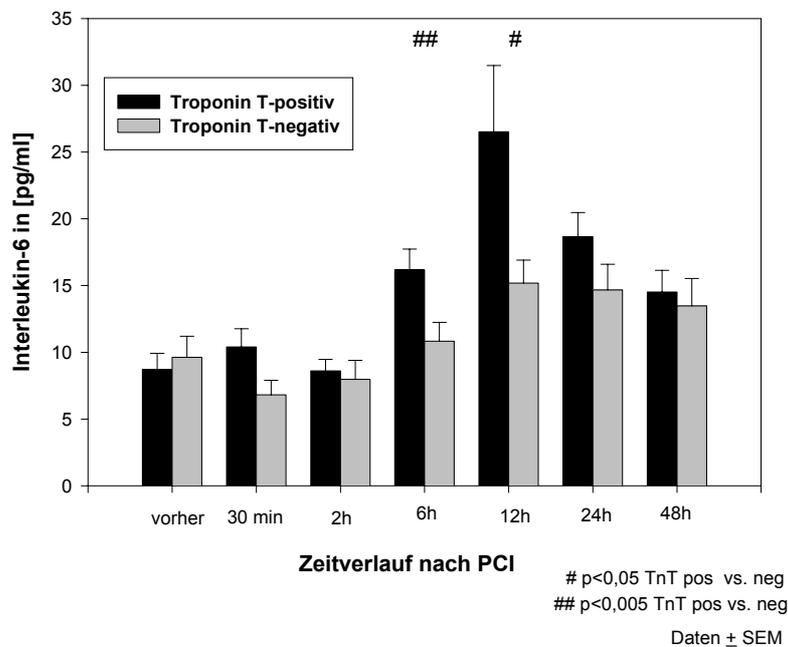
**Abb. 15:** Interleukin-6 im Zeitverlauf nach PCI unterteilt nach beiden Randomisierungsgruppen.

Erstmals nach 6 Stunden erreichten die IL-6 Werte beider Gruppen einen statistisch signifikanten Anstieg verglichen mit dem jeweiligen Ausgangswert. Die höchsten Werte wurden dabei nach 12 Stunden gemessen (T:  $19,18 \pm 1,86$  pg/ml / P:  $17,02 \pm 1,69$  pg/ml;  $p < 0,001$ ). Bei sinkender Tendenz blieben die IL-6 Werte beider Gruppen auch nach 24 und 48 Stunden noch signifikant gegenüber den jeweiligen Ausgangswerten erhöht (48h: T:  $13,81 \pm 1,68$  pg/ml;

$p < 0,05$  /  $P: 14,44 \pm 1,95$  pg/ml;  $p < 0,001$ ). Der direkte Vergleich beider Gruppen ergab zu keinem Zeitpunkt statistisch signifikante Unterschiede.

Troponin T-positive (TnT p) versus Troponin T-negative (TnT n) Patienten

Der Vergleich von IL-6 Werten zwischen Troponin T-positiven und Troponin T-negativen Patienten ergab folgende Ergebnisse: Troponin T-positive Patienten hatten einen präinterventionellen Ausgangswert von  $8,72 \pm 1,19$  pg/ml, Troponin T-negative Patienten einen Ausgangswert von  $9,63 \pm 1,57$  pg/ml.



**Abb. 16:** Interleukin-6 im Zeitverlauf nach PCI unterteilt nach Troponin T-positiven und Troponin T-negativen Patienten.

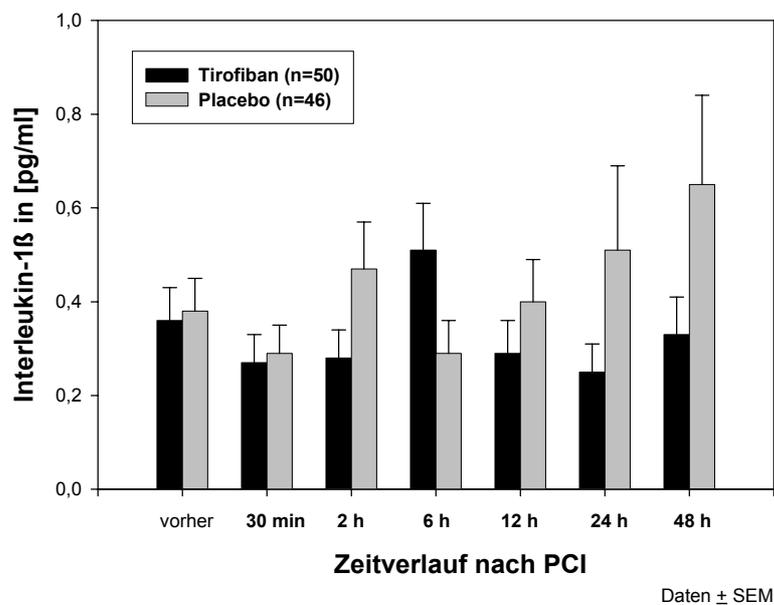
Nach 6 Stunden waren die IL-6 Werte beider Gruppen angestiegen und die Differenz zwischen dem höheren IL-6 Wert der Troponin T-positiven Gruppe gegenüber dem der Troponin T-negativen Gruppe erreichte ein signifikantes Niveau (TnT p:  $15,89 \pm 1,57$  pg/ml / TnT n:  $10,94 \pm 1,46$  pg/ml;  $p < 0,005$ ). Nach 12 Stunden waren die Werte der Troponin T-positiven Patienten mit  $26,5 \pm 4,96$  pg/ml bereits um mehr als das dreifache angestiegen. Die Troponin T-negativen

Patienten erreichten nach 12 Stunden einen Wert von  $15,2 \pm 1,7$  pg/ml (TnT p vs. TnT n:  $p < 0,05$ ).

Zu den Zeitpunkten 24 und 48 Stunden sanken die Werte beider Gruppen kontinuierlich und erreichten letztlich nach 48 Stunden noch Werte von  $13,5 \pm 2,1$  pg/ml (TnT n) und  $14,5 \pm 1,6$  pg/ml (TnT p); (n.s.).

### 3.5.2.4 Interleukin-1 $\beta$

Die ermittelten Werte von Interleukin-1 $\beta$  befanden sich über den Messzeitraum nahe an der unteren Detektionsgrenze des verwendeten „High Sensitive Assay“.

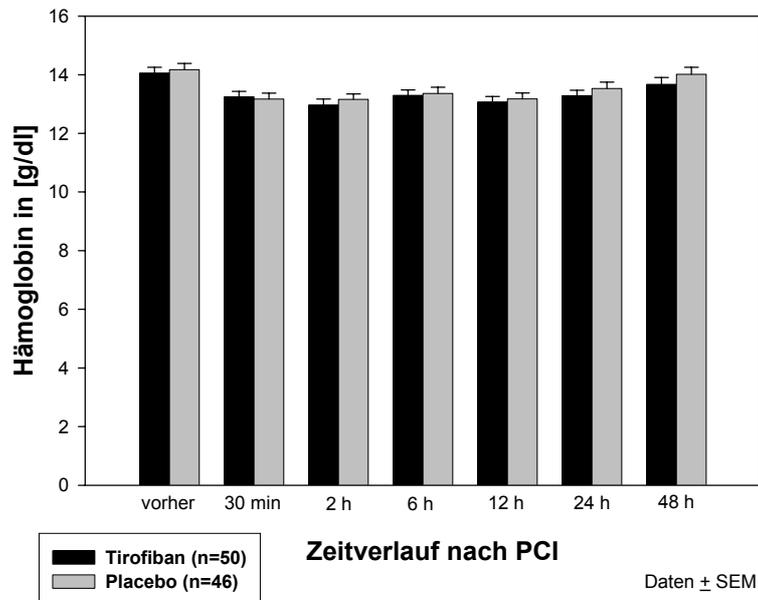


**Abb. 17:** Interleukin-1 $\beta$  im Zeitverlauf nach PCI unterteilt nach beiden Randomisierungsgruppen.

Dabei konnten keine signifikanten Unterschiede sowohl zwischen den Gruppen Tirofiban versus Placebo, als auch zwischen den Gruppen Troponin T-positiv versus Troponin T-negativ bezüglich des Zeitverlaufes von IL-1 $\beta$  beginnend vom Ausgangswert (T:  $0,33 \pm 0,08$  pg/ml / P:  $0,38 \pm 0,07$  pg/ml; n.s.) bis einschließlich 48 Stunden nach PCI festgestellt werden.

### 3.5.3 Hämoglobin

Die Hämoglobin-Werte beider Gruppen verliefen nahezu parallel im Zeitverlauf nach PCI. Der Ausgangswert in der Tirofiban-Gruppe betrug  $14,1 \pm 0,2$  g/dl und  $14,2 \pm 0,2$  g/dl in der Placebo-Gruppe.



**Abb. 18:** Hämoglobin im Zeitverlauf nach PCI unterteilt nach beiden Randomisierungsgruppen.

Nach 2 Stunden wurden in beiden Gruppen die jeweils niedrigsten Hämoglobin-Werte gemessen (T:  $13,0 \pm 0,2$  g/dl / P:  $13,2 \pm 0,2$  g/dl). Am Ende der Messperiode nach 48 Stunden hatten beide Gruppen mit  $13,7 \pm 0,2$  g/dl in der Tirofiban-Gruppe und  $14,0 \pm 0,2$  g/dl in der Placebo-Gruppe ihre jeweiligen Ausgangswerte bereits annähernd wieder erreicht. Ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Gruppen bestand dabei zu keinem Zeitpunkt.

### 3.5.4 Gerinnungsparameter

Aus der Tirofiban-Gruppe entwickelten zwei Patienten eine medikamentös-induzierte Thrombozytopenie, die nach regulärer Beendigung der

Studienmedikation vollständig reversibel war. Während der Blutabnahmen ergaben Messungen der PTT einen weitestgehend gleichen Verlauf in beiden Randomisierungsgruppen. Ausgehend von Basiswerten von PTT  $30,99 \pm 0,55$  s in der Tirofiban- und PTT  $30,47 \pm 0,47$  s in der Placebo-Gruppe stiegen die Werte während der PCI an (T:  $142,37 \pm 3,83$  s / P:  $147,87 \pm 1,49$  s; n.s.). Nachdem nach 2 Stunden bereits ein Abfall der Werte in beiden Gruppen zu sehen war (T:  $102,27 \pm 6,16$  s / P:  $115,21 \pm 6,36$  s), befanden sich die PTT-Werte nach sechs Stunden wieder im Bereich ihrer Ausgangswerte (T:  $30,70 \pm 0,68$  s / P:  $33,43 \pm 1,43$  s; n.s.).

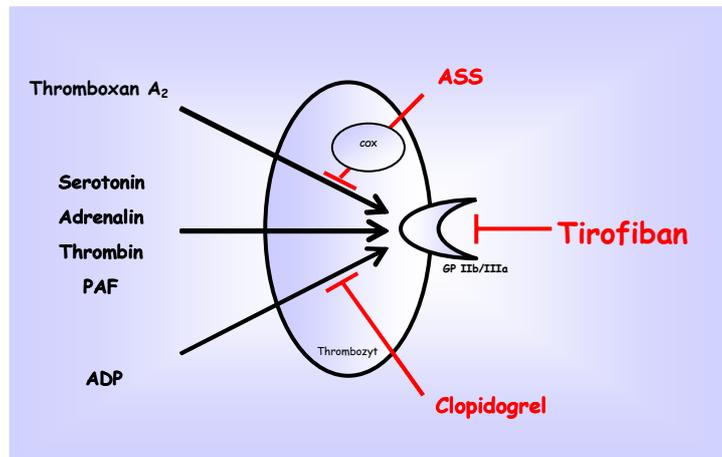
## 4 Diskussion

Im Rahmen der TOPSTAR-Studie wurde erstmals eingehend untersucht, inwieweit 1.) während elektiv durchgeführter PCI eine Troponin-Freisetzung bei mit Aspirin und Clopidogrel optimal vorbehandelten Patienten erfolgt und inwieweit 2.) die zusätzliche Gabe des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Tirofiban peri- und postinterventionell eine Reduktion der Troponin-Freisetzung erreichen kann. Darüber hinaus wurde 3.) ein besonderes Augenmerk auf die einer PCI nachfolgenden Entzündungsreaktion geworfen. Ein überraschender Befund der TOPSTAR-Studie war die mit 74% hohe Anzahl Troponin T-positiver Patienten im Verlauf der ersten 48 Stunden nach elektiver PCI sogar mit kombinierter medikamentöser Vorbehandlung mit Aspirin und Clopidogrel. Durch Verabreichung des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Tirofiban als Bolus unmittelbar vor und per infusionem für weitere 18 Stunden nach PCI konnte die Anzahl Troponin T-positiver Patienten im Zeitraum bis 24 Stunden nach PCI signifikant gegenüber der Placebo-Gruppe gesenkt werden. Nach 9 Monaten konnte zusätzlich in der Tirofiban-Gruppe eine signifikant niedrigere Inzidenz des kombinierten Endpunktes Tod, Myokardinfarkt und operative Revaskularisation beobachtet werden. Es stellt sich die Frage, welche Vorgänge an der Interventionsstelle selbst, aber vor allem auch stromabwärts im weiteren Gefäßverlauf für die beobachtete Troponin-Freisetzung bei mit Aspirin und Clopidogrel „optimal“ vorbehandelten Patienten ursächlich verantwortlich sein mögen.

### 4.1 Vorbehandlung mit Aspirin und Clopidogrel

Eine Thrombozyteninhibition mit niedrig dosiertem Aspirin (100 mg) ist Gold-Standard bei Patienten mit bekannter koronarer Herzerkrankung. Durch zusätzliche Gabe des Thrombozyteninhibitors Clopidogrel konnte ein weitergehender Effekt bezüglich einer signifikanten Reduzierung subakuter Stentthrombosen sowie der Mortalität bei akuten Koronarsyndromen gezeigt werden, welcher sich durch die additiven, unterschiedlichen Wirkmechanismen

der Thrombozytenfunktionshemmung durch Aspirin und Clopidogrel erklären lässt<sup>1,2,3</sup>.



**Abb. 19** Wirkungsweise von ASS, Clopidogrel und Tirofiban.  
(modifiziert nach Gawaz, Meinrad P.: Das Blutplättchen. Thieme, Stuttgart; New York 1999; S. 54)

Es werden diverse Funktionszustände des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptors unterschieden. Unter physiologischen Verhältnissen tragen zirkulierende Thrombozyten einen „ruhenden“, nicht aktivierten GP IIb/IIIa-Rezeptor an ihrer Oberfläche. Eine Aktivierung der Thrombozyten führt zur raschen Konformationsänderung des GP IIb/IIIa-Rezeptors und zur Freilegung hochaffiner Fibrinogenbindungsstellen. In Anbetracht zahlreicher körpereigener Agonisten (linker Bildrand) der Thrombozytenaktivierung ist es wirksam, pharmakologisch die gemeinsame Endstrecke der Thrombozytenaktivierung, nämlich den GP IIb/IIIa-Rezeptor, zu blockieren.

In der vorliegenden TOPSTAR-Studie wurden, wie aus den gleichen Ausgangswerten der „platelet aggregation units“ (PAU) beider Gruppen nach Ultegra<sup>®</sup>-Messungen ersichtlich ist, sowohl Tirofiban- als auch Placebo-Patienten mit Aspirin und Clopidogrel vorbehandelt. Über den Zeitraum der Messungen von 48 Stunden blieb das durch Aspirin und Clopidogrel erzielte Thrombozyteninhibitionsniveau konstant. Dies zeigte sich darin, dass die PAU-Werte beider Gruppen nach Absetzen der Studienmedikation wieder die Ausgangswerte alleiniger Aspirin- und Clopidogrel-Inhibition erreichten. Somit ist zu betonen, dass die reduzierte Anzahl Troponin T-positiver Patienten in der Tirofiban-Gruppe einen Benefit bedeutet, dessen Erklärung über die einer

Thrombozyteninhibition durch Vorbehandlung mit Aspirin und Clopidogrel hinausgeht.

#### 4.2 Thrombozyten-Inhibition durch Aspirin, Clopidogrel *und* Tirofiban

In der GOLD-Studie<sup>24</sup> konnte eine Korrelation zwischen Thrombozyteninhibitionsniveau und schweren kardialen Ereignissen gezeigt werden. So ist eine mindestens 90-prozentige Inhibition und ein möglichst homogenes Inhibitionsniveau über die Zeit notwendig, um kardiovaskuläre Ereignisse nach PCI zu reduzieren. In diesem Sinne wurde das negative Ergebnis der GUSTO IV-Studie<sup>25</sup> zumindest teilweise mit dem von Chew und Moliterno aufgezeigten inhomogenen Inhibitionslevel der Thrombozyten während der Verabreichung des GP IIb/IIIa-Inhibitors Abciximab interpretiert<sup>26</sup>. Eine inhomogene Thrombozyteninhibition im Verlauf der Anwendung kleinmolekularer Wirkstoffe wie Eptifibatide oder Tirofiban wurde nicht beobachtet<sup>27</sup>. Um den genannten Vorgaben gerecht zu werden, wurde im Rahmen der TOPSTAR-Studie die kontinuierliche Infusion der Studienmedikation unmittelbar nach Bolus-Gabe gestartet. Sie lief ohne Unterbrechung über einen Zeitraum von 18 Stunden. Dadurch konnte gewährleistet werden, dass das mit Hilfe des Ultegra<sup>®</sup>-RPFA-Systems gemessene Inhibitionsniveau zu den Messzeitpunkten direkt nach Bolusgabe sowie nach 6 und 12 Stunden Infusionsapplikation von Tirofiban über 90% auf der Basis der bereits durch Aspirin und Clopidogrel inhibierter Thrombozyten lag. Ein bekanntes und bereits beschriebenes Phänomen ist die in der Placebo-Gruppe beobachtete Thrombozytenaktivierung durch unfraktioniertes Heparin<sup>28</sup>.

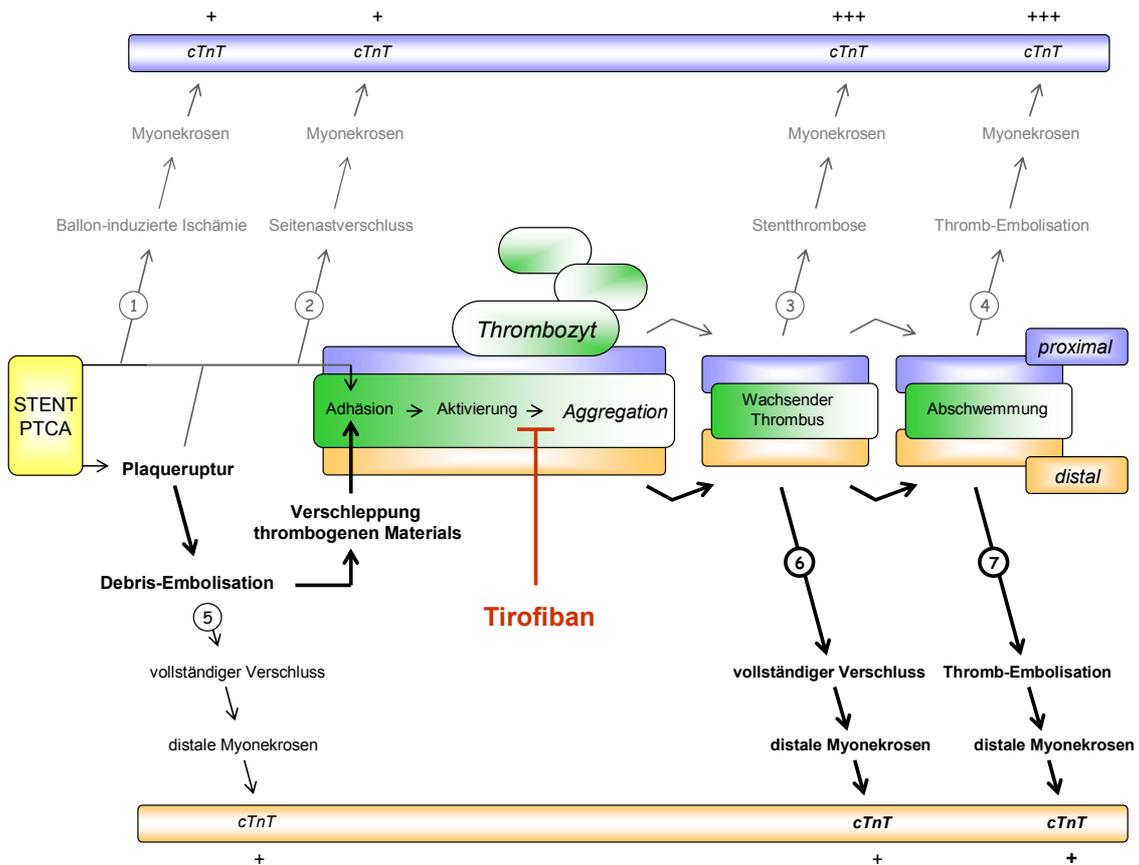
#### 4.3 Korrelation zwischen Troponin T/ CK-MB und Ergebnis

Troponin T ist eine Komponente des kontraktiven Apparates der quergestreiften Muskulatur. Wenngleich die Funktion von Troponin T in allen quergestreiften Muskeln identisch ist, unterscheidet sich das Troponin T, welches in der Herzmuskulatur vorkommt (kardiales cTnT), strukturell deutlich vom Troponin T

der Skelettmuskulatur<sup>29</sup>. Es konnte gezeigt werden, dass kardiales Troponin T neben dem Nachweis der CK-MB-Fraktion einen wichtigen Indikator für eine myokardiale Schädigung darstellt<sup>30,31</sup>. Dabei ist Troponin T aufgrund der hohen Gewebespezifität ein sehr sensitiver herzspezifischer Marker und somit bei der Detektion kleinster myokardialer Verletzungen der CK-MB-Fraktion überlegen. Darüber hinaus korreliert die Höhe der Troponin T-Freisetzung mit der Anzahl nekrotischer Myokardzellen und damit letztlich mit der Infarktgröße<sup>32,33,34</sup>. Aber auch für einen längeren Zeitraum nach der Intervention hat ein Anstieg kardialer Enzyme prognostische Bedeutung. So kam eine Metaanalyse der CAPTURE, EPIC und EPILOG Studien zu dem Ergebnis einer Korrelation zwischen mäßigem Anstieg kardialer Enzyme und ungünstiger Langzeitprognose<sup>35</sup>. Des Weiteren besteht ein signifikanter Zusammenhang zwischen geringem bis mittelgradigem CK-MB-Anstieg und Myokardinfarkt sowie Mortalität<sup>36</sup>. Sogar ein sehr geringer CK-Anstieg nach elektiver PTCA konnte mit erhöhter kardialer Mortalität in Verbindung gebracht werden<sup>37</sup>. Selbst nach „unkomplizierten“ Koronarinterventionen wurden bei bis zu 26% der Patienten ein CK-MB-Anstieg (>5%) gemessen<sup>38,39</sup>. Nach den gemeinsamen Leitlinien der *European Society of Cardiology (ESC)* und dem *American College of Cardiology (ACC)* bezüglich der Neudefinition des Myokardinfarkts muss selbst ein kleiner Anstieg kardialer Schädigungsmarker als Myokardinfarkt deklariert werden<sup>40</sup>. Die signifikant niedrigere Inzidenz Troponin T-positiver Patienten in der Tirofiban-Gruppe und der signifikant reduzierte sekundäre Endpunkt Tod, Myokardinfarkt und operative Revaskularisation nach 9 Monaten in der Tirofiban-Gruppe machen die Bedeutung dieser Neudefinition für die Klinik ersichtlich.

#### 4.4 Troponin-Freisetzung nach PCI

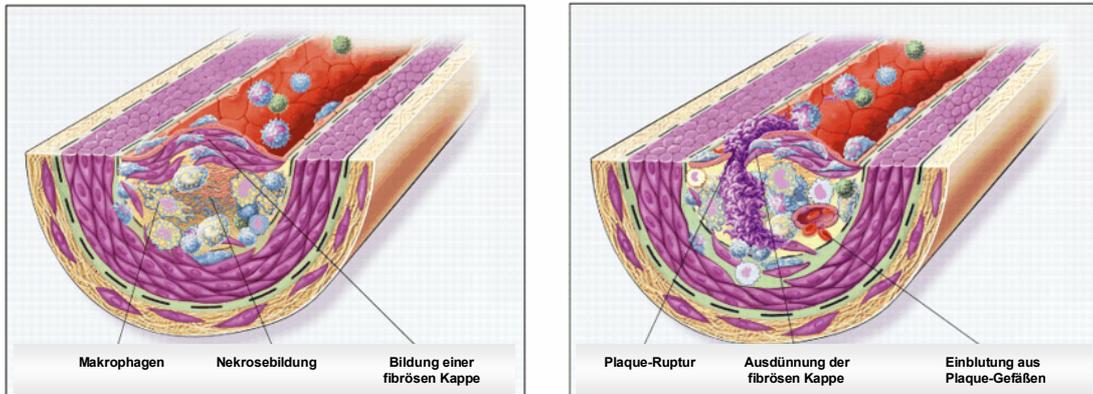
Troponin kann durch mehrere verschiedene Ereignisse freigesetzt werden. Die folgende Abbildung gibt einen zusammenfassenden Überblick über mögliche Pathomechanismen einer Troponin-Freisetzung nach PCI:



**Abb. 20:** Überblick über potenzielle Ursachen einer Troponin T-Freisetzung nach PCI. In der oberen Hälfte der Schemazeichnung finden sich mögliche Ursachen an der proximalen Dilatationsstelle, in der unteren Hälfte Ursachen in der distalen Gefäßperipherie. Die nummerierten Ereignisse werden im Text erläutert.

Während der Intervention (PTCA mit oder ohne Stentimplantation) könnte theoretisch durch einen Ballon-bedingten temporären Gefäßverschluss ① ein Anstieg kardialer Ischämieparameter verursacht werden<sup>41</sup>. Die signifikanten Unterschiede jedoch bezüglich der Troponin-Freisetzung zwischen beiden Behandlungsregimen können so nicht erklärt werden, da die Interventionsparameter (Inflationsdruck, Inflationszeit) sich in beiden Gruppen entsprachen. Interventionsbedingte Seitenastverschlüsse ② stellen sehr seltene Ereignisse dar. Ihre Häufigkeit wird in aktuellen Studien mit drei Prozent angegeben<sup>6</sup>. Im Rahmen der TOPSTAR-Studie kam es bei vier Prozent der Patienten zu Okklusionen kleiner Seitenäste. Ferner kann durch die gegebene mechanische Manipulation während PTCA oder Stentimplantation die atheromatöse Plaque

aufbrechen. Dies kann an der proximalen Dilatationstelle zur Exposition thrombogener Substanzen wie Kollagenfasern oder dem von Willebrand-Faktor zur Lumenseite des Gefäßes hin führen.



(modifiziert nach Ross R: Atherosclerosis: an inflammatory disease. N Engl J Med. 1999; 340: 115-26)

**Abb. 21** stabiler Plaque

**Abb. 22** Plaque-Ruptur

Durch Kontakt mit diesen Substanzen wie auch durch die PCI selbst werden Thrombozyten über einen Adhäsions- und einen Stabilisierungsschritt schließlich aktiviert und exprimieren den Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptor auf ihrer Oberfläche<sup>42</sup>. Diese Aktivierung erlaubt Thrombozyten durch gemeinsame Bindung von Fibrinogen-Molekülen an ihre jeweiligen GP IIb/IIIa-Rezeptoren eine Aggregation herbeizuführen. Dieser wachsende Thrombus an der primären Dilatationstelle <sup>③</sup> könnte nun theoretisch das Gefäßlumen nach und nach hochgradig bis vollständig verschließen, so dass es wiederum distal der Stenose zu einer ischämischen Stoffwechselsituation, zu Myonekrosen und folglich zu Troponin-Freisetzung käme. Allerdings wäre ebenfalls denkbar, dass der wachsende Thrombus ab einer gewissen Größe dem Strömungswiderstand nicht mehr standhalten kann, sich ablöst und als primärer Thromb-Embolus <sup>④</sup> distale Gefäße verlegt und so zur Troponin-Freisetzung führt. Aufgrund ihrer Entstehung im proximalen Segment des betroffenen Gefäßes und ihres daraus resultierenden Durchmessers ließen beide beschriebenen Ereignis-Varianten deutlich ausgeprägte proximale und distale Myonekrosen mit hoher Troponin-Freisetzung erwarten. Die vergleichsweise mäßigen Troponin-Level der

vorliegenden Studie sind mit solchen schweren Ereignissen kaum zu erklären. Ein weiterer Pathomechanismus könnte eine Embolisierung von Plaqueinhalt (Debris) darstellen: ist die weggeschwemmte Debris-Masse groß genug, um periphere Gefäßbereiche vollständig zu verlegen <sup>⑤</sup>, würde dies zu distalen Myonekrosen und in der Folge zu Troponin-Freisetzung führen. So konnte durch Einsatz von Filterungsvorrichtungen (Parachute) distal des Dilatationsballons Debris-Stücke (Cholesterinkristalle, amorphe Lipidsubstanzen, Schaumzellen) aufgefangen werden, die nach PCI in die Mikrozirkulation gespült werden<sup>43</sup>. Andererseits muss das abgeschwemmte Debris-Material natürlich nicht so groß sein, dass distale Gefäße komplett verlegt werden. Thrombogener Debris-Inhalt, darunter Cholesterinkristalle, könnte in der Peripherie in kleinlumigen Gefäßen verkanten <sup>⑥</sup> und nachfolgend über die bereits im Rahmen der primären Thrombusbildung erläuterten analogen Mechanismen der Thrombozytenaktivierung zum Ursprung von Thromben und zur Quelle von Thromb-Embolien <sup>⑦</sup> in der Mikrozirkulation werden. Eine derartige sekundäre Thrombusbildung wurde bei Patienten mit akuten Koronarsyndromen oder degenerierten Vena saphena-Grafts beschrieben<sup>44</sup>, wobei man allerdings ein solches Geschehen bei elektiver PCI für unwahrscheinlich hält<sup>45,46</sup>. Überraschenderweise entwickelten nun aber 74% der Placebo-behandelten elektiven Patienten der TOPSTAR-Studie innerhalb von 48 Stunden positive Troponin-Werte. Diese Beobachtung könnte die von Hermann<sup>47</sup> beschriebene eingeschränkte koronare Flussreserve nach elektiver Stentimplantation erklären. Zusätzlich können nach erfolgreicher PCI noch weitere Mechanismen wie Spasmen, Schäden durch freie Radikale sowie Aktivierung neutrophiler Granulozyten mit lokaler Ödembildung zu mikrovaskulärer Dysfunktion führen<sup>48</sup>.

#### 4.5 Reduktion Troponin T-positiver Patienten durch Tirofiban

Sowohl eine Ballon-induzierte Gefäßokklusion mit vorübergehender Ischämie wie auch eine Debris-Embolisationsokklusion per se könnten einen gewissen Anteil zur Troponin-Freisetzung beisteuern. Da allerdings Tirofiban, wie aus Abb. 20 hervorgeht, auf beide Vorgänge keinen Einfluss hat, lässt sich die signifikante Reduzierung der Inzidenz Troponin T-positiver Patienten von 23% innerhalb der ersten 12 Stunden und 21% innerhalb der ersten 24 Stunden in der Tirofiban-Gruppe gegenüber der Placebo-Gruppe bei sonst gleichen Interventionsparametern durch keinen der beiden Vorgänge ausreichend erklären. Auf die Ausbildung eines wachsenden Thrombus dagegen kann Tirofiban im Stadium der Thrombozytenaggregation hemmend wirken, indem es die exprimierten GP IIb/IIIa-Rezeptoren reversibel blockiert und auf diese Weise eine Vernetzung und damit ein Anwachsen der Thrombozytenmasse verhindert. Interessant in diesem Zusammenhang ist die Beobachtung, dass in der TOPSTAR-Studie nach Beendigung der aggregationshemmenden Therapie 18 Stunden nach PCI weitere 10% der Tirofiban-behandelten Patienten noch zwischen 24 und 48 Stunden Troponin T-positiv wurden – zu einem Zeitpunkt also, als die Studieninfusion bereits abgesetzt war und Tirofiban aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit ( $t_{1/2} \sim 1,5$  h) keine ausreichende Thrombozyteninhibition ( $> 90\%$ ) mehr bewirken konnte. Passend dazu verliert der Unterschied in der Inzidenz Troponin T-positiver Patienten zum Zeitpunkt 48 Stunden nach PCI zwischen beiden Gruppen (Tirofiban vs. Placebo) seine statistische Signifikanz. Dies führt indirekt zu der Annahme, dass eine Thrombozytenanlagerung an abgeschwemmte thrombogene Substanzen während der Phase maximaler Thrombozyteninhibition unterdrückt werden kann, diese aber wieder auftreten kann, sobald die Thrombozyteninhibition nach Absetzen von Tirofiban auf die durch Aspirin und Clopidogrel erzielten Ausgangswerte gefallen ist. Jedoch kann dieser Signifikanzverlust nach 48 Stunden auch aufgrund des relativ kleinen Patientenkollektivs in beiden Armen der Studie aufgetreten sein. Eine weitere Erklärung hierfür könnte aber auch eine späte, von distalem Debris ausgehende sekundäre Thrombusbildung mit

repetitiver Ablösung von Mikroemboli sein, die dann – wie oben beschrieben – über einen Verschluss kleiner Gefäße zu der beobachteten späten Troponin-Freisetzung bei Tirofiban-Patienten führen könnte. Der insgesamt relativ milde Troponin-Verlauf spricht auf jeden Fall eher für ein thrombogenes Geschehen in der distalen Gefäßperipherie als für ein ursächlich an der primären PCI-Lokalisation ausgelöstes Ereignis.

#### 4.6 Entzündungsantwort nach PCI

Neben der Untersuchung ischämischer Parameter wurde in der TOPSTAR-Studie der Verlauf und das Ausmaß einer möglichen Entzündungsreaktion nach PCI analysiert. Zu diesem Zweck wurden gemäß dem eingangs erläuterten Zeitschema der Blutabnahmen die Inflammationsmediatoren Tumornekrosefaktor- $\alpha$ , Interleukin-6, Interleukin-1 $\beta$  und CRP bestimmt. Dabei ergab die Auswertung der TOPSTAR-Studie eine charakteristische Veränderung der Zytokin-Werte TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-1 $\beta$  sowie von CRP über die Zeit. Das Ausmaß der Entzündungsreaktion nach PCI ist mit der klinischen Langzeit-Prognose korreliert<sup>21,22</sup>. Bestimmte Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten können zu einer Modulation der Entzündungsantwort nach PCI führen. So hemmen unspezifische Rezeptorantagonisten wie Abciximab zusätzlich die Vitronektin ( $\alpha_v\beta_3$ )-medierte Adhäsion von Thrombozyten an Substanzen der subendothelialen Matrix<sup>49</sup>. Als Folge der Adhäsion findet die Aktivierung der Thrombozyten statt. Aktivierte Thrombozyten verändern durch Freisetzung entzündungsinduzierender Faktoren die chemotaktischen und adhäsiven Eigenschaften von Endothelzellen. Dabei greifen die thrombozytären Faktoren am NF- $\kappa$ B-System an, der zentralen Schaltstelle entzündlicher Veränderungen der Endothelzelle. Durch Stimulation des NF- $\kappa$ B-Systems in der Endothelzelle induzieren Thrombozyten die Transkription NF- $\kappa$ B-regulierter Genprodukte wie dem „monocyte chemoattractant protein-1“ (MCP-1) und von VCAM-1, einem wesentlichen Rezeptor für Adhäsionsvorgänge an der Endothelzelle<sup>50</sup>. Abciximab wirkt außerdem hemmend auf das Entzündungsgeschehen, indem es durch Inhibition des MAC-1 ( $\alpha M\beta 2$ )-Rezeptors auf Leukozyten deren

Anlagerung an den endothelial exprimierten VCAM-1-Rezeptor blockiert<sup>23</sup> sowie die Thrombozyten-Leukozyten-Vernetzung durch Antagonisierung einer Fibrinogen-Bindung zwischen thrombozytärem Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptor und leukozytärem MAC-1-Rezeptor verhindert. Beide erwähnten Wege haben eine wichtige Bedeutung, weil sich Thrombozyten-Leukozyten-Cluster an der Stelle der Endothelläsion bilden und Thrombose und Inflammation innerhalb der Plaque fördern, ins Mikrogefäßbett embolisieren oder sich im Mikrogefäßbett von Neuem auf atheromatösem Debris oder auf Mikroemboli ausbilden. Genannte direkte Modulationseffekte konnten für Tirofiban nicht gezeigt werden<sup>49,51,52</sup>. Anders als Abciximab ist der hochspezifische Rezeptorantagonist Tirofiban selektiv für den Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptor und beeinflusst nicht andere Integrin-Rezeptoren. Ein direkter Einfluss auf die Entzündungsantwort war demnach nicht zwingend zu erwarten. Allerdings ließ sich in der vorliegenden TOPSTAR-Studie ein indirekter Einfluss von Tirofiban auf die Entzündungsreaktion feststellen, indem Tirofiban die Inzidenz Troponin T-positiver Patienten signifikant senkt. Dieser indirekte Einfluss von Tirofiban spiegelt sich darin wider, dass der Anstieg von IL-6 und CRP in der Gruppe Troponin T-negativer Patienten signifikant geringer ausfällt als in der Gruppe Troponin T-positiver Patienten. In Anlehnung an die Troponin-Freisetzung stellt sich nun im Rahmen des Entzündungsgeschehens erneut die Frage, welche Lokalisation im Gefäßverlauf ursächlich für eine Zytokin- bzw. CRP-Freisetzung verantwortlich sein könnte:

Zum einen könnte eine lokale Entzündung im Bereich der Endothelzellen (Plaque-assoziierte Entzündungsreaktion) direkt oder indirekt aus der Einwirkung der PCI resultieren. Ebenso wäre Mikroembolisation ausgehend von der Dilatationsstelle mit konsekutiven peripheren ischämischen Mikroarealen als Inflamationsquelle denkbar:

#### Plaque-assoziierte Entzündungsreaktion

Atheromatöse vulnerable Plaques enthalten Makrophagen, die in der Lage sind, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-1 $\beta$  und CRP zu synthetisieren und freizusetzen<sup>53,54</sup>. Des

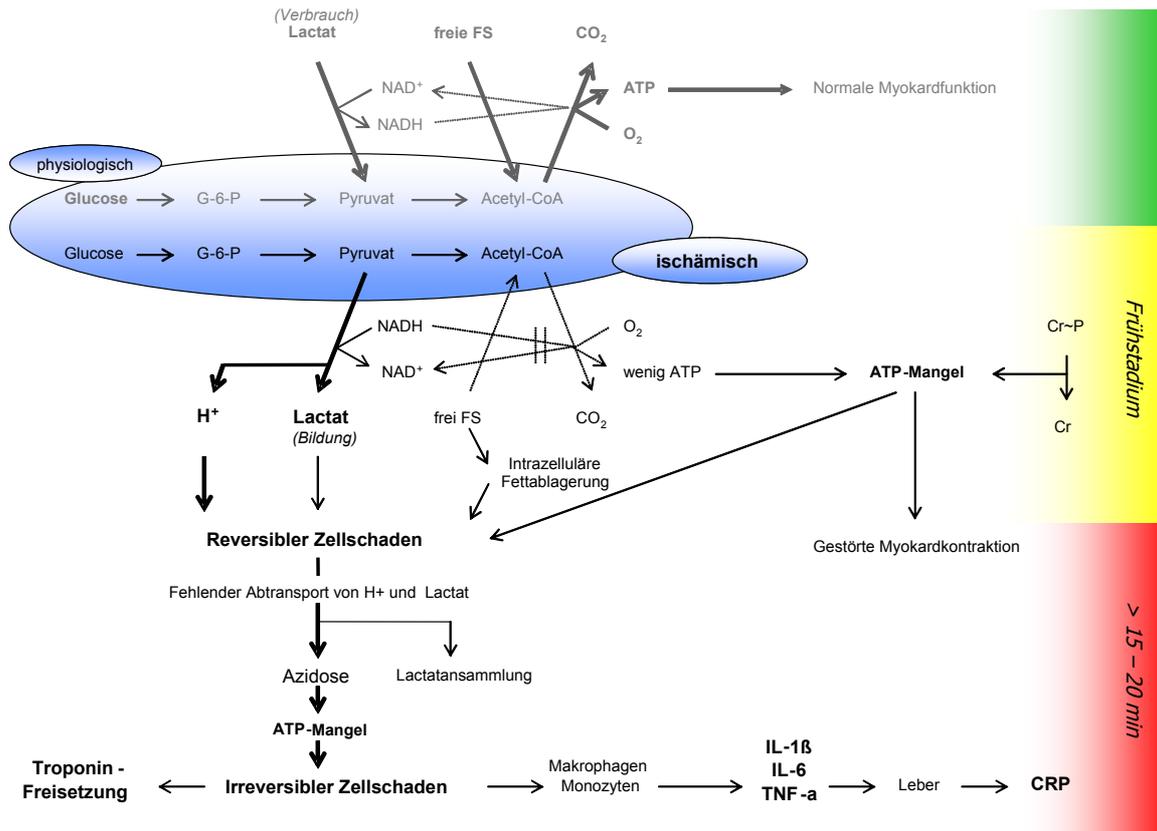
Weiteren ist ein Anstieg von Zytokinen und Interleukinen wie TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-1 $\beta$  mit Endothelverletzungen<sup>55</sup> und myokardialen Zell- oder Reperfusionsschaden<sup>56</sup> korreliert. Ebenso wurde in der Literatur nach PCI-induzierten Gefäßverletzungen eine Hochregulierung lokaler Zytokin-Expression beschrieben, die zu lokaler Entzündungsantwort führt<sup>57,58</sup>. Auf die oben näher eingegangene Thrombozyten-induzierte Entzündungsreaktion via NF- $\kappa$ B-Stimulierung hat Tirofiban keinen direkten Einfluss. Demnach würde man erwarten, dass sich die Levels der Entzündungsmarker in beiden Randomisierungsgruppen in etwa entsprechen. Diese Annahme wurde durch die Ergebnisse der TOPSTAR-Studie bestätigt. Überhaupt führt eine elektive, nicht-akut durchgeführte PCI einer stabilen, unverletzten Plaque nur zu einem mäßigen Anstieg der Entzündungsparameter. Signifikant erhöhte Zytokin- und CRP-Levels konnten dagegen bei Patienten mit Troponin-Freisetzung nach PCI gemessen werden. Die eingangs erläuterten wahrscheinlichsten Ursachen einer Troponin-Freisetzung führen zur Annahme, dass Mikroembolisation mit peripheren Mikroläsionen und daraus resultierender lokaler Entzündungsantwort eine weitere bedeutende Quelle distaler Entzündungsreaktion nach proximaler PCI darstellen könnte.

### Mikroembolisation

Das Herz ist eigenständig in der Lage, lokal Zytokine wie TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-1 $\beta$  zu produzieren<sup>59</sup>. So wurde nach myokardialer Ischämie, die zu mRNA-Expression und Protein-Expression führte, von erhöhten TNF- $\alpha$ -Levels berichtet<sup>59,60</sup>. Außerdem führt TNF- $\alpha$ -Freisetzung in einer frühen Phase des akuten Myokardinfarktes zu Myokardverletzungen und myokardialer Dysfunktion<sup>61</sup>. Da bei allen Patienten in der TOPSTAR-Studie eine elektive PCI durchgeführt wurde, kann eine durch einen länger andauernden Gefäßverschluss induzierte Ischämie als Ursache der beobachteten Zytokin-Antwort weitestgehend ausgeschlossen werden. Die signifikant veränderte Zytokin- und CRP-Reaktion auf PCI unter Troponin T-positiven Patienten macht eine Mikroembolisation in die periphere Strombahn als Ursache einer

Entzündungsreaktion wahrscheinlich. Unter Berücksichtigung der Befunde, dass 1.) Tirofiban die Inzidenz Troponin T-positiver und damit von Mikroembolisation betroffener Patienten signifikant senkt und dass 2.) Troponin T-positive Patienten eine verglichen mit Troponin T-negativen Patienten signifikant erhöhte Zytokin- und CRP-Antwort nach elektiver PCI aufweisen, kann folgender Mechanismus der Zytokin-Freisetzung als wahrscheinlich erachtet werden:

Mikroembolisation von Thromben führt zu multiplen, peripher-distalen „Infarktlets“. Durch ischämisch bedingte Myonekrosen kommt es im Infarkt-Areal zur Invasion von neutrophilen Granulozyten und Makrophagen, welche ihrerseits durch Sekretion proinflammatorischer Zytokine wie  $\text{TNF-}\alpha$ , IL-6 und IL-1 $\beta$  die Entzündungsreaktion in Gang bringen (siehe Abb. 23). Dabei ist IL-6 in der Lage, die Produktion von CRP und anderer prokoagulatorischer Akut-Phase-Proteine in der Leber zu stimulieren<sup>62</sup>. Prä- und postinterventionelle IL-6- und CRP-Werte korrelieren dabei mit späten Restenosen nach PCI<sup>63</sup> und besitzen Aussagekraft bezüglich zukünftiger kardialer Ereignisse bei Patienten mit stabiler Angina pectoris nach perkutanen Koronarinterventionen<sup>21,64</sup>. Erhöhte IL-6-Werte bei augenscheinlich gesunden Männern waren prognostisch signifikant bezüglich des Auftretens zukünftiger Myokardinfarkte<sup>65</sup>. Korrespondierend dazu zeigten sich in der TOPSTAR-Studie nach elektiver PCI höhere IL-6-Werte bei Troponin T-positiven Patienten verglichen mit Troponin T-negativen Patienten. IL-6 wiederum selbst kann durch prokoagulatorische Effekte die Bildung von Mikrothromben unterstützen und somit die Makro- und Mikrozirkulation beeinträchtigen<sup>62</sup>. In die gleiche Richtung weisen Untersuchungen, wonach bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt in kardialen, arteriellen Thromben erhöhte Spiegel an proinflammatorischen Zytokinen (IL-6, IL-8) entdeckt wurden<sup>66</sup>.



**Abb. 23:** Energiestoffwechsel einer Herzmuskelzelle unter physiologischen (grün) sowie ischämischen Verhältnissen (gelb und rot). Hervorgehoben ist die Freisetzung von Troponin T sowie inflammatorischer Entzündungsmediatoren (CRP, IL-1 $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$ ) als Folge von irreversiblen Zellschaden (modifiziert nach S. Silbernagl).

Die Reduzierung von Makro- und Mikroembolisation könnte einer der Schlüsselmechanismen für „improved patient outcome“ in aktuellen Studien wie RESTORE, EPISTENT oder TACTICS-TIMI 18 gewesen sein, welche alle den Einfluss einer Blockade des Integrin-Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptors bei akutem Koronarsyndrom untersucht haben<sup>6,7,8</sup>. Mikroembolisation geht mit einer lokalen Entzündungsreaktion einher, wie im Tierversuch nachgewiesen werden konnte: nach experimenteller Mikroembolisation wurden durch Anfärbung mittels Muramidase-Antikörper in nekrotisierten Arealen von Monozyten und Makrophagen exprimierte Zytokine gefunden<sup>67</sup>. In Analogie hierzu könnte der im Vergleich zu Troponin T-positiven Patienten gezeigte reduzierte Anstieg von IL-1 $\beta$ , IL-6 und CRP nach PCI bei Troponin T-negativen Patienten als Resultat eines verbesserten mikrozirkulativen Flusses und reduzierter mikrovaskulärer

ischämischer Ereignisse betrachtet werden. Was TNF- $\alpha$  betrifft, so reflektiert die geringe Modifikation über die Zeit das Fehlen längerer Ischämie-Phasen bei elektiver PCI. Vergleicht man den TNF- $\alpha$ -Verlauf Troponin T-negativer mit demjenigen Troponin T-positiver Patienten, fällt folgender Unterschied auf: während beginnend 6 Stunden nach PCI bei Troponin T-negativen Patienten keine - verglichen mit dem Ausgangswert - signifikant reduzierten Serum-TNF- $\alpha$ -Werte entdeckt wurden, waren bei Troponin T-positiven Patienten die TNF- $\alpha$ -Werte zwischen 6 und 48 Stunden signifikant niedriger als der Ausgangswert. Diese Absenkung der TNF- $\alpha$ -Werte kann über eine verstärkte direkte Suppression der TNF- $\alpha$ -Produktion durch zeitgleich erhöhte IL-6-Level Troponin T-positiver Patienten erklärt werden. Dieses Phänomen wurde bereits bei Monozyten im Human-Serum beschrieben<sup>68</sup>. Eine Zytokin-Freisetzung nach partieller oder globaler Myokardischämie wurde von Neumann beim Menschen sowie von Nossuli in einem Ischämie-Reperfusion-Modell bei der Maus dokumentiert<sup>59,69</sup>. Verglichen mit bei akutem Myokardinfarkt gemessenen Serum-Werten von IL-1 $\beta$ , IL-6 und TNF- $\alpha$  zeigten sich in der vorliegenden Studie die gemessenen Zytokin-Werte im Zeitverlauf nur mäßig erhöht, was den elektiven Charakter der durchgeführten PCI ohne längere Ischämie-Phasen widerspiegelt. Die ischämischen Ereignisse im Bereich der embolisierten Mikroareale wiederum erklären den ebenfalls mäßigen, jedoch signifikanten Anstieg der Zytokinantwort bei Troponin T-positiven gegenüber Troponin T-negativen Patienten nach elektiver PCI.

## 5 Grenzen der Studie

### 5.1 Ischämieparameter

Mit der Verabreichung von Tirofiban wurde in der TOPSTAR-Studie unmittelbar vor der perkutanen Koronarintervention begonnen. Es ist nicht auszuschließen, dass ein früherer Beginn oder aber eine längere Verabreichung der Infusion über die beschriebenen 18 Stunden hinaus eine Verbesserung der Ergebnisse bezüglich einer Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorinhibition bewirkt hätte. Die hohe Inzidenz Troponin T-positiver Patienten könnte aus einem niedrigen „cut-off“-Wert bei den Troponin-Messungen resultieren. Nach den Empfehlungen<sup>70</sup> des Gemeinsamen Komitees der *European Society of Cardiology* (ESC) und des *American College of Cardiology* (ACC) geht man von Myonekrosen aus, sobald Troponin einen Grenzwert jenseits der 99. Perzentile der Referenzwerte einer Kontrollgruppe überschritten hat. Im Zentrallabor der Universitätsklinik Würzburg beträgt dieser Grenzwert (cut-off level) 0,009 µg/ ml. Somit liegt jeder Wert > 0,01 µg/ ml innerhalb des von ESC und ACC empfohlenen Bereiches. Selbst bei einmaligem Überschreiten des „cut-off level“ innerhalb der Zeitspanne zwischen PCI bis 48 Stunden danach wurden Patienten in dieser Studie als Troponin positiv gewertet. Die vielfachen Messzeitpunkte in der TOPSTAR-Studie zeugen von der Bedeutung mehrerer Messzeitintervalle, um den Zeitverlauf ischämischer Ereignisse nach PCI möglichst genau einschätzen zu können. Eine Vorbehandlung mit Clopidogrel wurde spätestens am Tag vor der elektiven PCI in einer Dosis von 375 mg durchgeführt. Möglicherweise hätte Clopidogrel höher dosiert die gesehene Troponin-Freisetzung durch stärkere Senkung der Ausgangsthrombozytenfunktion in beiden Gruppen reduzieren können. Das Follow-up schließt 9 Monatsdaten mit ein. Verglichen mit der ESPRIT-Studie unterstreicht ein Anteil von 13,0 Prozent in der Placebo-Gruppe versus 2,3 Prozent in der Tirofiban-Gruppe betreffend Mortalität, Myokardinfarkt und operative Revaskularisation das „Niedrig-Risiko“-Patientenkollektiv der Studie. Weiterhin könnte die kombinierte Vorbehandlung mit Aspirin und Clopidogrel vor PCI für einen in beiden Gruppen niedrigen Anteil sekundärer

Endpunkte verantwortlich sein. Um allerdings genauere Schlussfolgerungen bezüglich des Einflusses von CK- oder Troponin-Freisetzung auf Mortalität, Myokardinfarkt und operative Revaskularisation zu gewinnen, müssen größere klinische Studien durchgeführt werden. Die TOPSTAR-Studie kann diesbezüglich nur als Pilot-Studie fungieren.

## 5.2 Entzündungsreaktion

Die Betrachtung der Studienlage oral eingenommener Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten und der Ergebnisse der GUSTO IV-Studie verdeutlicht, dass reversible Thrombozytenantagonisten besonders in niedrigen Dosierungen auch partielle Agonisten sein können<sup>71</sup>. Somit kann die Spekulation, Tirofiban könne in adäquat höherer Dosierung doch einen anti-inflammatorischen Effekt ausüben, nicht vollständig ausgeschlossen werden. In diesem Zusammenhang konnte eine Arbeit von Merino et al.<sup>72</sup> zeigen, dass hochdosierte Eptifibatide, wie Tirofiban ein sehr spezifischer Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonist, CRP-Level nach PCI zu reduzieren vermag. Gemäß dem Studienprotokoll wurde bei allen Patienten im Vorfeld der Studienteilnahme eine diagnostische PCI durchgeführt. Der Einfluss dieser diagnostischen PCI auf Zytokin- und CRP-Freisetzung konnte nicht festgestellt werden. Da aber während der diagnostischen PCI weder mechanische Manipulationen an den Koronarien stattfanden, noch durch Ballon-induzierten Gefäßverschluss eine temporäre Ischämie aufgetreten war und zusätzlich die Verteilung der Patienten bezüglich diagnostischer Katheterisierung und Intervention in beiden Gruppen annähernd identisch war, hängen die beschriebenen Entzündungsreaktionen am ehesten mit der Intervention selbst zusammen. Die vor und nach PCI gemessenen Zytokin-Levels sind im übrigen mit den von Lincoff et al. beschriebenen Levels vergleichbar<sup>23</sup>. Direkte Proben von Plaquematerial konnten nicht gewonnen werden. Des Weiteren war eine Durchführung histologischer Untersuchungen oder Zytokin-Extraktionen aus dem Myokard nicht möglich, um die Hypothese einer Mikroembolisierung als hauptsächliche Quelle der Zytokin-Freisetzung bei elektiver PCI, näher zu überprüfen. Die

Tatsache allerdings, dass bei allen Patienten eine Modulation der Zytokinantwort aufgetreten ist, welche aber nur im Vergleich Troponin T-positiver mit Troponin T-negativen Patienten statistische Signifikanz erreichte, lässt diese Hypothese als sehr wahrscheinlich erscheinen.

## 6 Zusammenfassung

Das Ziel der TOPSTAR-Studie war es,

- 1.) die Inzidenz und den zeitlichen Verlauf einer Troponin-Freisetzung bei elektiven Koronarinterventionen unter Vorbehandlung mit Aspirin und Clopidogrel zu untersuchen sowie
- 2.) den zusätzlichen Einfluss von Tirofiban (Aggrastat<sup>®</sup>) auf die Freisetzung ischämischer kardialer Parameter zu prüfen und
- 3.) die Inzidenz und den zeitlichen Verlauf einer Entzündungsreaktion nach elektiver PCI zu analysieren und der Frage nachzugehen, ob eine postinterventionelle Zytokinantwort direkt von einer selektiven Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorinhibition durch Tirofiban beeinflusst wird oder ob ein derartiger Effekt auf postinterventionelle, durch Troponin-Freisetzung charakterisierte, ischämische Ereignisse zurückzuführen ist.

Die TOPSTAR-Studie ist eine monozentrische, doppelblind-randomisierte prospektive Studie, in deren Verlauf bei 109 Patienten mit stabiler Angina pectoris eine perkutane Koronarintervention durchgeführt wurde. Alle Patienten waren mit Aspirin *und* Clopidogrel vorbehandelt. An die Bolus-Gabe schloss sich eine 18-stündige Infusion des Studienmedikamentes Tirofiban bzw. Placebo (NaCl 0,9%) an. Primärer Endpunkt der Studie war die Inzidenz postinterventioneller Troponin-Freisetzung. Sekundärer kombinierter Endpunkt war die Inzidenz von Tod, Myokardinfarkt oder operativer Revaskularisation des Zielgefäßes. Die Thrombozytenfunktion wurde durch Verabreichung des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Tirofiban beginnend vor der Intervention bis 18 Stunden nach PCI um 90% inhibiert. Blutabnahmen wurden vor sowie 30 min, 2h, 6h, 12h, 24h und 48h nach PCI durchgeführt. Innerhalb der ersten 12 Stunden nach PCI wurde eine Troponin-Freisetzung bei 40% der Tirofiban-behandelten Patienten (T) und bei 63% der Placebo-behandelten Patienten (P) gefunden ( $p < 0,05$ ), innerhalb der ersten 24 Stunden bei 48% (T) bzw. 69% (P) ( $p < 0,05$ ) sowie nach 48 Stunden bei 58% (T) bzw. 74% (P) ( $p < 0,08$ ). Signifikant in beiden Gruppen stieg das CRP im Verlauf der ersten 48

Stunden kontinuierlich an. IL-6 erreichte 12 Stunden nach PCI seinen Höchstwert ( $p < 0,01$ ). Bei TNF- $\alpha$  wurden die Höchstwerte bereits nach 30 Minuten gemessen. Zwischen Tirofiban- und Placebo-behandelten Patienten konnte bezüglich der Entzündungsantwort kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Jedoch wurde in einer Subgruppenanalyse beim Vergleich Troponin T-positiver versus Troponin T-negativer Patienten ein signifikanter Unterschied bei CRP, TNF- $\alpha$  und IL-6 gefunden. IL-1 $\beta$  zeigte in beiden Gruppen keinen signifikant unterschiedlichen Verlauf. Etwaige größere Blutungen, intrakranielle Blutungen sowie nicht-hämorrhagische Insulte differierten zwischen den Gruppen nicht. Nach 9 Monaten konnte ein reduziertes Auftreten der Inzidenz von Tod, Myokardinfarkt und operativer Revaskularisation des Zielgefäßes in der Tirofiban-Gruppe (2,3%) gegenüber der Placebo-Gruppe (13,0%) beobachtet werden ( $p < 0,05$ ).

## 7 Schlussfolgerung

Schlussfolgernd lässt sich bezüglich der Ischämieparameter und der Entzündungsreaktion bei Patienten der TOPSTAR-Studie nach elektiver, nicht-akuter PCI aussagen:

Die zusätzliche Gabe des Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptorantagonisten Tirofiban während und nach PCI führt zu einer signifikant gesenkten Inzidenz der postinterventionellen Troponin-Freisetzung bei mit Aspirin und Clopidogrel optimal vorbehandelten Patienten nach elektiver PCI. Darüber hinaus wurde in der Tirofiban-Gruppe eine signifikant niedrigere Inzidenz der Endpunkte Tod, Myokardinfarkt und operative Revaskularisation nach 9 Monaten beobachtet. Größere Studien müssen den Nutzen dieser Behandlungsstrategie betreffend der Langzeitparameter Tod, Myokardinfarkt, Rehospitalisierung und „myocardial salvage“ bei diesem speziellen Niedrig-Risiko-Patientenkollektiv aus dem Bereich der stabilen Angina pectoris zeigen. Aber auch die ökonomischen Aspekte dieser Behandlungsstrategie im medizinischen Niedrig-Risiko-Bereich sollten analysiert werden, stellen doch diese Patienten den weitaus größten Anteil an perkutanen Koronarinterventionen dar.

Bezüglich der postinterventionellen Entzündungsantwort zeigen die vorliegenden Daten neben einer indirekten Bestätigung einer Abciximab-spezifischen Inflammations-Suppressions-Hypothese 1.) deutliche Hinweise auf eine Induktion der Inflammationsantwort nach PCI bei stabiler Angina pectoris. Es ließ sich quantitativ eine charakteristische Modulation des Zytokins TNF- $\alpha$ , der Interleukine IL-6 und IL-1 $\beta$  sowie des C-reaktiven Proteins feststellen. Es zeigte sich 2.), dass Inflammation und Myonekrose eng miteinander verflochten sind. So war die Modulation von IL-6 und CRP signifikant ausgeprägter bei Patienten mit Troponin-Freisetzung nach PCI als bei Patienten ohne Troponin-Freisetzung. Diese Daten führen zu der Annahme, dass hauptsächlich im Bereich der downstream mikroembolisierten Myokard-Areale die Zytokin- und Interleukin-Produktion nach elektiver, nicht-akuter PCI stattfindet.

Der selektive Glykoprotein IIb/IIIa-Rezeptor-Antagonist Tirofiban führt somit zu einer niedrigeren Inzidenz an Troponin T-positiven Patienten nach elektiver

Koronarintervention mit einer konsekutiv geringeren inflammatorischen Antwort bei Troponin T-negativen Patienten.

## 8 Anhang

### 8.1 Aufklärungsbogen

#### Aufklärungsbogen

Sehr geehrte Frau .....

sehr geehrter Herr.....

Bei Ihnen ist eine Aufdehnung / Stentimplantation eines Herzkranzgefäßes geplant. Wir bieten Ihnen an, an einer Studie (TOPSTAR) teilzunehmen, die nach unserer Einschätzung zu einer Verbesserung der Ergebnisse führen kann.

#### Hintergrund und Ziel der Studie:

Im Rahmen der bei Ihnen dringend erforderlichen Aufdehnung einer Herzkranzarterie kann es bei der Aufdehnung zu einer Verschleppung von kleinen Teilchen kommen ( z.B. Thromben), die zu Verstopfungen kleinster Mikrogefäße führen kann. Dieses ist in der Regel für den Patienten nicht merkbar und nur anhand empfindlicher Laboruntersuchungen nachweisbar.

Unser Ziel ist es mit dieser Studie nun diese „Verstopfungen“ zu minimieren, indem Ihnen ein Medikament bei und nach der Untersuchung zugeführt wird, welches eine Entstehung dieser Thromben deutlich reduziert. Dieses Medikament wird bereits im Rahmen von Notfallsituationen (Wiedereröffnung eines verschlossenen Gefäßes beim akuten Herzinfarkt) routinemäßig eingesetzt, was zu einer Reduzierung der Sterblichkeit von 30% nach dem Akuteingriff geführt hat (EPISTENT-Studie). Dieses ist vergleichbar mit der Einführung von Aspirin bei der koronaren Herzerkrankung. Da das Medikament das Blut verdünnt, kann es zu einer erhöhten Blutungsneigung, primär im Bereich der Punktionsstelle, kommen. Der Einsatz dieses Medikamentes bei einem Notfalleingriff hat mit den heutigen Dosierungen jedoch bisher zu keiner höheren Nebenwirkungs- bzw. Blutungsrate geführt, wie der Einsatz der bisherigen Standardmedikation ohne das Medikament.

Sollte es nachgewiesenermaßen im Rahmen der Studienteilnahme zu einer mit der Prüfmedikation in Zusammenhang stehenden gravierenden Nebenwirkung kommen, so besteht zu Ihrer Absicherung für jeden an der Studie teilnehmenden Patienten eine Patientenversicherung. Um eine möglichst umfangreiche Dokumentation zu gewährleisten, werden Ihnen vor und nach der Untersuchung Langzeit – EKGs angelegt, sowie durch regelmäßige Blutbildkontrollen eine größtmögliche Sicherheit gegeben. Um den Erfolg der Behandlung zu dokumentieren, wird nach ½ Jahr eine Kontrolluntersuchung durchgeführt, die den Erfolg der Untersuchung kontrolliert. Ihre persönlichen Daten werden vertraulich behandelt und unterliegen dem Datenschutz.

Wenn Sie an der Studie teilnehmen möchten, so bitten wir Sie die dafür erforderliche Einverständniserklärung zu unterschreiben. Selbstverständlich können Sie zu jedem Zeitpunkt Ihr Einverständnis zur Teilnahme an der Studie ohne persönliche Nachteile widerrufen.

Prof. Dr. W. Voelker  
Leitender Oberarzt  
Med. Univ.-Klinik Würzburg

Dr. A. W. Bonz  
Assistenzarzt  
Med. Univ.-Klinik Würzburg

## 8.2 Einverständniserklärung

**Einverständniserklärung**

Ich bin mit der Teilnahme an der TOPSTAR-Studie einverstanden.

Ich bin über den Ablauf sowie über die Risiken der Studie für mich ausreichend aufgeklärt worden.

- Über die geplante Studie hat mich Frau/Herr Dr. .... in einem Aufklärungsgespräch ausführlich informiert.  
Dabei konnte ich alle mir wichtig erscheinenden Fragen über Art und Bedeutung der Untersuchung stellen.
- Ich habe den Inhalt dieses Aufklärungsbogens sowie die mündliche Aufklärung verstanden.
- Ich habe keine weiteren Fragen, fühle mich ausreichend aufgeklärt und willige hiermit nach ausreichender Bedenkzeit in die Teilnahme an der geplanten Studie (TOPSTAR) ein.

Ort, Datum: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
Unterschrift der Patientin/ des Patienten

\_\_\_\_\_  
Unterschrift der Ärztin/ des Arztes

## **9 Finanzielle Unterstützung**

Unser besonderer Dank gilt Frau Dr. Carmen Walbert, die an der finanziellen Unterstützung und Umsetzung der Studie durch die Firma MSD Sharp & Dohme maßgeblichen Anteil hatte.

## 10 Literaturverzeichnis

---

- 1 Hall P, Nakamura S, Maiello L et al.**  
A randomized comparison of combined ticlopidine and aspirin therapy versus aspirin therapy alone after successful intravascular ultrasound-guided stent implantation.  
Circulation. 1996; 93:215-22
- 2 Urban P, Macaya C, Rupprecht HJ et al (for the MATTIS Investigators)**  
Randomized evaluation of anticoagulation versus antiplatelet therapy after coronary stent implantation in high-risk patients: the multicenter aspirin and ticlopidine trial after intracoronary stenting (MATTIS).  
Circulation. 1998; 98:2126-32
- 3 The CURE-Investigators**  
Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation.  
N Engl J Med. 2001; 345:494-502
- 4 Wu KC, Zerhouni EA, Judd RM et al.**  
Prognostic significance of microvascular obstruction by magnetic resonance imaging in patients with acute myocardial infarction.  
Circulation. 1998; 97:765-72
- 5 Ito H, Maruyama A, Iwakura K et al.**  
Clinical implications of the „no reflow“ phenomenon. A predictor of complications and left ventricular remodeling in reperfused anterior wall myocardial infarction.  
Circulation. 1996; 93:223-28
- 6 Topol EJ for the EPISTENT-Investigators**  
Randomized placebo-controlled and balloon-angioplasty-controlled trial to assess safety of coronary stenting with use of platelet glycoprotein-IIb/IIIa blockade.  
Lancet. 1998; 352:87-92

- 
- 7 **Cannon PC for the TACTICS-Thrombolysis in Myocardial infarction 18 Investigators**  
Comparison of early invasive and conservative strategies in patients with unstable coronary syndromes treated with the glycoprotein IIb/IIIa inhibitor Tirofiban.  
N Engl J Med. 2001; 344:1879-87
- 8 **King SB for the RESTORE Investigators**  
Effects of platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade with Tirofiban on adverse cardiac events in patients with unstable angina or acute myocardial infarction undergoing coronary angioplasty.  
Circulation. 1997; 96:1445-53
- 9 **Lincoff AM, Harrington RA, Califf RM et al.**  
Management of patients with acute coronary syndromes in the United States by platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibition. Insights from the platelet glycoprotein IIb/IIIa in unstable angina: receptor suppression using Integrillin therapy (PURSIUT) trial.  
Circulation. 2000; 102:1093-1100
- 10 **The ESPRIT-investigators**  
Novel dosing regimen of eptifibatide in planned coronary stent implantation (ESPRIT): a randomized, placebo-controlled trial.  
Lancet. 2000; 356:2037-44
- 11 **Shyu KG, Kuan PL, Cheng JJ et al.**  
Cardiac troponin T, creatine kinase and its isoform release after successful percutaneous transluminal coronary angioplasty with or without stenting.  
Am Heart J. 1998; 135:862-67
- 12 **Karim MA, Shinn M, Oskarsson H et al.**  
Significance of cardiac troponin release after percutaneous transluminal coronary angioplasty.  
Am J Cardiol. 1995; 76:521-23

- 
- 13 **Tardiff BE, Califf RM, Tcheng JE et al. (for the IMPACT-II Investigators)**  
Clinical outcome after detection of elevated cardiac enzymes in patients undergoing percutaneous intervention.  
J Am Coll Cardiol. 1999; 33:88-96
- 14 **Ohman EM, Armstrong PW, Christenson RH et al. (for the GUSTO IIa Investigators)**  
Cardiac troponin T levels for risk stratification in acute myocardial ischemia.  
N Engl J Med. 1996; 335:1333-41
- 15 **Yarnell JW, Baker IA, Sweetnam PM et al.**  
Fibrinogen, viscosity, and white blood cell count are major risk factors for ischemic heart disease.  
Circulation. 1991; 83:836-44
- 16 **Van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM et al.**  
Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaque is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology.  
Circulation. 1994; 90:36-44
- 17 **Ross R**  
Atherosclerosis: an inflammatory disease.  
N Engl J Med. 1999; 340:115-26
- 18 **Ikonomidis I, Andreotti F, Economou E et al.**  
Increased proinflammatory cytokines in patients with chronic stable angina and their reduction by aspirin.  
Circulation. 1999; 100:793-98
- 19 **Biasucci LM, Vitelli A, Liuzzo G et al.**  
Elevated levels of Interleukin-6 in unstable angina.  
Circulation. 1996; 94:874-877
- 20 **Liuzzo G, Buffon A, Biasucci L et al.**  
Enhanced inflammatory response to coronary angioplasty in patients with severe unstable angina.  
Circulation. 1998; 98:2370-76

- 
- 21 **Gaspardone A, Crea F, Versaci F et al.**  
Predictive value of C-reactive protein after successful coronary artery stenting in patients with stable angina.  
Am J Cardiol. 1998; 82:515-18
- 22 **Versaci F, Gaspardone A, Tomai F**  
Predictive value of C-reactive protein in patients with unstable angina pectoris undergoing coronary artery stent implantation.  
Am J Cardiol. 2000; 85:92-95
- 23 **Lincoff AM, Kereiakes DJ, Mascelli MA et al.**  
Abciximab suppresses the rise in levels of circulating inflammatory markers after percutaneous coronary revascularisation.  
Circulation. 2001; 104:163-67
- 24 **Steinhubl SR, Talley JD, Braden GA et al.**  
Point-of-care measured platelet inhibition correlates with a reduced risk of an adverse cardiac event after percutaneous coronary intervention: results of the GOLD multicenter study.  
Circulation. 2001; 103:2572-78
- 25 **The GUSTO IV-ACS Investigators**  
Effect of glycoprotein IIb/IIIa receptor blocker abciximab on outcome in patients with acute coronary syndromes without early coronary revascularisation: the GUSTO IV-ACS randomised trial.  
Lancet. 2001; 357:1915-24
- 26 **Chew DP, Moliterno DJ**  
A critical appraisal of platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibition.  
J Am Coll Cardiol. 2000; 36:2028-35
- 27 **Kereiakes DJ, Broderic TM, Roth EM et al.**  
Time course, magnitude, and consistency of platelet inhibition by abciximab, tirofiban, or eptifibatide in patients with unstable angina pectoris undergoing percutaneous coronary interventions.  
Am J Cardiol. 1999; 84:391-95

- 
- 28 **Bode AP, Lust RM**  
Masking of heparin activity in the activated coagulation time (ACT) by platelet procoagulant activity.  
Thromb Res. 1994; 73:285-300
- 29 **Troponin T STAT Elecsys® 2010**  
online
- 30 **Abdelmeguid A, Topol EJ, Whitlow PL et al.**  
Significance of mild transient release of creatin-kinase-MB fraction after percutaneous coronary interventions.  
Circulation. 1996; 94:1528-36
- 31 **Hillis WS, Birnie D, Cocherty A**  
Troponin T and myocardial damage.  
Br J Cardiol. 1993; 1:16-21
- 32 **Gerhardt W, Ljungdahl L**  
Troponin T: a sensitive and specific diagnostic and prognostic marker of myocardial damage.  
Clin Chim Acta. 1998; 272:47-57
- 33 **Abdelmeguid AE, Topol EJ**  
The myth of the myocardial „infarctlet“ during percutaneous coronary revascularization procedures.  
Circulation. 1996; 94:3369-75
- 34 **Gerhardt W, Katus HA, Rauklide J et al.**  
S-troponin-T as a marker of ischemic myocardial injury.  
Clin Chem. 1992; 38:1194-5
- 35 **Simoons ML, van den Brand M, Lincoff M et al.**  
Minimal myocardial damage during coronary intervention is associated with impaired outcome.  
Eur Heart J. 1999; 20:1112-19
- 36 **Kelly D, Arora R**  
Prognostic significance of myocardial enzyme release after coronary interventions.  
Catheter Cardiovasc Interv. 1999; 46:292-302

- 
- 37 **Kong TQ, Davidson CJ, Meyers SN et al.**  
Prognostic implication of creatine kinase elevation following elective coronary artery interventions.  
JAMA. 1997; 277:461-66
- 38 **Ravkilde J, Nissen H, Mickley H et al.**  
Cardiac troponin T and CK-MB mass release after visually successful percutaneous transluminal coronary angioplasty in stable angina pectoris.  
Am Heart J. 1994; 127:13-20
- 39 **La Vecchia L, Bedogni F, Finocchi G et al.**  
Troponin T, troponin I and creatine kinase-MB mass after elective coronary stenting.  
Coron Artery Dis. 1996; 7:535-40
- 40 **Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology committee**  
Myocardial infarction redefined.  
J Am Coll Cardiol. 2000; 36: 959-69
- 41 **Johansen O, Brekke M, Stromme JH et al.**  
Myocardial damage during percutaneous transluminal coronary angioplasty as evidenced by troponin T measurements.  
Eur Heart J. 1998 Jan; 19(1):112-7
- 42 **Gawaz M, Neumann FJ, Ott I et al.**  
Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty.  
Circulation. 1996; 93:229-37
- 43 **Skyschally A, Erbel R, Heusch G**  
Coronary microembolisation.  
Circ J. 2003; 67: 279-286
- 44 **Douglas JS Jr**  
Percutaneous interventions in patients with prior bypass surgery.  
In Topol EJ. Ed: Textbook of interventional cardiology, 3<sup>rd</sup> ed., Philadelphia, Pa: WB Saunders: 1999:297-316

- 
- 45 **Davies MJ, Thomas AC, Knapman PA et al.**  
Intramyocardial platelet aggregation in patients with unstable angina suffering sudden ischemic cardiac death.  
Circulation. 1986; 73:418-27
- 46 **Frink RJ, Ostrach LH, Rooney PA et al.**  
Coronary thrombosis, ulcerated atherosclerotic plaques and platelet/fibrin microemboli in patients dying with acute coronary disease: a large autopsy study.  
J Clin Invest. 1990; 2:199-210
- 47 **Herrmann J, Haude M, Lerman A et al.**  
Abnormal coronary flow velocity reserve after coronary intervention is associated with cardiac marker elevation.  
Circulation. 2001; 103:2339-45
- 48 **Antoniucci D, Valenti R, Migliorini A et al.**  
Direct infarct artery stenting without predilation and no-reflow in patients with acute myocardial infarction.  
Am Heart J. 2001; 142:684-90
- 49 **Lele M, Sajid M, Wajih N et al.**  
Eptifibatide and 7E3, but not Tirofiban, inhibit  $\alpha_v\beta_3$  integrin-mediated binding of smooth muscle cells to thrombospondin and prothrombin.  
Circulation. 2001; 104:582-87
- 50 **Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T et al.**  
Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells.  
Circulation. 1998; 98:1164-71
- 51 **Tam SH, Sassoli PM, Jordan RE et al.**  
Abciximab (ReoPro, chimeric 7E3 Fab) demonstrates equivalent affinity and functional blockade of glycoprotein IIb/IIIa and  $\alpha(v)\beta_3$  integrins.  
Circulation. 1998; 98:1085-91
- 52 **Simon DI, Xu H, Ortlepp S et al.**  
7E3 monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein

- 
- IIb/IIIa cross-reacts with the leukocyte integrin Mac-1 and blocks adhesion to fibrinogen and ICAM-1.  
Arterioscler Thromb Vasc Biol. 1997; 17:528-35
- 53 **Hanson GK, Jonason L, Seifert PS et al.**  
Immune mechanism in atherosclerosis.  
Atherosclerosis. 1989; 9:567-78
- 54 **Bataille R, Klein B**  
C-reactive protein levels as a direct indicator of interleukin 6 levels in humans in vivo.  
Arthritis Rheum. 1992; 35:982-84
- 55 **Nawroth PP, Stern DM**  
Modulation of endothelial cell hemostatic properties by tumor necrosis factor.  
J Exp Med. 1986; 163:740-45
- 56 **Herskowitz A, Choi S, Ansari AA et al.**  
Cytokine mRNA expression in postischemic / reperfused myocardium.  
Am J Pathol. 1995; 146:419-28
- 57 **Serrano CV Jr, Ramires JA, Venturinelli M et al.**  
Coronary angioplasty results in leucocyte and platelet activation with adhesion molecule expression. Evidence of inflammatory responses in coronary angioplasty.  
J Am Coll Cardiol. 1997; 29:1276-83
- 58 **Blum A, Sclarovsky S, Shohat B**  
T lymphocyte activation in stable angina pectoris and after percutaneous transluminal coronary angioplasty.  
Circulation. 1995; 91:20-2
- 59 **Neumann FJ, Ott I, Gawaz M et al.**  
Cardiac release of cytokines and inflammatory responses in acute myocardial infarction.  
Circulation. 1995; 92:748-55
- 60 **Gurevitch J, Frolkis I, Yuhass Y et al.**  
Anti-tumor necrosis factor-alpha improves myocardial recovery after ischemia and reperfusion.

- 
- J Am Coll Cardiol. 1997; 30:1554-61
- 61 **Li D, Zhao L, Liu M et al.**  
Kinetics of tumor necrosis factor alpha in plasma and the cardioprotective effect of a monoclonal antibody to tumor necrosis factor alpha in acute myocardial infarction.  
Am Heart J. 1999; 137:1145-52
- 62 **Akira S, Hirano T, Taga T et al.**  
Biology of multifunctional cytokines: IL 6 and related molecules (IL-1 and TNF- $\alpha$ ).  
FASEB J. 1990; 4:2860-70
- 63 **Hojo Y, Ikeda U, Katsuki TA et al.**  
Interleukin 6 expression in coronary circulation after coronary angioplasty as a risk factor for restenosis.  
Heart. 2000; 84:83-7
- 64 **Gottsauner-Wolf M, Zasmata G, Hornykewycz S et al.**  
Plasma levels of C-reactive protein after coronary stent implantation.  
Eur Heart J. 2000; 21:1152-58
- 65 **Ridker PM, Rifai N, Stampfer MJ et al.**  
Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men.  
Circulation. 2000; 101:1767-72
- 66 **Kato K, Matsubara T, Ida K et al.**  
Elevated levels of proinflammatory cytokines in coronary artery thrombi.  
International Journal of Cardiology 70 (1999): 267-273
- 67 **Arras M, Strasser R, Mohri M et al.**  
Tumor necrosis factor-alpha is expressed by monocytes / macrophages following cardiac microembolization and is antagonized by cyclosporine.  
Basic Res Cardiol. 1998; 93:97-107
- 68 **Schindler R, Mancilla J, Endres S et al.**  
Correlations and interactions in the production of interleukin-6 (IL-6), IL-1, and tumor necrosis factor (TNF) in human blood mononuclear cells: IL-6 suppresses IL-1 and TNF.

---

Blood. 1990; 75(1):40-7

69 **Nossuli TO, Lakshminarayanan V, Baumgarten G et al.**

A chronic mouse model of myocardial ischemia-reperfusion: essential in cytokine studies.

Am J Physiol Heart Circ Physiol. 2000; 278:H1049-55

70 **The Joint European Society of Cardiology/ American College of Cardiology Committee**

Myocardial infarction redefined - a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction.

J Am Coll Cardiol. 2000; 36(3):959-69

71 **Quinn MJ, Plow EF, Topol EJ**

Platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors: recognition of a two-edged sword?

Circulation. 2002; 106:379-85

72 **Merino A, Artaiz M, Vidal B et al.**

Eptifibatide blocks the increase in C-reactive protein concentrations by coronary angioplasty.

Circulation. 2001; 104:11-56

## **Danksagung**

Herrn Prof. Dr. med. Wolfram Voelker danke ich für die freundliche Überlassung des Dissertationsthemas sowie ganz besonders für die zahlreichen Ratschläge und die engagierte Unterstützung bei der Erstellung der Dissertationsarbeit. Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Andreas Bonz danke ich für seine hervorragende Betreuung. Er hat mich in besonderer Weise gefordert und gefördert. Damit trägt er bedeutenden Anteil daran, dass ich stets mit großer Motivation und vor allem auch mit Freude am Gelingen meiner Promotion gearbeitet habe. Er ist mir zum Freund und Vorbild geworden.

Besonderen Dank möchte ich weiterhin an alle Ärzte und Pflegekräfte im Herzkatheterlabor, der medizinischen Intensiv- und Überwachungsstation sowie den peripheren Stationen richten, ohne deren engagierte und professionelle Hilfe die Durchführung der Studie nicht möglich gewesen wäre.

Dem Direktor der Medizinischen Klinik, Herrn Professor Dr. med. Georg Ertl danke ich, dass er mir die Möglichkeit gegeben hat, die Studie an seiner Klinik durchzuführen.

## **Lebenslauf**

Björn Daniel Lengenfelder

geboren am 26.05.1976 in Nürnberg

### ***schulischer Werdegang***

1983–1987	Besuch der Grundschule Nürnberg-Laufamholz
1987–1995	Besuch des Neuen Gymnasiums Nürnberg
1995–1996	Besuch des Gymnasium Carolinum Ansbach
30.05.1996	Erlangung der Allgemeinen Hochschulreife (Abitur)

### ***vor Aufnahme des Studiums***

1996–1997	Grundwehrdienst bei der Luftwaffe (Sanitätsdienst)
-----------	--

### ***universitärer Werdegang***

01.04.1997	Aufnahme des Studiums der Medizin an der Bayerischen Julius-Maximilians-Universität Würzburg
23.03.1999	Ärztliche Vorprüfung
23.03.2000	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
10.09.2002	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
2002–2003	Praktisches Jahr in den Fächern Innere Medizin, Chirurgie und Pädiatrie
28.10.2003	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
01.12.2003	Arzt im Praktikum in der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg
01.10.2004	Assistenzarzt in der Medizinischen Klinik der Universität Würzburg

Würzburg, 11. Oktober 2004

