

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg

Direktor: Professor Dr. med. G. Ertl

Schnelle und reversible Reduktion der Thrombozytenaktivierung bei Diabetes
durch den neuartigen P2Y₁₂-Antagonisten AZD6140 (Ticagrelor)

INAUGURAL-DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von Juliane Jaitner

aus Würzburg

Würzburg, Oktober 2009

Referent: Priv.-Doz. Dr. A. Schäfer

Koreferent: Prof. Dr. med. U. Walter

Dekan: Prof. Dr. M. Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 12.11.2010

Die Promovendin ist Ärztin

Inhaltsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Inhaltsverzeichnis..... | 1 |
| 1 Einleitung..... | 1 |
| 1.1 Definition des Diabetes mellitus..... | 1 |
| 1.2 Prävalenz, Inzidenz und Tendenzen in der Entwicklung des Diabetes mellitus beziehungsweise des metabolischen Syndroms | 1 |
| 1.3 Ökonomische Aspekte und durch Diabetes verursachte Kosten..... | 5 |
| 1.4 Formen und Ätiologie des Diabetes mellitus | 8 |
| 1.5 Risikofaktoren des Diabetes mellitus, des metabolischen Syndroms und der Koronaren Herzkrankheit | 10 |
| 1.6 Endotheliale Dysfunktion und Atherosklerose bei Diabetes mellitus..... | 12 |
| 1.7 Auswirkungen des Diabetes mellitus auf angiographische und klinische Ergebnisse in der Stentbehandlung sowie auf die Restenose- und Revaskularisationsrate..... | 17 |
| 1.8 Irreversible und reversible P2Y ₁₂ -Rezeptor-Antagonisten–Inhibitoren der Plättchenaggregation | 18 |
| 2 Methoden..... | 20 |
| 2.1 Die Versuchstiere | 20 |
| 2.2 Die Induktion des Diabetes..... | 20 |
| 2.3 Die Blutproben | 21 |
| 2.4 Die Durchflusszytometrie..... | 21 |
| 2.5 Die Plättchenaggregation..... | 22 |
| 2.6 Die Plättchenadhäsion in der Flusskammer..... | 22 |
| 2.7 Der P2Y ₁₂ Plättchen Reaktivitäts Index (PRI) | 23 |
| 2.8 Substanzen..... | 24 |
| 2.9 Statistik..... | 24 |
| 3 Ergebnisse..... | 25 |
| 3.1 Resorption von AZD6140 und Modell der Pharmakokinetik | 25 |
| 3.1.1 Deskriptive Parameter nach Akutgabe von AZD6140..... | 25 |
| 3.1.2 Deskriptive Parameter nach chronischer Gabe von AZD6140 | 26 |
| 3.2 Akute Auswirkungen auf die Plättchenfunktionen nach einmaliger AZD6140 Gabe..... | 28 |
| 3.2.1 Akute Effekte auf die ADP-induzierte Plättchenaggregation | 28 |
| 3.2.2 Akute Effekte auf die ADP-induzierte P-Selektin Expression..... | 29 |
| 3.2.3 Akute Effekte auf die Adhäsion stimulierter Plättchen in der Flusskammer .. | 31 |

| | | |
|-------|---|----|
| 3.3 | Prädiktion der chronischen Dosis | 32 |
| 3.4 | Chronische Auswirkungen von AZD6140 auf die Plättchenfunktionen | 32 |
| 3.4.1 | Chronische Effekte auf die P-Selektin Expression unstimulierter Plättchen .. | 32 |
| 3.4.2 | Chronische Effekte auf die ADP-induzierte P-Selektin Expression | 34 |
| 3.4.3 | Chronische Effekte auf die ADP-induzierte Plättchenaggregation..... | 35 |
| 3.4.4 | Chronische Effekte auf die Adhäsion ADP-stimulierter Plättchen in der Flusskammer | 36 |
| 4 | Diskussion | 37 |
| 4.1 | Die Regulierung der Plättchenfunktionen über die P2-Rezeptoren..... | 37 |
| 4.2 | AZD6140, die Thienopyridine und ASS im Vergleich: Vor- und Nachteile | 39 |
| 4.3 | Das Problem des verminderten Ansprechens auf Clopidogrel assoziiert mit dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse und subakuter Stentthrombosen..... | 43 |
| 4.4 | Die P2Y ₁₂ -Rezeptor-Antagonisten und ihre Auswirkungen auf atherogenetische und inflammatorische Prozesse | 48 |
| 4.5 | Klinische Studien..... | 50 |
| 5 | Zusammenfassung | 52 |
| | Literaturverzeichnis..... | 53 |
| | Abbildungsverzeichnis | 67 |
| | Tabellenverzeichnis..... | 68 |
| | Abkürzungsverzeichnis | 69 |

1 Einleitung

1.1 Definition des Diabetes mellitus

Unter Diabetes mellitus – wörtlich übersetzt „Honigsüßer Durchfluss“ - versteht man eine erbliche chronische Stoffwechselerkrankung, die auf einem absoluten oder relativen Mangel an Insulin beruht und in deren Folge nach längerer Krankheitsdauer Schäden an Blutgefäßen und Nervensystem auftreten können.¹

1.2 Prävalenz, Inzidenz und Tendenzen in der Entwicklung des Diabetes mellitus beziehungsweise des metabolischen Syndroms

Schätzungen und Hochrechnungen sagen ein epidemieähnliches Wachstum der Diabetesinzidenz und –prävalenz in Europa voraus.² Die Inzidenz des Typ 1 Diabetes ist bei Weißen höher als bei Schwarzen oder Asiaten. Sie stieg weltweit in den letzten 40 Jahren durchschnittlich um 3 % pro Jahr.³ Untersuchungen zufolge ergibt sich eine Inzidenz von 10/ 100 000 Personen pro Jahr bezogen auf die Weltbevölkerung.³ Dagegen findet sich der Typ 2 Diabetes häufiger bei Schwarzen, Mexikanern und amerikanischen Eingeborenen.³ Die Prävalenz aller Diabetes-Formen betrug in den Vereinigten Staaten 1998 6,5 %⁴, wobei der Typ 2 Diabetes mit ungefähr 90-95 % den größten Anteil hiervon ausmacht.³ Im vergangenen Jahrzehnt ist die Prävalenz des Diabetes mellitus II in den USA um etwa 33 % gestiegen.⁴ Zudem hat sich die Zahl der Diabetiker in fünf Jahren um 11 % erhöht.³ Bis zum Jahre 2050 wird allein in den Vereinigten Staaten ein Anstieg der Prävalenzrate des Typ 2 Diabetes um mehr als 165 % erwartet.⁵

Nationale Umfragedaten haben eine weltweite Verbreitung des metabolischen Syndroms ergeben. Allein in den USA sind 24 % der Erwachsenen im Alter von 20 bis 70 Jahren oder älter betroffen.⁵ Die Prävalenz des metabolischen Syndroms steigt rapide in Abhängigkeit vom Alter, von 7 % bei den 20jährigen auf 40 % bei den 60jährigen oder Älteren (siehe Abbildung 1).⁵

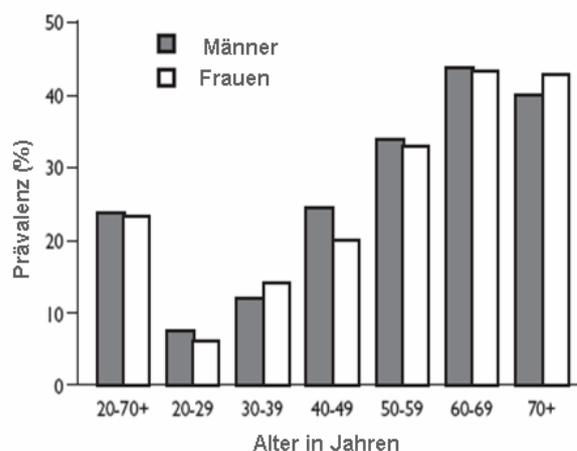


Abb. 1: Prävalenz des metabolischen Syndroms

entsprechend der NCEP ATP III Kriterien unter Erwachsenen der US-Bevölkerung im Alter von 20 Jahren oder älter, stratifiziert nach dem Alter. (nach Meigs, J.B. ⁵)

Personen mit metabolischem Syndrom entwickeln doppelt so häufig eine atherosklerotische kardiovaskuläre Erkrankung (CVD) und mehr als 4-mal so häufig einen Diabetes mellitus Typ 2.⁵

Diese Epidemie des Diabetes mellitus wird zu einem großen Teil durch den überwiegend sitzenden Lebensstil und das unter anderem daraus resultierende Übergewicht unserer heutigen Gesellschaft verursacht.⁵ In den Jahren 2003-2004 waren 32,9 % der Erwachsenen im Alter von 20 bis 70 Jahren adipös und mehr als 17 % der Jugendlichen zwischen 12 und 19 Jahren übergewichtig.⁶ Je höher das Körpergewicht, desto höher ist die Inzidenz von Diabetes mellitus, kardiovaskulären Erkrankungen und nicht-alkoholischer Fettleber (Steatosis hepatis).⁶ Hierbei tritt Diabetes besonders häufig im Zusammenhang mit sehr hohen BMI (Body Mass Index)-Werten auf, oft in der Größenordnung eines BMI von 35-40.⁶ Weltweit ist seit 1980 die Fettleibigkeit und somit der BMI dramatisch gestiegen, was aus Abbildung 2 ersichtlich ist.

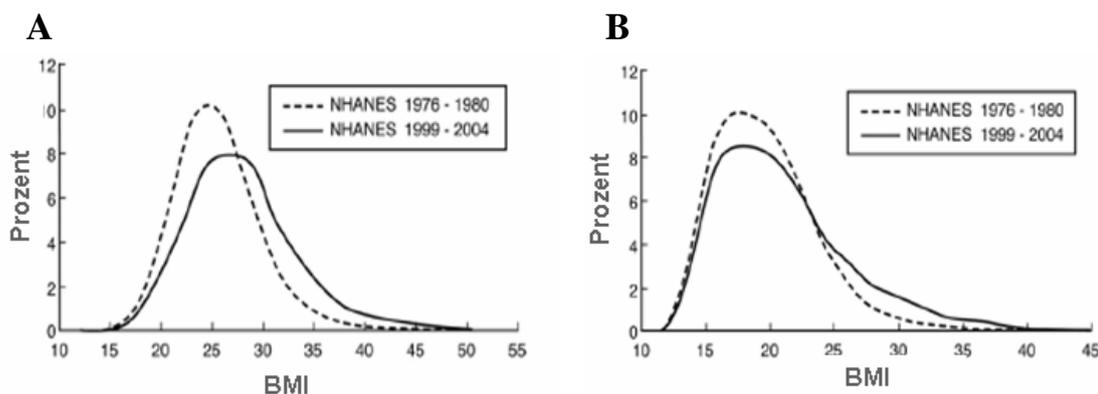


Abb. 2: Veränderungen in der Verteilung des BMI zwischen 1976-1980 und 1999-2004 in den Vereinigten Staaten

A) für Erwachsene im Alter zwischen 20-74 Jahren

B) für Kinder und Jugendliche im Alter zwischen 6-19 Jahren (nach Ogden, C.L. ⁶)

Anfang der 60er Jahre hat die Prävalenz der Fettleibigkeit 11 % bei Männern und 16 % bei Frauen betragen.⁶ Zwischen 1980 und 2004 hat sich in den USA die Prävalenz des Übergewichts von 15 % auf 33 % bei den Erwachsenen und von 6 % auf 19 % bei den Jugendlichen erhöht.^{7:8} Unter den Erwachsenen ist Adipositas sowohl mit einer erhöhten Morbidität als auch mit einer erhöhten Mortalität verbunden.⁶

Diese Entwicklungen finden sich nicht nur in den USA, sondern weltweit. Untersuchungen haben gezeigt, dass sich beispielsweise in England die Prävalenz der Fettleibigkeit (BMI > 30) bei den 25 bis 34jährigen Frauen in nur 9 Jahren zwischen 1993 und 2002 von 12 % auf 24 % verdoppelt hat.⁹

In verschiedenen Studien hat man herausgefunden, dass Diabetes bevorzugt in Bevölkerungsgruppen mit niedrigem ökonomischem Status und bei älteren Personen auftritt.² Es wurden Tendenzen in der Entwicklung des Typ 1 und des Typ 2 Diabetes in sieben europäischen Ländern untersucht (Finnland, Dänemark, Großbritannien, Deutschland, Frankreich, Spanien und Italien).² Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 und 2 dargestellt.

| Land | Bevölkerung | 1995 | 2000 | 2010 |
|----------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|
| Finnland | 5 100 000 | 37 400 | 35 400 | 34 200 |
| Dänemark | 5 200 000 | 23 000 | 25 000 | 26 000 |
| Großbritannien | 58 000 000 | 200 000 | 189 000 | 183 000 |
| Deutschland | 81 000 000 | 184 000 | 174 000 | 169 000 |
| Italien | 57 000 000 | 89 000 | 81 000 | 76 000 |
| Spanien | 39 500 000 | 92 000 | 84 000 | 80 000 |
| Frankreich | 58 000 000 | 93 000 | 89 000 | 85 000 |

Tab. 1: Schätzungen und Hochrechnungen der Prävalenz des Typ 1 Diabetes in Europa 1995-2010 (nach Passa, P. ²)

| Land | Bevölkerung | 1995 | 2000 | 2010 |
|----------------|--------------------|-------------|-------------|-------------|
| Finnland | 5 100 000 | 243 000 | 237 000 | 238 000 |
| Dänemark | 5 200 000 | 171 000 | 195 000 | 241 000 |
| Großbritannien | 58 000 000 | 1 076 000 | 1 863 000 | 2 880 000 |
| Deutschland | 81 000 000 | 2 715 000 | 3 353 000 | 4 244 000 |
| Italien | 57 000 000 | 2 635 000 | 2 824 000 | 3 172 000 |
| Spanien | 39 500 000 | 1 652 000 | 1 744 000 | 1 859 000 |
| Frankreich | 58 000 000 | 1 147 000 | 1 880 000 | 2 784 000 |

Tab. 2: Schätzungen und Hochrechnungen der Prävalenz des Typ 2 Diabetes in Europa 1995-2010 (nach Passa, P. ²)

Es wird ein Anstieg der Inzidenz des Typ 1, aber vor allem der Inzidenz des Typ 2 Diabetes beobachtet. In den Jahren 1995-1999 speziell in Großbritannien, Deutschland und Frankreich.¹⁰

Beispielsweise hat sich in Frankreich die jährliche Zahl der Neuerkrankungen des Diabetes Typ 1 bei Patienten im Alter von 0-19 Jahren innerhalb von 7 Jahren (1988 bis 1995) um 29 % erhöht.¹¹ In Finnland findet man die weltweit höchste Inzidenz des Typ 1 Diabetes. Tuomilehto et al. haben berichtet, dass die jährliche Inzidenzrate in Finnland von 18/ 100 000 im Jahre 1965 auf 45/ 100 000 im Jahr 2000 angestiegen ist und 2010 wahrscheinlich 50/ 100 000 betragen wird, wenn diese Tendenz weiterhin besteht.¹²

Die EURODIAB ACE Study Group registrierte in den Jahren 1989-1994 16 326 neue Diabetes Typ 1-Fälle bei Kindern, die jünger als 15 Jahre waren.¹³ Es wurden Daten aus 44 Untersuchungszentren gewonnen, die die meisten europäischen Länder repräsentierten. Hierbei ergab sich ein jährlicher Anstieg der Inzidenz von durchschnittlich 3,4 %.¹³ Wurden die Kinder nach Altersgruppen getrennt betrachtet, konnte die größte Inzidenzerhöhung bei den 0-4-jährigen mit 6,3 % beobachtet werden.¹³ Bei den 5-9-jährigen zeigte sich eine Zunahme der jährlichen Neuerkrankungen um 3,1 % und bei den 10-14-jährigen um 2,4 %, wobei deutliche Unterschiede bei den einzelnen Ländern bestehen.¹³ So beträgt beispielsweise die Inzidenz in Mazedonien 3,2/ 100 000 pro Jahr, in Finnland dagegen 40/ 100 000 pro Jahr.² Aus der wachsenden Inzidenz des Typ 1 Diabetes und der höheren Lebenserwartung der Betroffenen resultiert eine ebenfalls erhöhte Prävalenz, die in den nächsten Jahren weiter wachsen wird.² Um diesem Phänomen vorzubeugen, sind eine verbesserte Prävention und medizinische Fortschritte in der Behandlung des Typ 1 Diabetes notwendig.²

Amos et al. untersuchten die Prävalenz des Typ 2 Diabetes in den oben genannten sieben europäischen Ländern Finnland, Dänemark, Großbritannien, Deutschland, Frankreich, Spanien und Italien.¹⁰ Aus Tabelle 2 ist ersichtlich, dass sich beispielsweise in Deutschland die Prävalenz des Typ 2 Diabetes von 2 715 000 im Jahre 1995 auf geschätzte 4 244 000 im Jahr 2010 verdoppeln wird.¹⁰

Problematisch ist hierbei die Assoziation der ansteigenden Inzidenz und Prävalenz des Diabetes mellitus einschließlich der damit verbundenen Komplikationen mit einem beträchtlichen Anstieg der diabetesverursachten Kosten.

1.3 Ökonomische Aspekte und durch Diabetes verursachte Kosten

Da sowohl die Prävalenz des Typ 2 Diabetes als auch die durchschnittliche Lebenserwartung der Betroffenen steigen, wird ebenfalls eine Zunahme der Prävalenz der diabetesassoziierten kardiovaskulären Komplikationen beobachtet.¹⁰ In der CODE-2 Studie (Costs of Diabetes in Europe Typ 2 study) wurden die Ausgaben, bezogen auf den Diabetes mellitus Typ 2, eruiert.² Nach Informationen dieser Studie betragen in Deutschland die ambulanten Kosten für Patienten mit Diabetes 388 Euro pro Patient, die Ausgaben für Krankenhausaufenthalte 2173 Euro pro Patient und der Anteil an den Gesundheitsausgaben 6,3 %.² Diese hohen Kosten sind größtenteils abhängig vom Vorhandensein oder Nicht-Vorhandensein

diabetesassoziierter Komplikationen und der Anzahl beziehungsweise Dauer der stationären Aufenthalte.²

Bemerkenswert sind die signifikant höheren Ausgaben für den Typ 2 Diabetes im Vergleich zum Typ 1 Diabetes.¹⁴ Eine prospektive Studie untersuchte die Inzidenz und die direkten Kosten einer schweren Hypoglykämie im Rahmen eines Diabetes in einer deutschen Bevölkerungsgruppe von 200 000 Einwohnern in den Jahren 1997-2000.¹⁴ 60 % der Hypoglykämie-Patienten mit Typ 1 Diabetes konnten ausschließlich in der Notfallambulanz behandelt werden, wohingegen eine stationäre Aufnahme der Typ 2 Diabetiker nahezu unvermeidlich war (95 %).¹⁴ Aufgrund des höheren Durchschnittalters und des Vorhandenseins von Komorbiditäten war die Liegedauer bei Typ 2 Diabetikern verglichen mit Typ 1 Diabetikern deutlich erhöht.¹⁴ Letztendlich betrugen die Gesamtausgaben für die Behandlung einer schweren Hypoglykämie bei Typ 2 Diabetikern 44 338 Dollar pro 100 000 Einwohner im Vergleich zu 8 129 Dollar pro 100 000 Einwohner im Rahmen eines Typ 1 Diabetes.¹⁴

Da ein erhöhtes Körpergewicht mit einer erhöhten Inzidenz und Prävalenz einer ganzen Reihe von Erkrankungen assoziiert ist, wie zum Beispiel Hypertonie, Diabetes mellitus, Dyslipidämie, bestimmte Karzinome, CVD (coronary vascular disease) und andere, sind die Ausgaben im Rahmen einer Adipositas ebenfalls beträchtlich.⁶ Die direkten medizinischen Kosten der Adipositas in den USA belaufen sich schätzungsweise auf mehr als 92 Milliarden Dollar im Jahre 2002.¹⁵ Ebenso sind die Therapiekosten des Übergewichts hoch. Im Jahre 1989 beispielsweise gaben die Amerikaner Schätzungen zufolge mehr als 30 Milliarden Dollar für gewichtsreduzierende Maßnahmen und Produkte aus.⁶

Diabetes ist der viert-häufigste Grund für ambulante Arztbesuche. Daher trägt diese Erkrankung einen großen Teil zu den jährlichen Gesundheitsausgaben bei. Die Kosten belaufen sich in den USA auf über 100 Milliarden Dollar pro Jahr.⁵

Vor allem die Komplikationen, die im Rahmen eines Diabetes mellitus auftreten, sind sehr kostenintensiv.¹⁶ Diese Komplikationen machen 60 % der diabetes-assoziierten direkten Kosten (Arztkonsultationen, Untersuchungen, Behandlung, Medikamente, Visiten) und 80-90 % der indirekten Kosten (Arbeitsunfähigkeit, Steuervergünstigungen und andere) aus.¹⁶

Die Verteilung der durch die Diabeteserkrankung verursachten direkten Kosten ist in Abbildung 3 dargestellt.

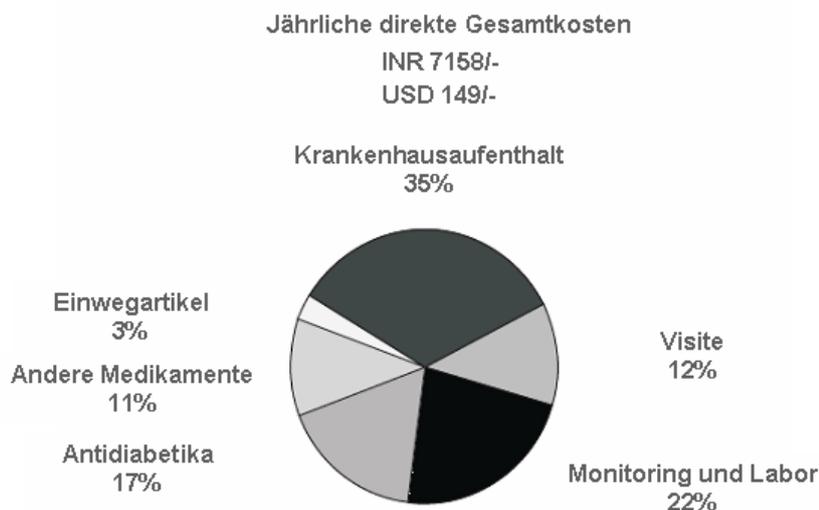


Abb. 3: Verteilung der direkten Kosten in der Versorgung diabetischer Patienten (nach Kapur, A.¹⁶)

1986 betragen die Gesamtausgaben des Diabetes mellitus Typ 2 in den USA Schätzungen zufolge 20 Milliarden Dollar.¹⁶ Innerhalb eines Jahrzehnts verfünffachten sich diese Ausgaben auf mehr als 100 Milliarden Dollar Mitte der 90er Jahre.¹⁶ Die direkten Kosten des Typ 2 Diabetes betragen pro Person und pro Jahr in Argentinien 330 US-Dollar, in Frankreich 675 US-Dollar und in Dänemark 3535 US-Dollar.¹⁶

Diese hohen direkten Kosten sind das Resultat der Krankenhausaufenthalte im Rahmen des Diabetes.¹⁶ Zudem beobachtete die CODE-2 Studie einen 1,7-fachen Kostenanstieg bei Vorliegen einer Mikroangiopathie und einen 3,5-fachen Kostenanstieg im Falle einer Mikro- und Makroangiopathie im Vergleich zu Patienten ohne Komplikationen.¹⁷

Einige Studien zeigen deutliche Auswirkungen des Bildungsgrades auf die Prognose und die Kosten des Diabetes mellitus. Mit hohem Bildungsgrad sinken die Ausgaben, möglicherweise aufgrund des besseren Krankheitsverständnisses oder der Zugehörigkeit zu einem höheren sozioökonomischen Status und ein daraus resultierender besserer Zugang zu

medizinischer Versorgung.¹⁶ Die in diesem Zusammenhang veröffentlichte CODI (The Costs of Diabetes in India)-Studie¹⁷ und die BUD (Bangalore Urban District Diabetes)-Studie beobachteten, dass neben dem Bildungsgrad auch der Wohnort ausschlaggebend für den Zeitpunkt der Diagnosestellung des Diabetes ist.^{16;17} Die Studien zeigten, dass die Diagnose des Diabetes bei Personen mit hohem Bildungsgrad in jüngeren Jahren gestellt wird.¹⁶ So wird zum Beispiel die Diagnose bei Personen mit niedrigem Bildungsgrad nahezu sieben Jahre später gestellt als bei Personen mit Kollegeabschluss, bei Städtern beinahe drei Jahre früher verglichen mit der ländlichen Bevölkerung.¹⁶ Außerdem ist die Komplikationsrate bei Personen mit hohem Bildungsgrad, möglicherweise wegen der früheren Diagnosestellung und der besseren medizinischen Versorgung, deutlich geringer sowohl im Vergleich zu Personen mit niedrigem Bildungsgrad (19,8 % versus 44,6 %) als auch im Vergleich zu der Bevölkerung der ländlichen Gebiete.¹⁶ Diese Beobachtungen sind durchaus auf andere (europäische) Länder übertragbar (siehe auch CODE-2 Studie).

1.4 Formen und Ätiologie des Diabetes mellitus

Für die Hyperglykämie im Rahmen eines Diabetes mellitus wurden abhängig von der Ab beziehungsweise Anwesenheit von zirkulierendem Insulin im Sinne eines absoluten beziehungsweise relativen Insulinmangels zwei verschiedene Ausgangspunkte beschrieben. Aufgrund dessen unterschied Himsworth¹⁸ zwei Diabetesformen, welche später von Bornstein und Lawrence bekräftigt wurden.¹⁹ Diese zwei Diabetesformen wurden früher als „juvenile-onset diabetes“ und „maturity-onset diabetes“ bezeichnet.²⁰ In der heutigen Zeit sind die Bezeichnungen Typ 1 und Typ 2 Diabetes geläufig.²¹

Sowohl im Hinblick auf den Typ 1 als auch auf den Typ 2 Diabetes ist die Zahl der neu aufgetretenen Erkrankungsfälle deutlich gestiegen. Genetische Faktoren bedingen weniger als die Hälfte aller neuen Fälle, weshalb angenommen wird, dass Umweltfaktoren eine bedeutende Rolle in der Entstehung des Typ 1 und des Typ 2 Diabetes spielen.³

Der Typ 1 Diabetes resultiert aus einer verminderten Insulinproduktion der β -Zellen der Langerhansschen Inseln.³ Die Zerstörung der pankreatischen β -Zellen wird durch einen autoimmunologischen Prozess oder, in einigen Fällen, idiopathisch verursacht.²² Diese β -Zell-Destruktion führt letztendlich zu einem absoluten Insulinmangel, wobei genetische

Faktoren eine prädisponierende Rolle spielen.³ Mehr als 90 % der Patienten weisen die HLA-Merkmale DR3 und/oder DR4 auf.¹ Die Konkordanz des Typ 1 Diabetes monozygoter Zwillinge beträgt 20-35 %^{23;24}, was darauf hinweist, dass Umweltfaktoren eine große Rolle in der Ätiologie des Typ 1 Diabetes spielen. Von ätiologischer Relevanz sind beispielsweise Infektionen wie eine kongenitale Rötelninfektion oder eine CMV (Zytomegalievirus)-Infektion sowie Ernährungsfaktoren, die eine Immunantwort auslösen.^{1;3} Auch Medikamente wie Pentamidin können die pankreatischen β -Zellen zerstören.³ In Tiermodellen kann ein Typ 1 Diabetes durch Gabe von Alloxan oder Streptozotocin (STZ) induziert werden.³ Zudem wurden Nitrate, Nitrite, N-Nitroso-Verbindungen und polychlorierte Biphenyle als potentielle Risikofaktoren des Typ 1 Diabetes beschrieben.³ Es wurde über eine 30-50 % höhere Diabetes-Rate in Gebieten mit erhöhtem Nitratgehalt des Trinkwassers berichtet.³

Der Typ 2 Diabetes entsteht aufgrund einer peripheren Insulinresistenz und eines daraus resultierenden relativen Insulinmangels.^{1;3} Hierbei entsteht die Mehrzahl der Erkrankungen auf dem Boden eines metabolischen Syndroms.¹ Die „International Diabetes Federation“ (IDF) definierte das metabolische Syndrom folgendermaßen²⁵:

- Stammbetonte Adipositas (Taillenumfang bei Männern ≥ 94 cm, bei Frauen ≥ 80 cm)

Plus zwei der folgenden vier Faktoren:

- Erhöhte Triglyzerid-Spiegel: ≥ 150 mg/dl (1.7 mmol/l) oder spezifische Therapie dieser Fettstoffwechselstörung
- Reduziertes HDL-Cholesterin: < 40 mg/dl (1.03 mmol/l) bei Männern und < 50 mg/dl (1.29 mmol/l) bei Frauen oder spezifische Behandlung dieser Fettstoffwechselstörung
- Erhöhter Blutdruck: RR systolisch ≥ 130 mmHg oder diastolisch ≥ 85 mmHg oder Therapie einer bereits diagnostizierten Hypertonie
- Erhöhte Nüchternblutzuckerwerte ≥ 100 mg/dl (5.6 mmol/l) oder ein bereits diagnostizierter Diabetes mellitus Typ 2

Daten aus Finnland zeigten, dass eine Hyperinsulinämie der Entwicklung einer Hypertonie und einer Dyslipidämie vorangeht.²⁶ Mehrere Studien aus Skandinavien berichteten, dass eine Insulinresistenz bei Personen, die anfangs nicht an Diabetes erkrankt waren, mit einem

über 4-fach höheren relativen Risiko für Diabetes mellitus Typ 2 und mit einem über 30 %igen Risiko für eine atherosklerotische kardiovaskuläre Erkrankung einhergeht.⁵ Bei Typ 2 Diabetikern zeigte sich ein erhöhtes Risiko von 40-70 % für eine CVD.⁵

Die Konkordanzrate monozygoter Zwillinge beträgt bei Typ 2 Diabetes 30 %²⁴, jedoch ist die ätiologische Beteiligung bestimmter chemischer Faktoren weniger eindeutig als beim Typ 1 Diabetes. Diskutiert werden als potentielle Risikofaktoren Arsen (Wasserkonzentration > 0,1 mg/l), TCDD (2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin) und bestimmte Berufsexpositionen wie zum Beispiel in der chemischen Industrie oder der Gummi- und Kautschukindustrie.³

Der Diabetes mellitus wird jedoch nicht nur durch genetische Faktoren und Umweltfaktoren verursacht, sondern steht auch mit einer Reihe von Risikofaktoren im Zusammenhang.

1.5 Risikofaktoren des Diabetes mellitus, des metabolischen Syndroms und der Koronaren Herzkrankheit

Schon vor langer Zeit wurden Hypertonie, Nikotinabusus, Hyperlipidämie und das Vorhandensein oder Nicht-Vorhandensein eines Diabetes mellitus als kardiovaskuläre Risikofaktoren definiert.²⁷ Diese sind traditionelle Risikofaktoren für Erkrankungen des Herzens und des Gehirns (Insult) und stammen größtenteils aus den Grundzügen der Framingham Heart Study der frühen 60er Jahre.²⁸ Es wurde gezeigt, dass sowohl der Typ 2 Diabetes als auch ein Myokardinfarkt mit ähnlichen Risikofaktoren wie Alter, Hypertonie, Adipositas und Hyperlipidämie (erhöhte Triglyceride und erhöhtes LDL, aber vermindertes HDL) assoziiert sind.²⁹ In mehreren Studien wurde bestätigt, dass sowohl Diabetiker als auch Nicht-Diabetiker, die bereits einen Herzinfarkt erlitten haben, ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse aufweisen.²⁹⁻³¹ Zudem wurde bei Diabetikern, verglichen mit Personen ohne Diabetes, eine sehr viel höhere Mortalität bezüglich der Koronaren Herzkrankheit beobachtet.²⁹ Die Inzidenz eines Myokardinfarktes beträgt bei Nicht-Diabetikern 18,8 %, wenn sie bereits einen Herzinfarkt erlitten haben, und 3,5 %, wenn noch kein Myokardinfarkt aufgetreten ist.²⁹ Dagegen ist die Inzidenz eines Herzinfarktes bei Personen mit Diabetes 45 % im Falle eines bereits erlittenen Herzinfarktes und 20,2 % bei denen, die noch keinen Myokardinfarkt hatten.²⁹ Im Hinblick auf die Prognose wurde beobachtet, dass Diabetiker mit Myokardinfarkt die schlechteste und Nicht-Diabetiker ohne

Myokardinfarkt die beste Prognose haben.²⁹ Zudem zeigten Diabetiker ohne Herzinfarkt und Nicht-Diabetiker mit Herzinfarkt ein gleich hohes Infarktisiko, eine ähnliche Prognose, eine ungefähr gleiche Überlebensrate sowie ein ähnliches Mortalitätsrisiko.²⁹

In den 80er Jahren wurden die oben genannten kardiovaskulären Risikofaktoren unter Einbeziehung von Alter und Geschlecht im Framingham Risk Score zusammengefasst.^{32;33}

Im Laufe der Zeit zeigten sich jedoch einige Einschränkungen in der Anwendung dieses Framingham Risk Scores. Ein Fünftel aller vaskulären Ereignisse traten bei Personen auf, die keinerlei traditionelle Risikofaktoren aufwiesen.²⁷ Zudem ist die Spezifität der oben genannten Risikofaktoren limitiert.²⁷ In mehreren Studien wurde beobachtet, dass die meisten vaskulären Ereignisse bei Patienten auftreten, bei denen keine sehr hohen Cholesterinwerte festgestellt wurden.³⁴ Außerdem variiert die Assoziation zwischen Framingham Risk Score und absolutem Risiko für die Koronare Herzkrankheit in verschiedenen Bevölkerungsgruppen.²⁷ Daher wurden neue Risikofaktoren definiert, die eine Risikovorhersage verbessern. Als viel versprechend hat sich dabei das hsCRP (high-sensitivity C-reactive Protein) erwiesen.²⁷ Verschiedene Studien bestätigten, dass mit dem hsCRP unabhängig Vorhersagen über das vaskuläre Risiko getroffen werden können, und dass das hsCRP Informationen hinsichtlich der Prognose liefert, die über den Framingham Risk Score hinausgehen, und die prognostischen Wert für alle Stadien des metabolischen Syndroms beziehungsweise des Typ 2 Diabetes haben.³⁵ Das hsCRP lässt Rückschlüsse auf Inflammation, Hypofibrinolyse und Insulinresistenz zu und es ist ein Marker für eine niedriggradige vaskuläre Entzündung.²⁷ Auf der Basis von Daten aus verschiedenen Untersuchungen wurden hsCRP-Konzentrationen von < 1, 1-3 und > 3 mg/l als niedriges, mittleres und hohes kardiovaskuläres Risiko definiert.²⁷

Die Physicians' Health Study (PHS) ergab unter anderem, dass hsCRP ein unabhängiger Prädiktor zukünftiger Myokardinfarkte und thrombembolischer Insulte ist.³⁵ Interessanterweise wirkte Aspirin in dieser Studie bei Patienten mit den höchsten hsCRP-Werten kardiovaskulären Ereignissen am stärksten entgegen, was die antiinflammatorischen Eigenschaften von Aspirin unterstreicht.³⁵ Außerdem wurden Zusammenhänge zwischen hsCRP-Konzentrationen, Insulinresistenz und endothelialer Dysfunktion gefunden sowie zwischen hsCRP und Plasminogen Activator Inhibitor (PAI), was auf eine Beziehung zwischen Inflammation und Hypofibrinolyse hinweist.²⁷

Besonders wichtig sind die Assoziation des Diabetes mellitus mit endothelialer Dysfunktion und Atherosklerose sowie die damit verbundenen Auswirkungen.

1.6 Endotheliale Dysfunktion und Atherosklerose bei Diabetes mellitus

Das Gefäßendothel besitzt eine Schlüsselfunktion bei der Kontrolle des Gefäßtonus und der Proliferation der Gefäßwand sowie der lokalen Hämostase.^{16;36} Diese Effekte werden durch eine Vielzahl von Substanzen vermittelt, die abhängig von physiologischen Stimuli vom Endothel sezerniert werden.³⁶ Als Stimuli von Bedeutung sind Prostazyklin (PGI_2), Endothelin und besonders Stickstoffmonoxid (NO).^{36;37} Die NO - und PGI_2 -vermittelten Reaktionen sind in Abbildung 4 schematisch dargestellt.

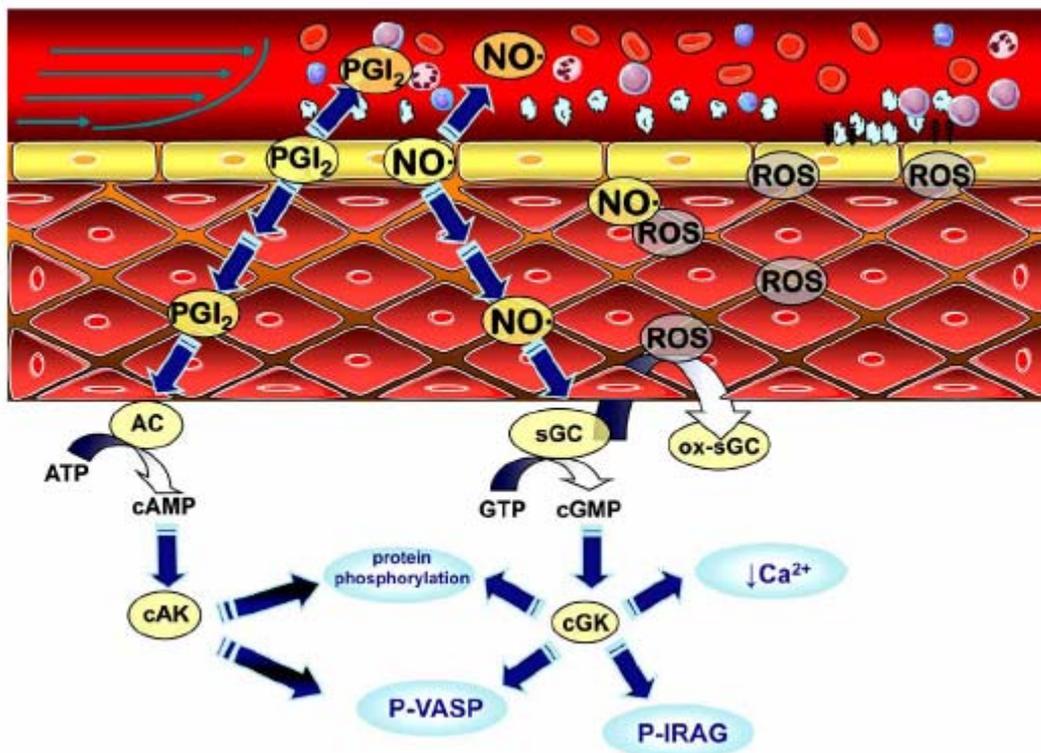


Abb. 4: Schematische Darstellung der NO - und PGI_2 -vermittelten Reaktionen

Der Blutfluss (grüne Pfeile) induziert die Bildung von Stickoxid (NO) und Prostazyklin (PGI_2) in funktionsfähigen Endothelzellen. Das vom Endothel freigesetzte NO übt Effekte auf die glatten Muskelzellen der Gefäßwand aus und interagiert auf der luminalen Seite mit Blutzellen, indem es z. B. die Plättchen hemmt und ihre Adhäsion an das Endothel verhindert. In der Zielzelle aktiviert NO die NO -sensitive lösliche Guanylylcyclase (sGC). Diese sGC katalysiert die Reaktion von Guanosintriphosphat (GTP) zu zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP), welches wiederum die cGMP-abhängige Kinase (cGK) aktiviert. Die cGK reduziert letztendlich den Kalziumeinstrom (Ca^{2+}) und phosphoryliert verschiedene Proteine, wie z. B. VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein) und IRAG (inositol-1,4,5-triphosphate receptor I-associated protein). PGI_2 bewirkt die Aktivierung der Adenylylcyclase (AC), welche die Reaktion von Adenosintriphosphat (ATP) zu zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) katalysiert. cAMP aktiviert wiederum die cAMP-abhängige Kinase (cAK). Ähnlich wie bei der cGK wird dadurch die Phosphorylierung verschiedener Zielproteine induziert, von denen einige ähnlich oder identisch zu den Zielproteinen der cGK sind, wie z. B. VASP. Einige kardiovaskuläre Erkrankungen sind mit einer vermehrten Bildung von vaskulären reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) in der Gefäßwand assoziiert. Dies reduziert die Bildung von NO und oxidiert sGC (ox-sGC), sodass das abgeschwächte verbleibende NO -Signal nicht mehr in der Lage ist die sGC zu aktivieren, da ox-sGC nicht NO -sensitiv ist. (nach Schäfer, A., Bauersachs, J.³⁸)

Durch die PGI₂-vermittelten Reaktionen werden schließlich die Plättchenaggregation gehemmt, die Vasodilatation vermittelt und die Proliferation glatter Muskelzellen (SMC, smooth muscle cells) verhindert.^{38;39} Die PGI₂-Synthese ist überwiegend COX-2-abhängig (Cyclooxygenase-2).³⁸ Der Gegenspieler des Prostazyklins ist Thromboxan A₂, welches von der COX-1 produziert wird und eine Plättchenaggregation, Vasokonstriktion und Gefäßproliferation bewirkt.^{38;40;41} Unter physiologischen Bedingungen befinden sich Prostazyklin und Thromboxan A₂ im Gleichgewicht.

Ähnliche Effekte werden von NO vermittelt. NO bewirkt eine Vasodilatation durch cGMP-vermittelte Kalziumverminderung, hemmt ebenfalls die Plättchenaggregation, reduziert die Expression von Adhäsionsmolekülen für Monozyten und Neutrophile und schränkt das Wachstum glatter Muskelzellen der Gefäßwände ein.^{20;36} Durch PGI₂ und NO wird die Bildung von cAMP und cGMP angeregt.^{20;38;42} Dies führt in glatten Muskelzellen zu einer Suppression der Mitogenese, der Proliferation und der Migration.^{38;43} Die NO-induzierte Bildung von cGMP bewirkt die Aktivierung der cGMP-abhängigen Proteinkinase (cGK).⁴³ Diese Aktivierung führt zur Proteinphosphorylierung, verminderter Kalzium-Konzentration im Zytosol, Dephosphorylierung der leichten Myosin-Ketten sowie zu einer Relaxation.⁴³ Die cGK phosphoryliert z. B. IRAG (inositol 1,4,5-triphosphate receptor I-associated protein), was eine Relaxation der glatten Muskelzellen bewirkt und Einfluss auf den Gefäßtonus nimmt.³⁸ Wird die IRAG-Aktivität beispielsweise in mutierten Mäusen unterbunden, entfällt auch die NO/ cGMP-abhängige Hemmung der Aktivierung des Fibrinogenrezeptors und die Inhibition der Plättchenaggregation.⁴² Die cGK-abhängige Plättchenhemmung wird sowohl von IRAG als auch von VASP (vasodilator-stimulated phosphoprotein), welches eine zentrale inhibitorische Rolle bei der Plättchenadhäsion und -aktivierung spielt, vermittelt.⁴⁴⁻⁴⁶

Demzufolge fungiert das Gefäßendothel nicht nur als Barriere zwischen Gefäßlumen und Gefäßwand, sondern ist zugleich ein metabolisch aktives endo-, para- und autokrines Organ.³⁶ Mit Hilfe der freigesetzten Substanzen kann es daher auf die Inflammation und die Koagulation Einfluss nehmen.³⁶

Die NO-Freisetzung wird zum einen durch Abscher-Kräfte, die auf die Gefäßwand wirken^{36;47} und zum anderen durch eine rezeptorabhängige Aktivierung der NO-Synthase (eNOS) verursacht.^{36;38} Dies geschieht durch bestimmte Substanzen wie Azetylcholin, Histamin, Serotonin, Thrombin, Bradykinin sowie die Katecholamine.³⁶

Bei einer Dysfunktion des Endothels kommt es zu einem Rückgang der Endothelvermittelten Gefäßrelaxation aufgrund einer reduzierten NO-Bioverfügbarkeit in der Gefäßwand^{48;49} und somit zu einer Plättchenaktivierung mit Freisetzung verschiedener Substanzen sowie der Oberflächenexpression von P-Selektin, einem CD40-Liganden.^{49;50} Dies kann besonders bei Diabetikern beobachtet werden.⁴⁹ Auch das Akute Koronarsyndrom, die Insulinresistenz und die Hypercholesterinämie sind mit einer verminderten NO-Bioverfügbarkeit und einer erhöhten Plättchenaktivität assoziiert.^{49;50} Zudem treten eine verminderte Expression der eNOS (endotheliale NO-Synthase), ein Mangel an Substraten beziehungsweise Kofaktoren der eNOS, eine Veränderung der zellulären Signale, woraufhin die eNOS nicht regelrecht aktiviert werden kann, und ein verstärkter NO-Abbau auf.³⁸ Eine endotheliale Dysfunktion ist schon in prädiabetischen Stadien der Insulinresistenz zu beobachten.⁵¹ Dies führt zur Proliferation glatter Muskelzellen sowie zur Plättchen- und Leukozytenadhäsion.⁵¹

Risikofaktoren der Atherosklerose sowie die Atherosklerose selbst sind mit erhöhtem oxidativem Stress in der Gefäßwand assoziiert, insbesondere einer erhöhten Produktion von Superoxidanionen.³⁶ NO ist selbst ein Radikal und es kann durch Superoxidanionen rasch inaktiviert werden.³⁶ Das Gleichgewicht zwischen NO und Superoxidanionen beeinflusst sowohl die Vasoreaktivität als auch die Plaqueprogression und –stabilität.³⁶ Frühe Stadien der Atherosklerose werden als ein unabhängiger Risikofaktor für eine endotheliale Dysfunktion angesehen.³⁶ Es wurde gezeigt, dass eine Dysfunktion des Endothels der Entwicklung einer manifesten atherosklerotischen Läsion vorausgeht.³⁶ Verschiedene Studien belegten, dass Diabetes mellitus mit einem früheren Auftreten einer Atherosklerose assoziiert ist verglichen mit Personen ohne Diabetes.⁵² Die exakten Mechanismen der erhöhten Atheroskleroseeigung und der Neigung zu einer beschleunigten atherosklerotischen Progression bei Diabetikern sind jedoch noch weitgehend unbekannt.^{20;52} Makroskopisch zeigen sich aufgrund einer Lipidakkumulation in Makrophagen und zu einem kleineren Teil aufgrund der Proliferation glatter Muskelzellen eine verdickte Gefäßwand, eine reduzierte Elastizität und ein verengtes Gefäßlumen.²⁰ Die Lipidablagerung in der Intima der Gefäßwand nimmt ihren Ausgang bereits in der Kindheit beziehungsweise der Adoleszenz.^{20;53}

Drei Hypothesen der Atherogenese wurden aufgestellt: die „response-to-injury“ Hypothese, die „response-to-retention“ Hypothese und die „oxidation“ Hypothese.^{20;53}

Russell Ross beschrieb in der „response-to-injury“ Hypothese^{20;54;55}, dass eine endotheliale Läsion der Migration und Proliferation glatter Muskelzellen der Gefäßwand, der intra- und extrazellulären Ablagerung von Lipiden und der Akkumulation extrazellulärer Matrix vorausgeht. Die resultierende endotheliale Dysfunktion initiiert inflammatorische Mechanismen, die mit der Atherosklerose assoziiert sind.^{38;56} Da durch das Endothel Vasodilatoren wie NO und Vasokonstriktoren wie Endothelin-1 produziert werden, ist das Verhältnis dieser Substanzen bei einer Dysfunktion des Endothels gestört.^{54;55} Zudem resultiert eine gestörte Sekretion des von Willebrand Faktors, des Plasminogeninhibitors und von Prostazyklin, welche Substanzen, die die Plättchenaggregation hemmen, darstellen^{20;54;55}

Ende der 90er Jahre veröffentlichten Williams und Tabas die „response-to-retention“ Hypothese.^{57;58} Demnach sind die Retention und Akkumulation von Lipoproteinen durch Proteoglykane, welche Moleküle der extrazellulären Matrix sind, für die Atherogenese entscheidend.^{57;58}

Witztum beschrieb 1994 hingegen in der „oxidation“ Hypothese⁵⁹, dass die oxidative Veränderung des LDL (low-density lipoprotein) das zentrale Element in der Entstehung der Atherosklerose darstellt. LDL ist ein immunogener Stimulus, der die Rekrutierung und die Bindung von Monozyten an der Gefäßwand und die Aufnahme von oxidiertem LDL (oxLDL) durch Makrophagen per Phagozytose fördert.⁵⁹ Es wird angenommen, dass die Oxidation von Lipoproteinen die Atherosklerose weiter vorantreibt.⁵⁹ Zudem fungiert oxidiertes LDL als ein starker inflammatorischer Stimulus in der Gefäßwand.²⁰

Insulinresistenz, Inflammation und Arteriosklerose stehen über das metabolische Syndrom miteinander in Verbindung.²⁰ Im Rahmen der Insulinresistenz werden weniger freie Fettsäuren aufgenommen und/ oder es finden sich erhöhte Konzentrationen freier Fettsäuren in den Adipozyten und in der Zirkulation.²⁰ Insulinresistenz ist häufig assoziiert mit abdomineller Adipositas und erhöhten Konzentrationen des PAI-1 (Plasminogen Activator Inhibitor 1), welcher atherogene Eigenschaften besitzt.^{20;60} Klinische Studien haben eine Assoziation zwischen hohen PAI-1-Plasmaspiegeln und Myokardinfarkt oder Koronarer Herzkrankheit gezeigt.⁶⁰ Ein Anstieg der freien Fettsäuren begünstigt die Sekretion von VLDL (very low-density lipoprotein) aus der Leber.²⁰ Ein erhöhtes VLDL trägt wiederum zu einer Akkumulation des VLDL in der Gefäßwand im Rahmen einer Atherosklerose bei.²⁰ Aufgrund der erhöhten VLDL-Plasmakonzentration steigt auch das LDL, weshalb sich eine größere Cholesterolemie mit den Proteoglykanen der extrazellulären Matrix verbinden kann, was die Entstehung arteriosklerotischer Plaques fördert.^{20;61}

Einen der ersten Hinweise auf eine Insulinresistenz stellt eine endotheliale Dysfunktion dar, welche in der Regel vor der Manifestation klinischer Zeichen auftritt.²⁰ Insulin führt normalerweise zu einem Anstieg der NO-Produktion. In einer Studie mit eNOS-Knockout-Mäusen wurde gezeigt, dass eine verminderte NO-Bildung zu einer Insulinresistenz führt.⁶² Es besteht jedoch keine Evidenz dafür, dass eine NO-Reduktion zwingend mit einer Insulinresistenz assoziiert ist, da nicht alle Stadien der Erkrankung, in denen die NO-Produktion reduziert ist, mit einer Insulinresistenz einhergehen.²⁰

Der genaue molekulare Mechanismus, der zu einer Insulinresistenz führt, ist jedoch bis zum jetzigen Zeitpunkt noch weitgehend unbekannt. Zu den ausschlaggebenden Faktoren der Insulinresistenz gehören aber mit großer Wahrscheinlichkeit Adipositas und eine genetische Disposition.^{20;48} Je höher das Übergewicht, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit eine Insulinresistenz zu entwickeln, wobei die genetische Komponente eine übergeordnete Rolle spielt.²⁰ Genetisch handelt es sich wahrscheinlich um eine Störung auf molekularer Ebene und nicht um eine Veränderung der Rezeptorstruktur oder Rezeptorfunktion.²⁰ Es wurde beobachtet, dass metabolische Faktoren, die mit einer Adipositas assoziiert sind, wie zum Beispiel freie Fettsäuren, die Insulinsignalwege verändern können.²⁰ Dies führte zu Spekulationen über molekulare Prozesse in der Insulinsignalkaskade, welche durch metabolische, mit Adipositas assoziierte Faktoren inhibiert oder aktiviert werden können.²⁰ Die verschiedenen Stadien der Insulinresistenz könnten somit mit dem breiten Antwortspektrum auf die Interaktionen zwischen diesen metabolischen Faktoren erklärt werden.²⁰

Weiterhin belegten verschiedene Studien, dass eine verstärkte Plättchenaggregation eine Rolle bei der verfrühten Entstehung der Arteriosklerose bei Diabetikern spielt.^{56;63-66} Diabetiker zeigen eine signifikant höhere Plättchenaktivierung als Personen ohne Diabetes^{64;66} und durchschnittlich größere Durchmesser der Plättchenaggregate an der extrazellulären Matrix (54 μm^2 versus 47 μm^2).⁶⁴ Zudem ist in der Gruppe der Diabetiker die Plättchenadhäsion sowohl mit der Triglyceridkonzentration als auch mit dem Hämatokrit korreliert sowie mit der HDL-Konzentration umgekehrt assoziiert.⁶⁴

Gleichzeitig steht die Plättchenhyperaktivität mit dem Auftreten frühzeitiger kardialer Ereignisse und mit der Mortalität von Myokardinfarktpatienten im Zusammenhang.^{64;66-68} Besonders Diabetiker haben im Vergleich zu Nicht-Diabetikern sowohl eine höhere Restenose-Rate als auch eine erhöhte Plättchenaktivierung, welche bei Diabetespatienten

eine häufigere Revaskularisation notwendig machen.^{64;69;70} In diesem Zusammenhang von Bedeutung sind die Auswirkungen des Diabetes mellitus auf angiographische und klinische Ergebnisse in der Stentbehandlung.

1.7 Auswirkungen des Diabetes mellitus auf angiographische und klinische Ergebnisse in der Stentbehandlung sowie auf die Restenose- und Revaskularisationsrate

Wie bereits erwähnt, geht die Diabeteserkrankung mit erhöhten Restenoseraten einher. Einige Studien zeigten ein 1,6-2,2-fach erhöhtes Restenoserisiko bei Vorliegen eines Diabetes mellitus verglichen mit dem Risiko von Nicht-Diabetikern.⁷¹ Die Inzidenz einer Restenose ist bei Diabetikern mit 32 % doppelt so hoch wie bei Personen ohne Diabetes mellitus (16 %).⁷¹ Klinische Untersuchungen haben ergeben, dass Sirolimus-Eluting-Stents (SESs) die Restenoseraten im Vergleich zu Bare-Metal-Stents (BMSs) verringern.^{72;73} In einer Studie mit diabetischen Patienten zeigte sich bei der Verwendung von SESs ein Abfall der relativen Inzidenz einer Restenose in dem betroffenen Abschnitt von etwa 60 % (63 % bei SESs versus 25 % bei BMSs).⁷⁴ Außerdem wurde ein 15 %iger absoluter Rückgang von kardialen Ereignissen („major adverse cardiac events“) wie Tod, Myokardinfarkt oder eine erneute Revaskularisation im Sinne eines Bypass oder einer wiederholten PCI innerhalb der ersten 8 Monate nach Stentimplantation bei der Verwendung von Sirolimus-Eluting-Stents im Vergleich zu Bare-Metal-Stents beobachtet.⁷⁴

In weiteren Studien wurde gezeigt, dass bei Implantation von Drug-Eluting-Stents die Restenoserate bei Diabetikern mit durchschnittlich 32 % zwar höher ist als bei Nicht-Diabetikern, aber dass auch bei Patienten ohne Diabetes trotz antithrombozytärer Therapie in 16 % der Fälle Stentthrombosen auftreten.⁷¹

Einer der Hauptgründe für das erhöhte Risiko einer Restenose bei Diabetikern ist die Intimahyperplasie.⁷⁵ Hierzu tragen die Insulinwirkungen bei. Insulin induziert sowohl die Migration und die Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen als auch die Produktion extrazellulärer Matrix.⁷⁵ Zudem treten bei Stentimplantation Verletzungen der koronaren Gefäßwände auf, die zu einer lokalen Entzündungsreaktion und einer Stressreaktion führen.⁷⁵ Diese Mechanismen und die vermehrte Plättchenaktivierung bei Diabetikern machen den Einsatz thrombozytärer Medikamente zwingend notwendig.

1.8 Irreversible und reversible P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten– Inhibitoren der Plättchenaggregation

Aufgrund der Zunahme arterioskleroseassoziiierter vaskulärer Ereignisse, des expansiven Wachstums der Diabetesfälle, Einschränkungen in der klinischen Anwendung der altbewährten Plättchenaggregationshemmer wie zum Beispiel Clopidogrel oder Aspirin sowie des Phänomens des verminderten Ansprechens auf Clopidogrel wurden neuere, reversible P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten wie AZD6140 (Ticagrelor) und andere entwickelt. ADP besitzt eine Schlüsselrolle für die Plättchenfunktionen.⁷⁶⁻⁷⁸ Es ist zwar selbst ein schwacher Plättchenagonist, es amplifiziert jedoch die durch andere Plättchenagonisten induzierte Plättchenaktivierung.^{77;79;80} An der Übertragung der ADP-Signale sind zwei spezielle Rezeptoren beteiligt.⁷⁶⁻⁸³ Der G_q-gekoppelte P2Y₁-Rezeptor vermittelt einen kurzen Anstieg des freien zyttoplasmatischen Kalziums, der G_{ai}-gekoppelte P2Y₁₂-Rezeptor inhibiert die Adenylylcyclase.⁷⁶⁻⁸² Die Aktivierung beider Signalwege durch ADP bewirkt eine „normale“ Plättchenaggregation.^{77;84} Über den P2Y₁-Rezeptor erfolgt eine Änderung der Plättchenkonfiguration sowie eine rasch reversible Plättchenaggregation.^{77;81;84} Über den P2Y₁₂-Rezeptor hingegen eine langsam zunehmende und lang anhaltende Plättchenaggregation.^{77;81;84} Zudem trägt dieser P2Y₁₂-Rezeptor zur Stabilisierung der thrombininduzierten Plättchenaggregate bei.^{77;78;80;81;83;84}

P2Y₁₂ besitzt eine selektivere Verteilung im Gewebe als P2Y₁, weshalb P2Y₁₂ den Zielrezeptor für antithrombotisch wirkende Substanzen, wie Clopidogrel und Ticlopidin, darstellt.^{77-80;83} Diese beiden ADP-Rezeptorantagonisten gehören zu der Gruppe der Thienopyridine und hemmen irreversibel den P2Y₁₂-Rezeptor.^{40;41;76-78;85;86} Sie sind Pro-Drugs, die erst über das Cytochrom P 450-System der Leber aktiviert werden müssen, was ihre verzögerte antithrombotische Wirkung erklärt.^{77;80;84} Erst 4-5 Tage nach oraler Einnahme von 500 mg Ticlopidin beziehungsweise 75 mg Clopidogrel haben die Substanzen ihre maximale Wirksamkeit erreicht.^{77;80;84} Aufgrund der irreversiblen P2Y₁₂-Hemmung hält die inhibitorische Wirkung der Thienopyridine auf zirkulierende Plättchen in etwa 10 Tage an, was dem Lebenszyklus der Thrombozyten entspricht.⁷⁷ Deshalb ist in Akutsituationen wie bei einer Notfall-Bypass-Operation bei akutem Myokardinfarkt unter Umständen mit höherem Blutverlust, einer Nachoperation wegen Blutung, erhöhtem Transfusionsbedarf oder längerem Aufenthalt auf der Intensivstation zu rechnen.^{84;87-89}

Limitierend sind zusätzlich die interindividuelle Variabilität in der Umwandlung der Pro-Drug in die aktiven Metaboliten mit resultierenden Unterschieden im Ausmaß der Plättcheninhibition sowie „Low- und Nonresponder“ auf die Clopidogrelwirkung.^{40;85;86;90;91}

Eine neuere Thienopyridinverbindung ist Prasugrel. Prasugrel weist möglicherweise wegen einer effizienteren Umwandlung der Pro-Drug in den aktiven Metaboliten einen schnelleren Wirkbeginn als Clopidogrel auf und hemmt die ADP-induzierte Plättchenaggregation sogar bei solchen, die auf die standardmäßige Loading-dose von Clopidogrel schlecht ansprechen.^{77;92} Die Gefahr von Blutungskomplikationen besteht jedoch weiterhin.^{77;92}

Ein selektiver und reversibler direkter Inhibitor des P2Y₁₂-Rezeptors ist Cangrelor.⁸⁷ In entsprechender Dosis wird bei diesem Medikament 4 Minuten nach Gabe eine nahezu vollständige Hemmung der Plättchenaggregation beobachtet, wohingegen mit Clopidogrel nach 4-7 Tagen nur eine ungefähr 60 %ige Hemmung erreicht wird.⁸⁷ Aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit von 2,6 Minuten sind die inhibitorischen Effekte von Cangrelor rasch reversibel, was im Falle einer Blutung von Vorteil ist.⁸⁷ Ein Nachteil ist, dass Cangrelor ausschließlich intravenös im Sinne eines Notfallmedikaments gegeben werden kann und somit nicht als Langzeitmedikation zur Verfügung steht.⁷⁷

Eine neue Klasse der P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten sind die Cyclopentyltriazolopyrimidine, von denen AZD6140 (Ticagrelor) der erste orale reversible P2Y₁₂-Antagonist ist.^{78;87;89} AZD6140 benötigt keine metabolische Aktivierung, um seine inhibitorische Wirkung entfalten zu können; sein aktiver Metabolit ist AR-C124910XX.^{77;87} Es induziert eine stärkere und raschere Hemmung der Plättchenaggregation als Clopidogrel^{77;87;91}, welche in unserer Studie bereits nach 12 Stunden teilweise reversibel war.

Diese neueren Substanzen stellen interessante Alternativen zu den Thienopyridinen dar, vor allem wenn eine schnelle Hemmung der Plättchenaggregation oder eine rasche Aufhebung der Wirkung erforderlich sind.

2 Methoden

2.1 Die Versuchstiere

Männliche Ratten vom Typ Wistar (250 g bis 300 g, Harlan-Winkelmann, Borcheln, Deutschland) wurden in Käfigen bei Temperaturen von 20 bis 22 Grad Celsius und einem 12stündigen Hell-Dunkel-Zyklus gehalten. Die Tiere hatten freien Zugang zu Wasser und nahmen vorgegebenes Futter zu sich.

2.2 Die Induktion des Diabetes

Mit Hilfe von Streptozotocin (STZ) wurden eine Nekrose der pankreatischen Inselzellen und eine dauerhafte Hyperglykämie induziert. STZ wurde in einer Konzentration von 10 mg/ ml in sterilem Natrium-Zitrat-Puffer aufgelöst (25 mmol/ l, pH 4,5) und den Ratten in Form einer Einzeldosis von 50 mg/ kg innerhalb von 10 Minuten intravenös verabreicht. Der Blutglukosewert wurde mit einem Blutzuckermessgerät bestimmt (Ascensia Elite, Bayer-Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland). Die Hyperglykämie wurde als ein durchschnittlicher Blutglukosewert von 20 mmol/ l 2 und 4 Wochen nach der Injektion definiert.

Um die akuten Effekte beurteilen zu können, wurde den diabetischen Ratten eine Einzeldosis AZD6140 (AstraZeneca, Mölndal, Schweden) in einer Höhe von 5 mg/ kg Körpergewicht zu den Zeitpunkten 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12, oder 24 Stunden vor der Probenentnahme verabreicht. Basierend auf pharmakokinetischen Daten war die Dosis aus pharmakologischen Tierversuchen mit Ratten errechnet worden. Die minimal benötigte Konzentration wurde mit Hilfe von Versuchen über die in vivo Plättchenfunktion, bei denen Rattenblut verwendet und die von AstraZeneca zur Verfügung gestellt wurden, bestimmt.

Um die chronischen Effekte beurteilen zu können, wurde aufgrund der in der Akutphase bestimmten Plasmaspiegel bei diabetischen Tieren die Gabe von 10 mg/ kg AZD6140 zweimal pro Tag an Tag 14 begonnen. 2 Wochen später wurden die Plättchenaktivierung und die Plättchenreaktivität bestimmt und mit den Ergebnissen der diabetischen Ratten verglichen, die mit einem Placebo behandelt wurden. Um akute Effekte auszuschließen, wurde die Behandlung mehr als 12 Stunden vor der Probenentnahme beendet.

Zudem wurde Wistar-Ratten 5 mg/ kg Körpergewicht Clopidogrel zweimal pro Tag über einen Zeitraum von 2 Wochen verabreicht und die Resultate wurden mit denen der Placebo-gefütterten sowie der mit AZD6140-gefütterten Ratten verglichen.

2.3 Die Blutproben

Die Versuchstiere wurden mit Isofluran anästhesiert bis sie nicht mehr auf Schmerzreize reagierten, aber zu jeder Zeit spontan atmeten. Im Folgenden wurde die Abdominalhöhle eröffnet und Blut entnommen, indem die Vena cava inferior direkt punktiert wurde. Unmittelbar im Anschluss wurde eine Vollblut-Messung aus dem EDTA-antikoagulierten Blut auf einem veterinärhämatologischen Analysegerät (Sysmex XT-2000iV, Sysmex, Norderstedt, Deutschland) unter Verwendung des rattenspezifischen Profils durchgeführt. Die Plättchen wurden unter Verwendung des plättchenspezifischen Fluoreszenzsignals im RET-Kanal gezählt. Die RANTES-Werte im Serum wurden mit Hilfe einer enzymgebundenen immunabsorbierenden Probe (ELISA MMR00, Maus RANTES Immunoassay, R&D Systems, Wiesbaden) bestimmt.

2.4 Die Durchflusszytometrie

Um die Modulation der in vivo Plättchenaktivierung zu bestimmen, wurde Vollblut mit PBS (Phosphate Buffered Saline), welches frei von Kalzium und Magnesium sowie angereichert mit D-Glukose (5.5 mmol/l) und 0.5 % BSA (Bovine Serum Albumin) war, verdünnt. Plättchengebundenes Fibrinogen wurde mittels Inkubation mit einem FITC (Fluoresceinisothiocyanat)-gekoppeltem antifibrinogenem Antikörper (WAK-Chemie, Bad Soden, Deutschland) bestimmt. Oberflächenexprimiertes P-Selektin konnte mit einem FITC-gekoppeltem anti-P-Selektin (CD62P) Antikörper (5108-F100T, BioCytex, Marseille, Frankreich) ermittelt werden. Bei der folgenden Inkubation mit den Antikörpern wurden die Plättchen mit methanolfreiem Formaldehyd (1.5 %) für 10 Minuten fixiert und anschließend in einem BD FACSCalibur bei einer geringen Flussrate analysiert.

Die Plättchenpopulation wurde anhand des Vorwärts- und Seitwärtsstreulichtes identifiziert. 20 000 Ereignisse wurden als durchschnittliche Fluoreszenz unter Verwendung der CELLQuest Software Version 3.1f analysiert. Die unspezifische Bindung wurde willkürlich an eine Durchschnittsfluoreszenz von 10 angepasst und visuell in den Graphen abgezogen.

Um die in vitro Plättchenreaktivität zu bestimmen, wurde mit Citrat versetztes Vollblut bei 180 g für 10 Minuten zentrifugiert, um plättchenreiches Plasma (PRP) zu erhalten. Dieses plättchenreiche Plasma wurde mit PBS verdünnt, um eine endgültige Plättchenkonzentration von 250 000/µl zu erhalten. Anschließend wurden die Proben mit ADP in einer Konzentration von 5, 10, 15, und 20 µmol/l für 10 Minuten stimuliert. Die P-Selektin Expression wurde wie oben beschrieben untersucht. In einer gesonderten Analyse wurde der

Anteil der CD62P⁺ Plättchen bestimmt, wobei der CD62P⁺-Anteil der unstimulierten Proben auf 3 % gesetzt wurde.

2.5 Die Plättchenaggregation

Die Aggregation in plättchenreichem Plasma wurde durch ADP in Konzentrationen von 5, 10, 15 und 20 µmol/l induziert, wobei ein kommerziell erhältliches Aggregometer (Platelet aggregation profiler, PAP-8, BioData, Hilden, Deutschland) benutzt wurde. Mit Hilfe der Änderung der Lichtdurchlässigkeit der Proben durch Zugabe von Aggregations-auslösenden Induktoren konnte das Ausmaß der Aggregation auf bestimmte Stimuli gemessen werden. Bei Versuchen mit PRP (platelet rich plasma), welches durch Zentrifugation von Citratblut mit 180 g für 10 Minuten bei Raumtemperatur gewonnen wurde, wurde als Referenzprobe PPP (platelet poor plasma) verwendet und in den Messkanal eingebracht. Durch diese Referenzprobe wurde der optische Wert festgelegt, welcher der maximalen Lichtdurchlässigkeit, die methodisch einer 100 %igen Aggregation gleicht, entspricht. Im Anschluss wurde die Partikelsuspension, die die eigentliche Messprobe darstellte, eingebracht. Dies verkörperte zunächst den Nullwert.

Ein solcher Messkanal besteht aus einer Lichtquelle und einer gegenüberliegenden Photozelle. Dazwischen wird die jeweilige Probe gestellt, welche sich in einer gläsernen Messküvette befindet und von einem kleinen Rührmagneten bei konstanter Umdrehungszahl von 900/min gerührt wird. Werden geeignete Induktoren hinzugefügt, kann es zu einer Aggregatbildung kommen, wobei die Trübung abnimmt. Dies wird von der Messzelle als Zunahme der Lichttransmission registriert. Der Grad der Trübungsänderung der Probe ist das Maß für die Aggregation. Über ein Auswertungsprogramm wurde die Aggregation als Funktion der Zeit in Form einer Aggregationskurve dargestellt.

2.6 Die Plättchenadhäsion in der Flusskammer

Ein Teil des Blutes wurde in Röhrchen mit Citratsäuredextrose wie oben beschrieben abgenommen. Mittels Zentrifugation bei 180 g für 10 Minuten erhielt man plättchenreiches Plasma. Diesem wurde HEPES-modifizierter Thyroidlösungspuffer 1 im Verhältnis 1 ml PRP/ 3.5 ml Puffer 1 zugefügt. Dieser Puffer 1 beinhaltet NaCl (132 mmol/l), KCl (4 mmol/l), NaHCO₃ (11.9 mmol/l), NaH₂PO₄ (0.36 mmol/l) und Glukose (10 mmol/l) bei einem pH von 6.5. Durch Zentrifugation des PRP bei 900 g für 10 Minuten erhielt man eine plättchenfreie Suspension. Das daraus resultierende Pellet wurde in HEPES-modifiziertem

Thyroidlösungspuffer 2, welcher einen pH von 7.4 aufwies und aus dem oben genannten Puffer 1, CaCl_2 (1 mmol/l) und MgCl_2 (1 mmol/l) bestand, resuspendiert, um eine Plättchendichte von 1×10^5 /ml zu erhalten. Daraufhin wurden 5 ml der gewaschenen Plättchensuspension in eine 50 ml Spritze, die in einer automatischen Spritzenpumpe verwendet werden konnte, aufgezogen und in einem 37 Grad Celsius warmem Wasserbad für 15 Minuten vorgewärmt. Im Anschluss wurde die Spritze sofort in die automatische Pumpe eingespannt. Die Plättchen ließ man durch eine Perfusionskammer, bestehend aus parallelen Platten (FCS2, Bioptechs Inc., Butler, Pennsylvania), unter genau definierten rheologischen Bedingungen für 10 Minuten mit einer Geschwindigkeit von 1000 s^{-1} fließen. Dies entspricht den Abscherkräften in Arterien von mittlerer Größe unter physiologischen Bedingungen. Hierauf ließ man 5 Minuten lang die HEPES-modifizierte Thyroidlösung ebenfalls mit einer Geschwindigkeit von 1000 s^{-1} durch die Flusskammer strömen. Dabei wurde eine impulsfreie Pumpe verwendet. Die Deckgläschen wurden mit einer einzigen Schicht Fibrinogen beschichtet. Um die Plättcheninteraktionen mit der Beschichtung zu beobachten, wurde die Flusskammer auf den Objektisch eines invertierten Mikroskops (TE 2000-S, Nikon, Düsseldorf, Deutschland) gestellt. Mit Hilfe einer digitalen Kamera (DS-2M, Nikon, Düsseldorf, Deutschland) wurden Bilder von 5 bis 8 verschiedenen mikroskopischen Feldern in 20-facher Vergrößerung aufgezeichnet.

2.7 Der P2Y₁₂-Plättchen-Reaktivitäts-Index (PRI)

Der PRI wurde ermittelt, indem der VASP-P Status (vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation) mit Hilfe der Durchflusszytometrie (FACSCalibur) bestimmt wurde. Die Quantifizierung der VASP-P-Anteile in den Plättchen erfolgte mit einem FITC-gekoppeltem anti-VASP-P Antikörper (5C6) aus einem handelsüblich erhältlichen Test-Kit (PLT VASP/ P2Y₁₂ Test Kit, American Diagnostica, Pfungstadt, Deutschland). Der PLT VASP/ P2Y₁₂ Test Kit wird zum Monitoring plättchenspezifischer ADP-Rezeptor-Antagonisten verwendet. Die Plättchen wurden wie oben beschrieben charakterisiert. Nach der Messung der VASP-P-Werte, die der Stimulation mit $0.5 \mu\text{mol/l}$ PGE₁ (Prostaglandin E₁) folgte, wurde der PRI mit Hilfe der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI PGE₁) sowie der Stimulation mit PGE₁ in Anwesenheit von $20 \mu\text{mol/l}$ ADP (MFI PGE₁ + ADP) bestimmt. Der PRI wurde ermittelt als: $([\text{MFI PGE}_1] - [\text{MFI PGE}_1 + \text{ADP}]) / [\text{MFI PGE}_1] * 100 \%$. Ein niedriger PRI lässt auf eine bessere P2Y₁₂-Hemmung schließen.

2.8 Substanzen

Soweit nicht anderweitig angegeben, stammen die verwendeten Substanzen von Sigma (Deisenhofen, Deutschland) und weisen den höchsten verfügbaren Reinheitsgrad auf.

2.9 Statistik

Soweit nicht anders gekennzeichnet, sind alle Daten als Mittelwerte \pm Standardfehler (SEM) angegeben. „n“ repräsentiert die Anzahl unterschiedlicher Tiere. Die statistische Analyse erfolgte mit dem Student's-t-Test für paarige oder unpaarige Stichproben oder mit Hilfe der einseitigen Varianzanalyse (analysis of variance, ANOVA) beim Vergleich von mehr als zwei Gruppen. Eine Irrtumswahrscheinlichkeit von $p < 0.05$ wurde als signifikant betrachtet.

3 Ergebnisse

In der durchgeführten Studie wurde AZD6140 diabetischen Ratten sowohl akut als auch chronisch verabreicht. Im Anschluss wurden die akuten beziehungsweise chronischen Auswirkungen auf die Plättchenadhäsion, -aktivierung und -aggregation untersucht.

3.1 Resorption von AZD6140 und Modell der Pharmakokinetik

3.1.1 Deskriptive Parameter nach Akutgabe von AZD6140

| Stunden nach Applikation von AZD6140 | Körpergewicht, g | Blutzucker, mg/ dl | Plasmaspiegel von AZD6140, ng/ ml |
|--------------------------------------|------------------|--------------------|-----------------------------------|
| STZ-Kontrolle (0 Stunden) | 233.5 ± 14.2 | 494.8 ± 36.5 | 0.0 ± 0.0 |
| 0.5 | 215.0 ± 12.8 | 530.4 ± 20.4 | 58.87 ± 24.44* |
| 1 | 223.2 ± 16.7 | 523.0 ± 23.4 | 75.53 ± 28.34** |
| 2 | 216.3 ± 17.6 | 515.7 ± 41.2 | 53.42 ± 10.48* |
| 4 | 210.0 ± 8.6 | 494.8 ± 24.9 | 96.75 ± 19.45** |
| 6 | 221.8 ± 16.3 | 515.8 ± 38.6 | 17.60 ± 2.58 |
| 8 | 221.8 ± 16.3 | 542.2 ± 35.3 | 21.97 ± 9.08 |
| 12 | 236.2 ± 17.6 | 525.2 ± 22.8 | 3.31 ± 2.29 |
| 24 | 203.3 ± 33.0 | 503.8 ± 42.8 | 0.0 ± 0.0 |

*p< 0.05, **p< 0.01 vs. STZ-Kontrolle.

Tab. 3: Deskriptive Parameter der diabetischen Ratten, die mit einer Einzeldosis (5 mg/ kg Körpergewicht) des P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten AZD6140 behandelt wurden (n=5 für jeden Zeitpunkt)

Die diabetischen Ratten erhielten den P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten AZD6140 in einer Dosierung von 5 mg/ kg Körpergewicht. In der oben dargestellten Tabelle 3 sind das Körpergewicht in g, die Blutglukosewerte in mg/ dl und die Plasmaspiegel von AZD6140 in ng/ ml zu den Zeitpunkten 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 und 24 Stunden der AZD6140-behandelten Tiere sowie der placebo-behandelten STZ-Kontrolltiere dargestellt.

Eine Hyperglykämie wurde als Blutglukosespiegel von durchschnittlich >360 mg/ dl (>20 mmol/ l) 2 und 4 Wochen nach der Injektion von Streptozotocin (STZ) definiert. Sowohl die STZ-Kontrolltiere als auch die AZD6140-gefütterten Ratten wiesen erhöhte Blutglukosewerte auf (siehe Tabelle 3).

AZD6140 muss, wie bereits zuvor erwähnt, nicht über das Cytochrom P 450-System der Leber aktiviert werden, um seine inhibitorische Wirkung entfalten zu können. Nach einmaliger Gabe wird die Substanz rasch absorbiert und zeigt eine lineare, dosis- und zeitabhängige Pharmakokinetik. Daher werden bereits 30 Minuten nach Verabreichung von AZD6140 suffiziente Plasmaspiegel erreicht und eine inhibitorische Wirkung erzielt. 0,5 bis 4 Stunden nach Gabe des P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten wurden signifikant erhöhte AZD6140-Spiegel im Plasma gemessen (siehe Tabelle 3). Bereits nach 6 Stunden war ein Rückgang der AZD6140-Konzentrationen im Plasma zu beobachten. Nach 24 Stunden konnte die Substanz nicht mehr im Plasma der diabetischen, einmalig mit AZD6140-gefütterten Ratten nachgewiesen werden.

3.1.2 Deskriptive Parameter nach chronischer Gabe von AZD6140

Im Rahmen der chronischen Versuchsreihe wurde den diabetischen Ratten der P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonist in einer Dosierung von 10 mg/ kg Körpergewicht zweimal pro Tag über einen Zeitraum von 2 Wochen verabreicht. In Tabelle 4 sind das Körpergewicht in g, die Blutglukosewerte in mg/ dl, der HbA1c in %, das Blutbild (Leukozyten, n*1000/ µl; Monozyten, n*1000/ µl; Thrombozyten, n*1000/ µl; mittleres Plättchenvolumen, fl) und das von den Thrombozyten sezernierte Zytokin RANTES in ng/ ml sowohl der AZD6140-behandelten Tiere als auch der Kontrolltiere dargestellt.

| | STZ-Placebo | STZ-AZD6140 |
|--------------------------------|-------------|--------------|
| N | 20 | 20 |
| Körpergewicht, g | 222.7 ± 7.4 | 220.5 ± 7.6 |
| Blutzucker, mg/ dl | 594.4 ± 4.2 | 586.8 ± 5.6 |
| HbA1c, % | 4.1 ± 0.2 | 3.9 ± 0.2 |
| Leukozyten, n*1000/ µl | 3.75 ± 0.33 | 4.11 ± 0.42 |
| Monozyten, n*1000/ µl | 0.28 ± 0.03 | 0.28 ± 0.03 |
| Thrombozyten, n*1000/ µl | 692 ± 35 | 696 ± 37 |
| Mittleres Plättchenvolumen, fl | 7.23 ± 0.06 | 7.40 ± 0.12 |
| RANTES, ng/ ml | 7.40 ± 1.09 | 5.02 ± 0.63* |

* $P < 0.05$ vs. STZ-Placebo.

Tab. 4: Deskriptive Parameter der diabetischen Ratten, die mit AZD6140 (10 mg/ kg) oder mit einem Placebo über 2 Wochen behandelt wurden

Wie auch in der akuten Studie lagen die Blutglukosewerte der AZD6140- und der placebo-behandelten STZ-Tiere mit > 500 mg/ dl im Hyperglykämiebereich (siehe Tabelle 4).

Wirft man einen Blick auf das Blutbild der diabetischen Tiere, so kann man keine signifikanten Unterschiede in der Leukozyten-, Monozyten- oder Thrombozytenanzahl sowie des mittleren Plättchenvolumens der AZD6140-behandelten Tiere im Vergleich zu den Kontrolltieren erkennen.

Aktivierte Thrombozyten können entscheidend die chemotaktischen und adhäsiven Eigenschaften von Endothelzellen verändern, zum Beispiel die Sekretion chemotaktischer Substanzen oder die Oberflächenexpression von Rezeptoren für die Monozytenadhäsion.^{65;78}

Nach Kontakt der aktivierten Plättchen mit der Gefäßwand kommt es zu inflammatorischen Veränderungen in den Endothelzellen und somit unter anderem zu einer Monozyteneinwanderung und der Schaumzellenbildung.⁹³ Zudem können von Plättchen

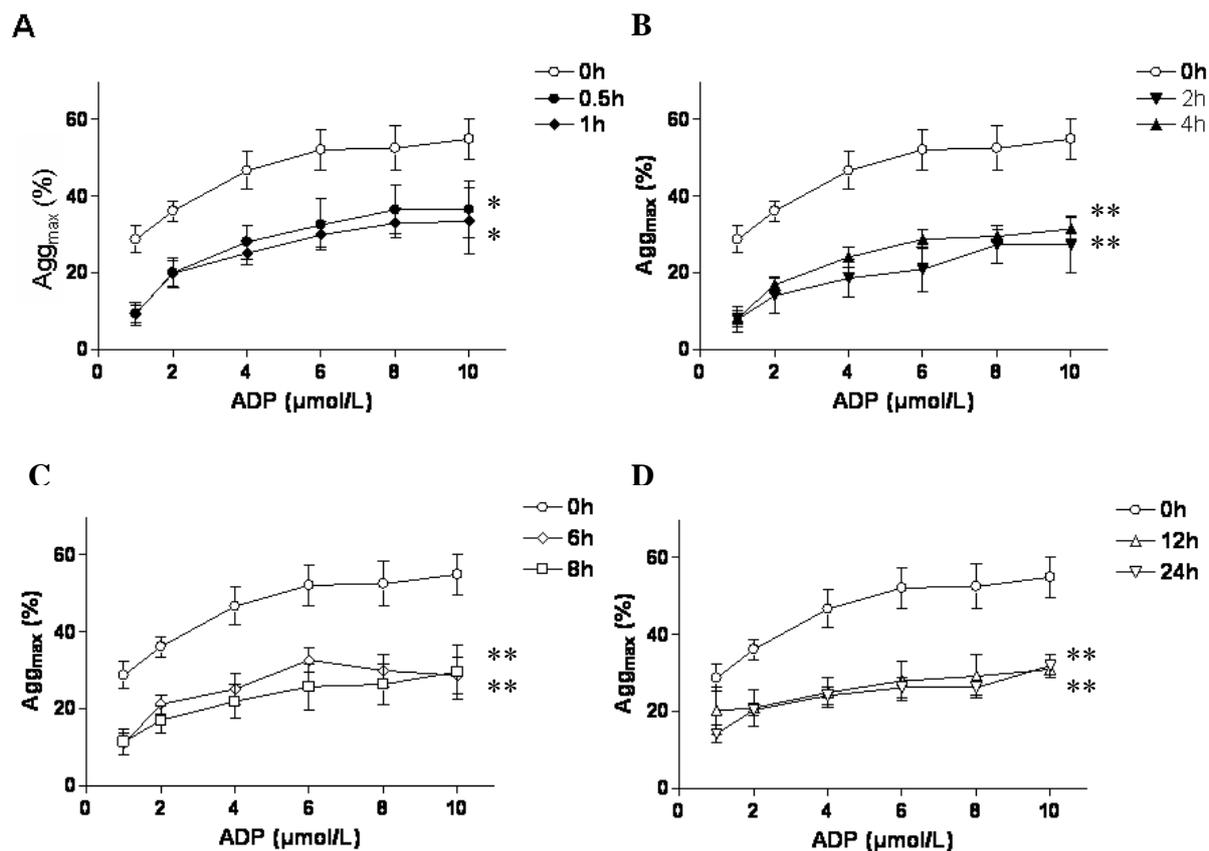
sezernierte Substanzen die Chemotaxis von Leukozyten stimulieren.⁵⁶ AZD6140 beeinflusst die Sekretion des pro-inflammatorischen Zytokins RANTES. RANTES steht für „regulated upon activation, normal T-cell expressed and -secreted“. Es wird von aktivierten Thrombozyten sezerniert und gehört zu der Interleukin 8-Familie. Diabetische Ratten, die über 2 Wochen zweimal täglich 10 mg/ kg AZD6140 erhielten, zeigten eine signifikante Inhibition der RANTES-Sekretion im Vergleich zu den placebo-behandelten Kontrollen ($p < 0.05$ vs. STZ-Kontrolltiere) (siehe Tabelle 4).

3.2 Akute Auswirkungen auf die Plättchenfunktionen nach einmaliger AZD6140-Gabe

3.2.1 Akute Effekte auf die ADP-induzierte Plättchenaggregation

In Blutplättchen liegen biologisch aktive Verbindungen wie Zytokine oder Wachstumsfaktoren in großen Konzentrationen vor, die bei Aktivierung im Bereich der Thrombusbildung freigesetzt werden.^{65;78} Bei Diabetes mellitus wurde eine erhöhte basale Aktivierung und eine Hyperaggregabilität zirkulierender Thrombozyten beobachtet.^{63;65}

Die diabetischen Ratten erhielten jeweils eine Einzeldosis AZD6140 von 5 mg/ kg Körpergewicht. Die Gabe erfolgte 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 oder 24 Stunden vor der Blutentnahme. Die entnommenen Blutproben wurden im Hinblick auf die ADP-induzierte maximale Plättchenaggregation (Agg_{max}) in plättchenreichem Plasma (PRP) untersucht und mit dem PRP der Kontrolltiere (0 Stunden) verglichen (siehe Abbildung 5 A-D). Dies erfolgte mit dem Aggregometer. Die Ergebnisse von 4-6 verschiedenen Tieren wurden als $Agg_{max} \pm SEM$ (Standardfehler des Mittelwertes) dargestellt.



* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$ vs. STZ-Kontrolle

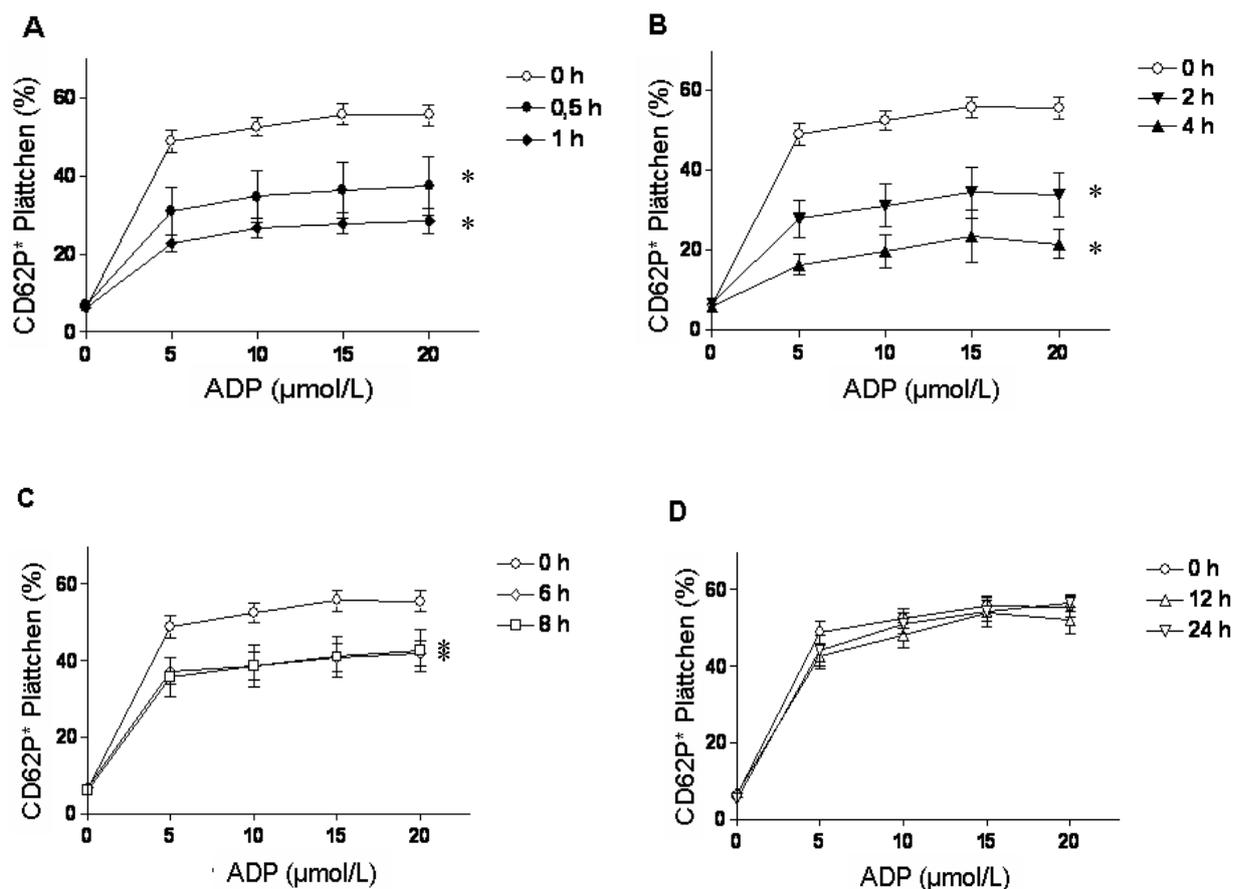
Abb. 5: A) – D) Inhibition der ADP-induzierten maximalen Plättchenaggregation (Agg_{max}) in plättchenreichem Plasma (PRP) diabetischer Ratten.

Aus Abbildung 5A) ist ersichtlich, dass die ADP-induzierte Plättchenaggregation in PRP bei diabetischen Ratten, welche AZD6140 in oben genannter Dosis erhielten, bei einmaliger Gabe bereits nach 30 Minuten signifikant abgeschwächt war ($p < 0.05$ vs. Kontrolltiere). Nach 2 Stunden wurde eine Intensitätszunahme der inhibitorischen Effekte auf die Plättchenaggregation beobachtet ($p < 0.01$ vs. Kontrolltiere) (Abbildung 5B). Die hemmende Wirkung von AZD6140 auf die Plättchenaggregation hielt über 24 Stunden an, wobei sie nach 12 Stunden schon teilweise rückläufig war (Abbildung 5 A)-D).

3.2.2 Akute Effekte auf die ADP-induzierte P-Selektin Expression

P-Selektin ist ein Membranprotein und wird nach Stimulation auf aktiviertem Endothel oder auf adhärierenden Thrombozyten exponiert.⁷⁸ Ihm kommt eine besondere Funktion in der Adhäsionskaskade zu.⁵⁶ P-Selektin vermittelt sowohl die Aktivierung von Leukozyten als auch die Leukozytenadhäsion im Bereich einer Endothelläsion.⁵⁶

In der aktuellen Studie wurde die ADP-induzierte Oberflächenexpression von P-Selektin (CD62P), einem Marker für die Plättchendegranulation, in plättchenreichem Plasma (PRP) untersucht. Die diabetischen Ratten erhielten eine Einzeldosis AZD6140 von 5 mg/kg Körpergewicht *in vivo*. Die Entnahme der Blutproben erfolgte 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 oder 24 Stunden nach der AZD6140-Gabe und die Proben wurden mit Blutproben (PRP) von Kontrolltieren verglichen (0 Stunden). Es wurden die Ergebnisse von 4-6 verschiedenen Tieren als CD62P⁺ markierte Plättchen ± SEM dargestellt.



*p < 0.05 vs. STZ-Kontrolle

Abb. 6: A) – D) Inhibition der ADP-induzierten P-Selektin (CD62P)-Oberflächenexpression in plättchenreichem Plasma (PRP) diabetischer Ratten, denen eine Einzeldosis AZD6140 (5 mg/kg Körpergewicht) verabreicht wurde.

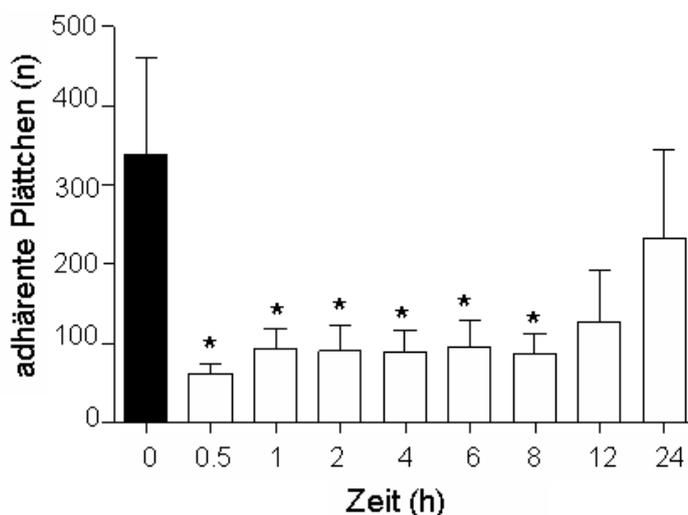
In Abbildung 6A) zeigt sich, dass die P-Selektin-Oberflächenexpression auf mit ADP stimulierten Thrombozyten nach einer einmaligen Verabreichung von AZD6140 in oben genannter Dosierung bereits nach 0,5 Stunden signifikant reduziert war (p < 0,05 vs. Kontrolltiere). Die stärkste Hemmung der P-Selektin-Expression zeigte sich 2 bis 4 Stunden

nach AZD6140-Gabe (Abbildung 6B). Die Inhibition der P-Selektin-Oberflächenexpression hielt über 8 Stunden an ($p < 0.05$ vs. Kontrolltiere) (Abbildung 6C) und befand sich nach 12 Stunden wieder auf dem Niveau der Kontrolltiere (Abbildung 6D).

3.2.3 Akute Effekte auf die Adhäsion stimulierter Plättchen in der Flusskammer

In der Flusskammer wurde die ADP-induzierte Plättchenadhäsion an einer mit Fibrinogen beschichteten Membran untersucht. Die diabetischen Versuchstiere erhielten einmalig AZD6140 in einer Dosierung von 5 mg/kg Körpergewicht. Die Blutprobenentnahme erfolgte wiederum 0,5, 1, 2, 4, 6, 8, 12 oder 24 Stunden nach der AZD6140-Gabe.

Die gewaschenen, mit $10 \mu\text{mol/l}$ ADP stimulierten und im Wasserbad vorgewärmten Plättchen perfundierten mit einer Scherrate von 1000 s^{-1} , welche den arteriellen Flussbedingungen entspricht, über die fibrinogenbeschichtete Membran in der Flusskammer. Die Hemmung der ADP-induzierten Plättchenadhäsion wurde mit der Adhäsion gewaschener Plättchen von Kontrollratten verglichen, deren Thrombozyten ebenfalls mit einer Scherrate von 1000 s^{-1} über eine fibrinogenbeschichtete Membran perfundierten. In die Ergebnisse flossen die Daten von jeweils 4-6 verschiedenen Tieren ein. Diese wurden als Anzahl der adhärenen Plättchen \pm SEM dargestellt.



* $p < 0.05$ vs. STZ-Kontrolle

Abb. 7: Inhibition der ADP-induzierten Plättchenadhäsion an einer fibrinogenbeschichteten Membran in der Flusskammer.

Es zeigte sich, dass eine einmalige Gabe von AZD6140 die Adhäsion ADP-stimulierter Plättchen auf einer fibrinogenbeschichteten Membran bereits 30 Minuten nach Verabreichung signifikant reduzierte. Nach 24 Stunden wurde keine signifikante Inhibition der Plättchenadhäsion mehr beobachtet.

3.3 Prädiktion der chronischen Dosis

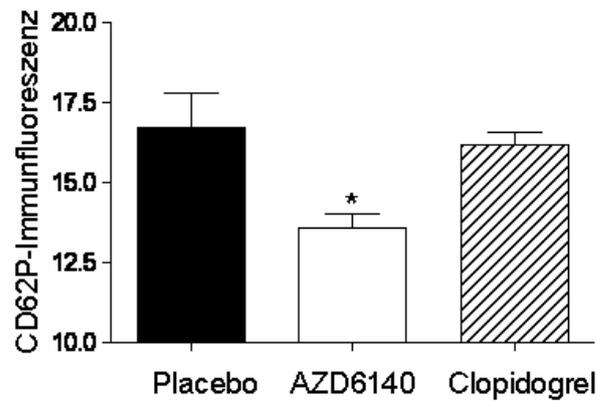
In Tabelle 3 sind die Plasmaspiegel von AZD6140 aufgeführt. Bereits 6 Stunden nach einmaliger Verabreichung von 5 mg AZD6140/ kg Körpergewicht zeigte sich ein Abfall der Plasmakonzentration von 96.75 ± 19.45 ng/ dl (4 h-Wert) auf 17.60 ± 2.58 ng/ dl (6 h-Wert). Nach 24 Stunden war AZD6140 im Plasma nicht mehr nachweisbar. Aufgrund dieser Resultate und der linearen, dosis- und zeitabhängigen Pharmakokinetik von AZD6140 wurde den diabetischen Tieren in der chronischen Studie die Substanz zweimal täglich in einer Dosierung von 10 mg/ kg Körpergewicht verabreicht, um einen konstanten Wirkungsspiegel aufrechtzuerhalten.

3.4 Chronische Auswirkungen von AZD6140 auf die Plättchenfunktionen

3.4.1 Chronische Effekte auf die P-Selektin-Expression unstimulierter Plättchen

Den diabetischen Ratten wurde zweimal pro Tag AZD6140 in einer Dosierung von 10 mg/ kg Körpergewicht über einen Zeitraum von 2 Wochen verabreicht. Die letzte orale Gabe erfolgte mehr als 12 Stunden vor der Blutprobenentnahme. Zudem wurde Wistar-Ratten 5 mg/ kg Körpergewicht Clopidogrel zweimal pro Tag ebenfalls über einen Zeitraum von 2 Wochen verabreicht.

Die P-Selektin-Expression (CD62P) auf der Oberfläche unstimulierter, zirkulierender Plättchen lässt auf deren Aktivierung schließen. Es wurden die Ergebnisse von 10-14 Tieren als mittlere CD62P-Immunfluoreszenz \pm SEM dargestellt und die Resultate der Placebo-, der AZD6140- und der Clopidogrel-gefütterten Tiere verglichen (siehe Abbildung 8).



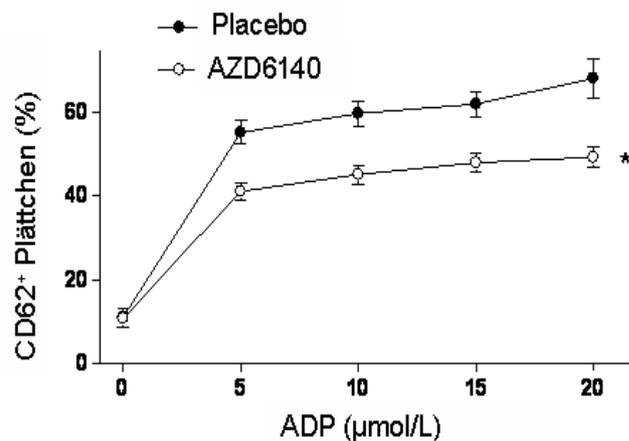
*p < 0.05 vs. Kontrolle

Abb. 8: Die P-Selektin-Expression (CD62P) auf der Oberfläche unstimulierter zirkulierender Plättchen diabetischer Ratten bei chronischer Behandlung mit AZD6140 (10 mg/ kg Körpergewicht).

Aus Abbildung 8 ist ersichtlich, dass eine chronische Behandlung mit AZD6140 (10 mg/ kg) die P-Selektin-Oberflächenexpression unstimulierter, zirkulierender Thrombozyten signifikant reduziert. Dies deutet auf eine geringere Aktivierung der Plättchen in vivo hin. Vergleicht man diese Ergebnisse mit denen von diabetischen Ratten, welche mit Clopidogrel behandelt wurden, so zeigt sich keine signifikante Hemmung der P-Selektin-Oberflächenexpression unstimulierter, zirkulierender Thrombozyten im Vergleich zu den Placebo-behandelten Tieren.

3.4.2 Chronische Effekte auf die ADP-induzierte P-Selektin Expression

Um die Reaktivität der Plättchen nach Behandlung mit AZD6140 (10 mg/kg Körpergewicht) über einen Zeitraum von 2 Wochen zu bestimmen, wurde die ADP-induzierte P-Selektin-Expression in plättchenreichem Plasma (PRP) gemessen. Die Ergebnisse wurden als CD62P⁺ (%) ± SEM von 10-14 Tieren dargestellt.



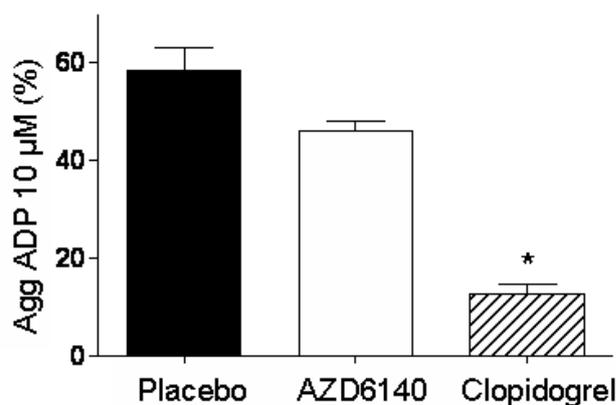
*p < 0.05 vs. Kontrolle

Abb. 9: Die Plättchenreaktivität nach chronischer Behandlung mit AZD6140 gemessen an der ADP-induzierten P-Selektin-Oberflächenexpression in plättchenreichem Plasma.

In Abbildung 9 zeigt sich bei den AZD6140-gefütterten Tieren eine signifikante Hemmung der P-Selektin Expression auf der Oberfläche ADP-stimulierter Plättchen und somit eine Inhibition der Plättchenreaktivität verglichen mit den diabetischen Kontrollratten.

3.4.3 Chronische Effekte auf die ADP-induzierte Plättchenaggregation

Im Anschluss an die zweiwöchige Behandlung mit AZD6140 (10 mg/ kg Körpergewicht) sowie mit Clopidogrel (5 mg/ kg) zweimal pro Tag wurden die Blutproben der diabetischen Ratten in der chronischen Studie bezüglich der ADP-induzierten Aggregation (Agg) in plättchenreichem Plasma (PRP) untersucht. Die Resultate wurden wiederum mit denen der Kontrolltiere verglichen und als Agg (%) \pm SEM graphisch dargestellt.



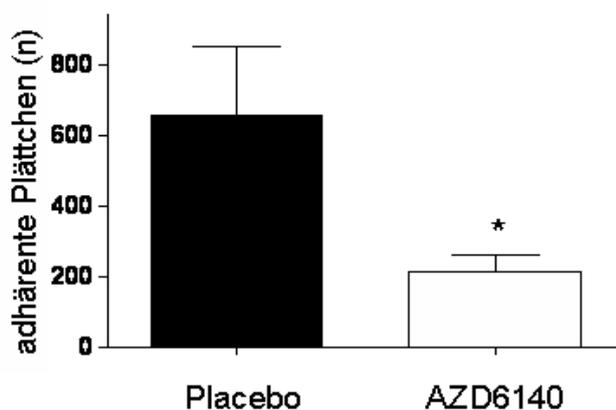
* $p < 0.05$ vs. Kontrolle

Abb. 10: Inhibition der ADP-induzierten Plättchenaggregation in plättchenreichem Plasma (PRP) diabetischer Ratten, die über 2 Wochen AZD6140 (10 mg/ kg Körpergewicht) beziehungsweise Clopidogrel (5 mg/ kg Körpergewicht) erhielten.

Die AZD6140-behandelten Tiere zeigten 12 Stunden nach der letzten Substanzgabe, im Sinne einer schon wieder aufgehobenen Reversibilität, nur einen nicht signifikanten, moderaten Rückgang der Plättchenaggregation im Vergleich zu den Placebo-behandelten Kontrollen, während bei den Clopidogrel-behandelten diabetischen Tieren noch eine signifikante Hemmung der ADP-induzierten Plättchenaggregation im Vergleich zu den Placebo-behandelten Kontrolltieren beobachtet wurde.

3.4.4 Chronische Effekte auf die Adhäsion ADP-stimulierter Plättchen in der Flusskammer

Auch die ADP-induzierte Plättchenadhäsion an einer mit Fibrinogen beschichteten, in der Flusskammer befindlichen Membran wurde in der chronischen Versuchsreihe ermittelt. Die gewaschenen Plättchen wurden mit ADP stimuliert und in einem Wasserbad innerhalb von 15 Minuten auf 37 °C vorgewärmt. Im Anschluss perfundierten die stimulierten Thrombozyten mit einer Scherrate von 1000 s^{-1} über die fibrinogenbeschichtete Membran. Die gewaschenen Plättchen der Kontrolltiere flossen ebenfalls mit einer Scherrate von 1000 s^{-1} über eine solche Membran. Die Ergebnisse beider Gruppen wurden miteinander verglichen und als Anzahl der adhärenen Plättchen \pm SEM von insgesamt jeweils 4-6 verschiedenen Tieren dargestellt.



* $p < 0.05$ vs. Kontrolle

Abb. 11: Chronische Inhibition der ADP-induzierten Plättchenadhäsion an einer fibrinogenbeschichteten Membran in der Flusskammer.

Unter diesen physiologischen arteriellen Flussbedingungen zeigten die über 2 Wochen mit AZD6140 behandelten Tiere eine signifikant geringere Adhäsion ADP-stimulierter Plättchen auf einer fibrinogenbeschichteten Membran verglichen mit der Plättchenadhäsion der Placebo-behandelten Tiere.

4 Diskussion

In der gegenwärtigen Studie erreichte der kompetitive, reversible P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonist AZD6140 bei diabetischen Ratten, die eine akute Behandlung in Form einer einmaligen Gabe von 5 mg/kg Körpergewicht erhielten, rasch suffiziente, inhibitorisch wirksame Plasmaspiegel. Zudem reduzierte die Substanz die Plättchenreaktivität.

Bei chronischer Verabreichung von AZD6140 in einer Dosierung von 10 mg/kg Körpergewicht zweimal pro Tag über 2 Wochen wurde eine Inhibition der in vivo Aktivierung von zirkulierenden, unstimulierten Thrombozyten beobachtet.

4.1 Die Regulierung der Plättchenfunktionen über die P2-Rezeptoren

Biochemische, pharmakologische und klinische Studien propagieren das Modell von 3 purinergen Rezeptoren, welche bei dem komplexen Prozess der ADP-induzierten Plättchenaktivierung und -aggregation mitwirken.^{76;81} Nachfolgend ist die Wirkungsweise der P2-Rezeptoren schematisch dargestellt.

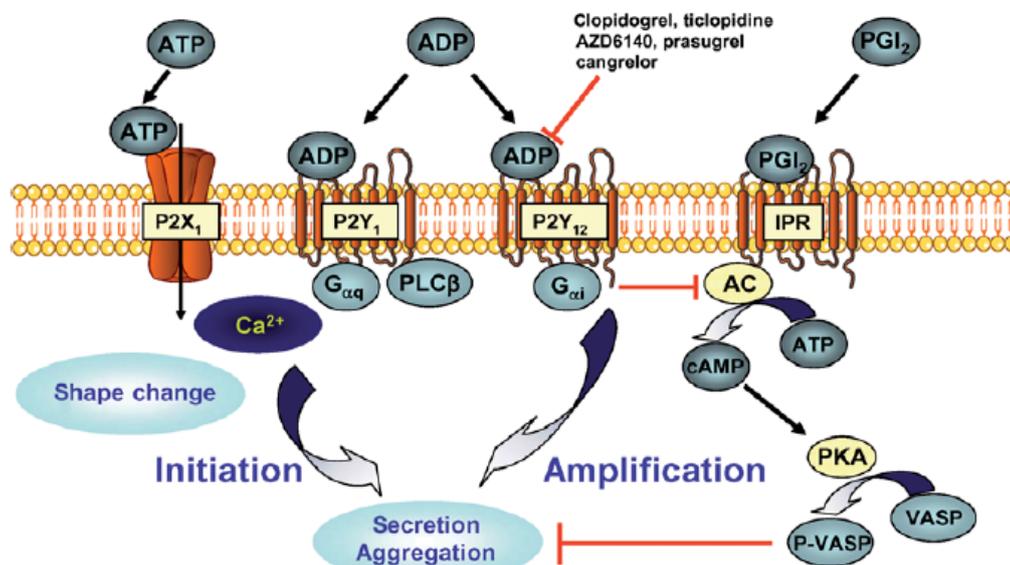


Abb. 12: Schematische Darstellung der Wirkungsweise der P2-Rezeptoren.

Adenosin-5-Diphosphat (ADP) aktiviert Thrombozyten durch zwei G-Protein-gekoppelte P2-Rezeptoren, den P2Y₁-Rezeptor und den P2Y₁₂-Rezeptor. Der G_{αq}-gekoppelte P2Y₁-Rezeptor initiiert die Thrombozytenaggregation durch Aktivierung von Phospholipase C (PLCβ) und Kalziummobilisierung (Ca²⁺), während der G_{αi}-gekoppelte P2Y₁₂-Rezeptor die Aggregation verstärkt und komplettiert. Zusätzlich hemmt der P2Y₁₂-Rezeptor die Produktion von zyklischem Adenosinmonophosphat (cAMP) durch die Adenylatcyclase (AC), welche physiologischerweise

durch endotheliales Prostazyklin (PGI_2) aktiviert wird. Die cAMP-abhängige Proteinkinase A (PKA) phosphoryliert das vasodilatatorstimulierte Phosphoprotein VASP und hemmt die thrombozytäre Sekretion und Aggregation. Das Ausmaß der ADP-induzierten Hemmung der Prostazyklin-(PGI_2)-vermittelten VASP-Phosphorylierung (P-VASP) geht in den „platelet reactivity index“ (PRI) zur Bestimmung der P2Y_{12} -spezifischen ADP-Aktivität ein. Thienopyridine und neue ADP-Antagonisten hemmen multiple proaggregatorische Signale von ADP, insbesondere durch Hemmung der P2Y_{12} -vermittelten sekundären ADP-Signale, welche die Thrombozytenaktivierung verstärken.

ATP: Adenosintriphosphat; IPR: Isoprostanrezeptor. (nach Schäfer, A., Bauersachs, J. ³⁸)

Der P2X_1 ionotrope Rezeptor ist ATP-abhängig und bewirkt einen schnellen Kalziumeinstrom in das Zytosol.^{78;80;81;83} Der P2Y_1 metabotrope Rezeptor ist für die Kalziummobilisierung aus internen Speichern und den Beginn der Plättchenaggregation verantwortlich, ist aber nicht in der Lage die ADP-vermittelte Aggregation der Thrombozyten zu vervollständigen.^{78;80;81;83} Und schließlich der P2Y_{12} -Rezeptor, der die Komplettierung und Amplifikation der ADP-induzierten Plättchenantwort bewirkt.^{76;80;81;83} Der P2X_1 -Rezeptor ist ein liganden-vermittelter Ionenkanal, während der P2Y_1 - und der P2Y_{12} -Rezeptor G-Protein-gekoppelt sind.^{76;80;81;83} Da die Verteilung des P2Y_{12} -Rezeptors auf Thrombozyten und Subregionen des Gehirns begrenzt ist^{78;80;83}, ist dieser ein interessantes Ziel für antithrombozytär wirksame Substanzen. Der P2Y_1 -Rezeptor ist dagegen in zahlreichen Geweben wie Herz, Blutgefäßen, glatten Muskelzellen, Nervengewebe, Hoden, Prostata und Ovar zu finden.^{78;80;83}

AZD6140 ist ein kompetitiver Inhibitor des P2Y_{12} -Rezeptors und bewirkt eine rasche Inhibition der Plättchenfunktionen.^{77;89} Suffiziente Plasmaspiegel wurden in der aktuellen Studie schon 30 Minuten nach AZD6140-Gabe erreicht.

In dieser Studie wurde die Plättchendegranulation, die mit Hilfe der P-Selektin-Expression auf der Oberfläche der Thrombozyten ermittelt wurde, 0.5 bis 4 Stunden nach einmaliger Gabe von AZD6140 signifikant inhibiert. Zu diesen Zeitpunkten konnten die höchsten Plasmakonzentrationen von AZD6140 im Blut der diabetischen Ratten ermittelt werden. Dies lässt auf eine Hemmung der P2Y_{12} -vermittelten Amplifikation der ADP-vermittelten Thrombozytenantwort schließen.

Bei der maximalen Plättchenaggregation konnte nach einmaliger Verabreichung von AZD6140 bereits nach 30 Minuten eine signifikante Hemmung beobachtet werden. Dieser

Effekt hielt über einen Zeitraum von bis zu 24 Stunden an, war aber bereits nach 12 Stunden teilweise rückläufig. Dies bestätigt eine reversible Hemmung des P2Y₁₂-Rezeptors durch AZD6140.

Bei zweiwöchiger AZD6140-Behandlung zeigte die maximale Plättchenaggregation > 12 Stunden nach der letzten Gabe eine moderate Inhibition verglichen mit den Resultaten der akuten Studie, was ebenfalls auf eine reversible Hemmung des P2Y₁₂-Rezeptors hinweist.

Ähnlich kam es zu einer moderaten Reduktion der ADP-induzierten P-Selektin-Expression bei den chronisch behandelten diabetischen Ratten. Zudem bewirkte die chronische Therapie mit AZD6140 bei den diabetischen Tieren eine deutliche Reduktion der spontanen P-Selektin-Expression auf der Oberfläche zirkulierender Thrombozyten.

Diese reversible Hemmung der Thrombozytenfunktionen ist unter anderem in zahlreichen Notfallsituationen von Vorteil, besonders da die Anwendung von Clopidogrel und/ oder Aspirin mit einigen Problemen assoziiert ist.

4.2 AZD6140, die Thienopyridine und ASS im Vergleich: Vor- und Nachteile

Charakteristisch für die Thienopyridine Clopidogrel und Ticlopidin sowie die Acetylsalicylsäure (ASS) ist ihre irreversible, inhibitorische Wirkung auf die thrombozytären Funktionen.

ASS hemmt irreversibel die Cyclooxygenase-1 (COX-1), wodurch es in Thrombozyten und vaskulären Endothelzellen zu einer Inhibition der Produktion von Thromboxan A₂, einem Promotor der Plättchenaggregation, sowie von Prostaglandin I₂ (Prostazyklin), einem potenten Inhibitor der Plättchenaggregation und einem starken Vasodilatator, kommt.^{40;41;85}

Clopidogrel hemmt selektiv und irreversibel den P2Y₁₂-Rezeptor.^{40;41;85} Dadurch wird die Aktivierung des GPIIb/ IIIa-Komplexes inhibiert und die Plättchenaggregation gehemmt.⁹⁰

Dagegen ist AZD6140 ein kompetitiver, reversibler P2Y₁₂-Antagonist, der keine metabolische Aktivierung benötigt.^{78;84;91} Clopidogrel muss als inaktives Prodrug erst zu aktiven Metaboliten umgewandelt werden. 85 % der inaktiven Substanz werden durch im Blut zirkulierende Esterasen in einen inaktiven Metaboliten gespalten, wohingegen die

verbliebenen 15 % über das Cytochrom P 450-System (CYP2C19) der Leber zum eigentlich aktiven Metaboliten verstoffwechselt werden.^{40;90} Dies erklärt den verzögerten Wirkbeginn von Clopidogrel. Erst 3 bis 4 Tage nach Behandlungsbeginn wird die volle Wirksamkeit erreicht^{77;84}, wohingegen nach einer einzigen Verabreichung von AZD6140 bereits nach 30 Minuten eine signifikante Plättcheninhibition erzielt wird und eine maximale Wirksamkeit bereits 2 bis 4 Stunden nach Gabe eintritt. Zudem hemmt AZD6140 die Plättchenaggregation stärker (90-95 %) als Clopidogrel, bei dem nach 4-5 Tagen nur eine ungefähr 60 %ige Inhibition der Plättchenaggregation erreicht wird.^{77;89}

Gerade in Akutsituationen, wie beispielsweise bei einem Myokardinfarkt und/ oder der Notwendigkeit einer PCI (Percutaneous Coronary Intervention), ist eine schnelle Blockade des P2Y₁₂-Rezeptors und somit eine rasche antithrombozytäre Wirkung vorteilhaft.^{77;78;84;89;90} Aber auch ein rasches Ende der Plättcheninhibition kann in zahlreichen Situationen günstig sein. So war in der akuten Studie die Plättchenaggregation bereits > 12 Stunden nach der letzten AZD6140-Gabe teilweise wiedererlangt worden, was auf die schnelle Reversibilität der inhibitorischen Effekte des neuen, oralen P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten schließen lässt. Dagegen halten die antithrombozytären Effekte von Aspirin und Clopidogrel den gesamten Lebenszyklus der Thrombozyten an.^{40;77} Dies ist in Situationen, in denen chirurgische Eingriffe notwendig werden, zum Beispiel bei Akutem Koronarsyndrom (ACS) oder in der koronaren Bypasschirurgie aufgrund erhöhter Blutungskomplikationen besonders problematisch.^{77;84;87;89} Im Gegensatz dazu vermittelt AZD6140 einen schnellen Beginn und ein rasches Ende der Plättcheninhibition ohne das Risiko exzessiver Blutungen.⁹⁴

In großen Studien wurden der Nutzen und die Notwendigkeit einer zweifachen antithrombozytären Therapie gezeigt.

In der CAPRIE-Studie (Clopidogrel versus Aspirin in Patients at Risk of Ischemic Events) wurde die Wirkung von 75 mg Clopidogrel täglich mit 325 mg Aspirin täglich bei Risikopatienten für ischämische Ereignisse aufgrund eines vorangegangenen Myokardinfarktes, eines ischämischen Schlaganfalls oder des Vorhandenseins einer atherosklerotischen Erkrankung verglichen.⁹⁵ Es zeigte sich eine Überlegenheit von Clopidogrel gegenüber Aspirin hinsichtlich der Risikoreduktion für ischämische Ereignisse bei den genannten Risikopatienten.⁹⁵

Die antithrombozytäre Therapie insbesondere mit der Gruppe der Thienopyridine (Clopidogrel) und mit ASS hat sich bei der Behandlung von Patienten mit Akutem Koronarsyndrom oder nach der Durchführung einer PCI als unerlässlich erwiesen.^{40;91}

Die CURE-Studie (Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events) zeigte, dass die Verabreichung von Clopidogrel zusätzlich zu Aspirin die Inzidenz wiederholter ischämischer Ereignisse wie Myokardinfarkt, Schlaganfall und kardiovaskulär bedingter Tod bei Patienten mit instabiler Angina pectoris oder Nicht-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI) um bis zu 20 % reduziert.^{78;85;90;96}

In der TRITON-TIMI 38-Studie (Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition With Prasugrel-Thrombolysis in Myocardial Infarction 38) wurde Prasugrel mit Clopidogrel bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom, bei denen eine PCI vorgesehen war, verglichen.⁹⁷ In dieser Patientengruppe konnte durch eine Behandlung mit Prasugrel verglichen mit Clopidogrel die Inzidenz des gemeinsamen Endpunktes kardiovaskulär bedingter Todesfälle, nichttödlicher Myokardinfarkte und nichttödlicher Schlaganfälle um 19 % reduziert werden, wobei aber andererseits die Prasugreltherapie infolge einer stärkeren Plättchenhemmung mit einem erhöhten Blutungsrisiko verbunden war.^{97;98} Es zeigte sich, dass besonders Patienten mit Diabetes mellitus von einer Therapie mit Prasugrel profitierten.^{97;98}

Aktuell berichteten Wallentin et al. über die Ergebnisse der PLATO-Studie (Study of Platelet Inhibition and Patient Outcomes), in der Ticagrelor (AZD6140) mit Clopidogrel bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom mit oder ohne ST-Segment-Hebung verglichen wurde.⁹⁴ AZD6140 wurde in einer Loading-Dosis von 180 mg sowie im Anschluss in einer Dosierung von 90 mg zweimal pro Tag verabreicht.⁹⁴ Clopidogrel erhielten die Patienten in einer Loading-Dosis von 300-600 mg sowie anschließend 75 mg Clopidogrel pro Tag.⁹⁴ PLATO zeigte, dass eine Behandlung mit Ticagrelor (AZD6140) verglichen mit Clopidogrel die Todesrate infolge Myokardinfarkt, Schlaganfall oder vaskulär bedingt signifikant senkt und bezüglich dieser Ereignisse mit einer relativen Risikoreduktion von 16 % assoziiert ist, ohne das allgemeine Blutungsrisiko zu erhöhen.^{94;99} Auch bei alleiniger Betrachtung der Endpunkte Myokardinfarkt (5,8 % in der Ticagrelorgruppe versus 6,9 % in der Clopidogrelgruppe) sowie vaskulär bedingte Todesfälle (4,0 % versus 5,1 %) konnten signifikante Unterschiede beobachtet werden, aber nicht bei Schlaganfall allein (1,5 % versus 1,3 %).⁹⁴

Weder die CURE-Studie noch TRITON-TIMI 38 konnten eine signifikante Reduktion der Mortalität in Verbindung mit einer stärkeren Plättcheninhibition zeigen.⁹⁹ Dagegen war in

der PLATO-Studie die Rate der Todesfälle aus beliebigem Grund 4,5 % bei AZD6140 (Ticagrelor) verglichen mit 5,9 % bei Clopidogrel^{94;99}, was einer signifikanten relativen Risikoreduktion von 22 % entspricht.⁹⁹

Dennoch hat sich mehrfach gezeigt, dass Patienten trotz zweifacher antithrombozytärer Therapie mit ASS und Clopidogrel immer wieder thromboembolische Komplikationen erleiden. Dies lässt den Schluss auf ein unzureichendes oder fehlendes Ansprechen auf ASS und/ oder Clopidogrel zu.^{40;85;86;90;91}

Problematisch ist die interindividuelle Variabilität, die besonders unter Clopidogreltherapie auftritt, und die ein unterschiedliches Ausmaß der Plättcheninhibition nach sich zieht.^{40;100} Diese Variabilität kann unter anderem erklären, warum die antithrombozytären Effekte, die normalerweise mit einer Loading-Dosis Clopidogrel erzielt werden, in unterschiedlicher Intensität oder mit einer Verzögerung auftreten und warum bei manchen Patienten eine erhöhte Plättchenreaktivität persistiert.^{40;100} Diese erhöhte Reaktivität spielt erwiesenermaßen eine große Rolle bei atherothrombotischen Komplikationen.^{56;63} Aufgrund dessen wurde der Einsatz mehrerer beziehungsweise höherer Loading- und Erhaltungsdosen in Erwägung gezogen.^{96;101;102} Diese ziehen aber erhöhte Blutungskomplikationen nach sich.^{40;69;101;102}

Bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom wird AZD6140 ähnlich toleriert wie Clopidogrel. Zudem konnte bei dem kompetitiven reversiblen P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten sowohl eine geringere Variabilität im Bezug auf die Therapieauswirkungen als auch eine raschere und effektivere Reduktion der Thrombozytenreaktivität als bei Clopidogrel beobachtet werden.¹⁰³ Aufgrund des geringeren Risikos exzessiver Blutungen, der guten Verträglichkeit, des raschen Wirkungsbeginns und -endes und der geringen Variabilität in seinem Wirkungsprofil stellt AZD6140 eine interessante Alternative zu Clopidogrel dar. Denn besonders die interindividuelle Variabilität, die bei einer Therapie mit Clopidogrel auftritt, und ein möglicherweise vermindertes Ansprechen auf Clopidogrel stehen mit kardiovaskulären Ereignissen und (sub)akuten Stentthrombosen im Zusammenhang.

4.3 Das Problem des verminderten Ansprechens auf Clopidogrel assoziiert mit dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse und subakuter Stentthrombosen

Wie bereits zuvor erwähnt, haben große klinische Studien gezeigt, dass sich der kombinierte Einsatz von Clopidogrel und Aspirin günstig auf das Auftreten ischämischer Ereignisse bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom und/oder atherosklerotischer Erkrankung auswirkt.^{78;85;90;96;104} Dennoch treten trotz dieser zweifachen antithrombozytären Therapie bei zahlreichen Patienten thromboembolische Ereignisse auf.^{40;91;96;100} Dies wird mit so genannten Low- oder Non-Respondern im Bezug auf das Ansprechen auf die Clopidogreltherapie in Verbindung gebracht.^{96;100} Daraus resultiert eine hohe Inzidenz von unzureichenden Clopidogreleffekten in verschiedenen Patientengruppen, welche mit einem erhöhten Risiko unerwünschter kardiovaskulärer Ereignisse korreliert.^{41;67;85;90;104} Mehr als 30 % der Patienten, bei denen ein koronarer Stent eingesetzt wird, zeigen ein eingeschränktes Ansprechen auf die Clopidogreltherapie^{85;90;104-106}, wobei besonders in der Gruppe der Diabetiker eine verminderte Clopidogrelwirkung gehäuft beobachtet werden kann.^{69;101}

Studien, welche die pharmakologischen Effekte der Thienopyridine untersuchten, beschrieben eine große Variabilität in der Wirkung dieser Substanzen verbunden mit einem hohen Anteil an „very poor responders“.^{41;96} Diese hohe Variabilität, die von einer nahezu kompletten bis zu einer fast vollständig fehlenden Hemmung der ADP-induzierten Plättchenaktivierung reicht, scheint primär eine Folge der unzureichenden Metabolisierung von Clopidogrel in aktive Metaboliten zu sein.^{40;41;85;104} Das Ausmaß der Hemmung der ADP-induzierten Plättchenaggregation durch Clopidogrel korreliert mit der metabolischen Aktivität des hepatischen Cytochrom P 450-Systems.^{41;104} Mögliche Mechanismen, die zu einer interindividuellen Variabilität in der Clopidogrelantwort führen können, sind in nachfolgender Abbildung 13 dargestellt.

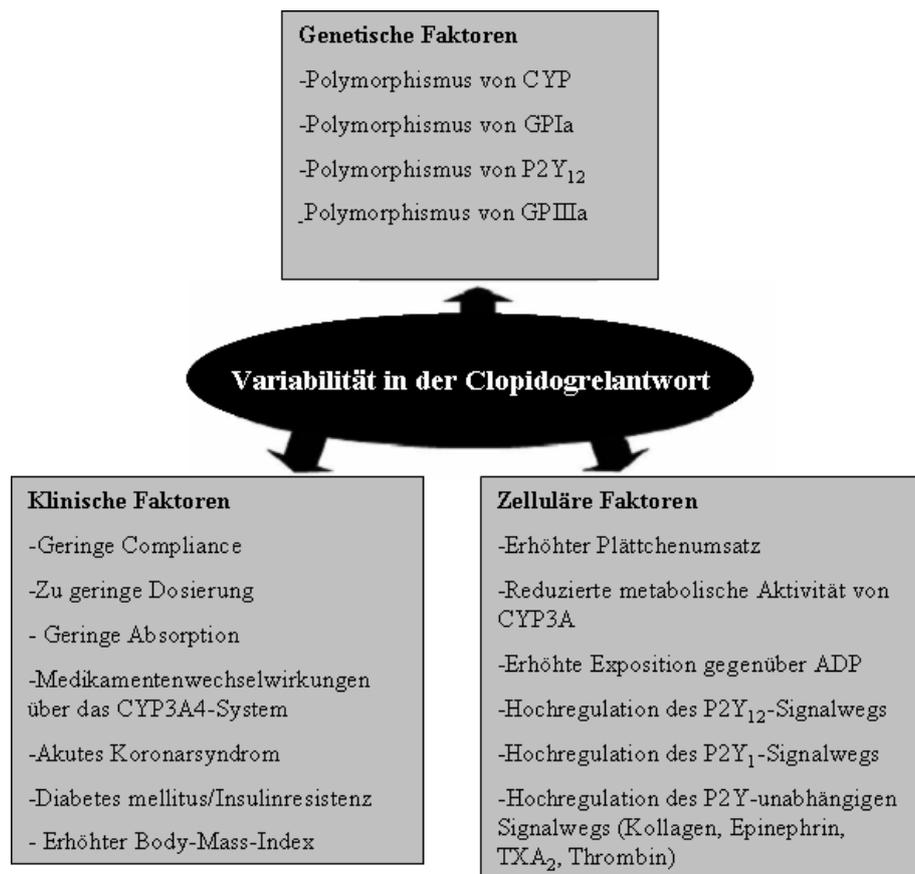


Abb. 13: Vorgeschlagene Mechanismen, die zur individuellen Variabilität in der Clopidogrelantwort führen. (nach Angiolillo, D.J. ⁴⁰)

Im Gegensatz zu einem verminderten Ansprechen auf die Clopidogreltherapie ist eine eingeschränkte Wirkung von Aspirin mit 1-2 % relativ selten und beruht zum größten Teil auf einer schlechten Compliance.^{41;107} Aber auch die verminderte Antwort auf Aspirin steht mit einem erhöhten Risiko für thrombotische Komplikationen im Zusammenhang.^{104;108}

Es wurde versucht die Variabilität unter der Clopidogreltherapie mit höheren Loading-beziehungweise Erhaltungsdosen zu überwinden. Bei Patienten mit Koronarer Herzerkrankung traten nach einer Loading-Dosis von 600 mg höhere Plasmakonzentrationen des aktiven Metaboliten, des Carboxylmetaboliten und von Clopidogrel auf verglichen mit einer Loading-Dosis von 300 mg.¹⁰² Zudem konnte eine stärkere und schnellere Hemmung der Plättchenaktivierung speziell der ADP-induzierten GPIIb/ IIIa-Aktivierung und der P-Selektinexpression innerhalb der ersten 48 Stunden nach der Stentimplantation erreicht

werden.¹⁰¹ Mit einer Verabreichung von 900 mg Clopidogrel konnte jedoch aufgrund der limitierten Clopidogrel-Absorption keine weitere Potenzierung der Clopidogreleffekte erzielt werden.^{101;102} Problematisch ist jedoch, dass eine Erhöhung der Loading- und/ oder der Erhaltungsdosis mit einem vermehrten zusätzlichen Blutungsrisiko assoziiert ist, und dass eine erhöhte Loading-Dosis nicht mit einer Reduktion der interindividuellen Variabilität in der Clopidogrel-vermittelten Plättcheninhibition im Zusammenhang steht.^{91;101;102}

Die interindividuelle Variabilität im Ansprechen auf die Clopidogrelbehandlung scheint zu einem beträchtlichen Teil dafür verantwortlich zu sein, dass bei 5-10 % der Patienten besonders in den ersten Monaten nach Implantation eines koronaren Stents trotz zweifacher antithrombozytärer Therapie mit Aspirin und Clopidogrel eine subakute Thrombose auftritt.⁹⁵

Eine weitere Studie ergab, dass Patienten, die einen koronaren Stent bei akutem ST-Hebungsinfarkt erhielten, und die nur unzureichend auf die Behandlung mit Clopidogrel ansprachen, mit einer Wahrscheinlichkeit von 40 % ein kardiovaskuläres Ereignis innerhalb von 6 Monaten nach Stentimplantation erlitten.⁶⁷

Besonders Diabetiker haben ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse nach Stentimplantation.^{68;70;71} Studien zeigten ein 1,6-2,2fach erhöhtes Restenoserisiko bei Vorliegen eines Diabetes mellitus verglichen mit dem Risiko von Nicht-Diabetikern.⁷¹ In der DIABETES (DIABETes and sirolimus Eluting Stent)-Studie hat sich die Implantation von Sirolimus-Eluting-Stents (SES) sowohl bei nicht-insulinpflichtigen als auch bei insulinpflichtigen Typ 2 Diabetikern als sicher und effizient in der Reduktion angiographischer und klinischer Restenoseparameter erwiesen verglichen mit Standard-Stents (Bare-Metal-Stents).^{68;70} Gemäß Protokoll wurden Glykoprotein IIb/ IIIa-Inhibitoren eingesetzt und eine einjährige antithrombozytäre Therapie mit Aspirin (100-300 mg) und Clopidogrel (Loading-Dosis 300 mg, dann 75 mg für 1 Jahr) durchgeführt.^{68;70} In diesem Zeitraum waren in der SES-Gruppe die Restenoserate und das Auftreten großer kardialer Ereignisse wie akuter Myokardinfarkt oder vaskulär bedingter Tod signifikant reduziert.⁷⁰

Da jedoch immer wieder von Stentthrombosen nach Implantation beschichteter Stents nach Ende der Clopidogrelbehandlung trotz Weiterführung einer Aspirinmonotherapie sowohl bei Diabetikern als auch bei Nicht-Diabetikern berichtet wird, ist eine suffiziente Hemmung der thrombozytären P2Y₁₂-Rezeptoren umso wichtiger.^{109;110} Obwohl DES (Drug-Eluting-Stents) die Restenoserate signifikant reduzieren, benötigen sie eine mehrmonatige zweifache

antithrombozytäre Therapie, um vor Stentthrombosen zu schützen.¹¹⁰ ACC (American College of Cardiology)/ AHA (American Heart Association)/ SCAI (Society for Cardiovascular Angiography and Interventions)-Richtlinien empfehlen (Klasse IB) die tägliche Gabe von 75 mg Clopidogrel für mindestens 4 Wochen nach BMS (Bare-Metal-Stent)-Implantation, für mindestens 3 Monate nach SES (Sirolimus-Eluting-Stent)-Implantation, für mindestens 6 Monate nach PES (Paclitaxel-Eluting-Stent)-Implantation und im Idealfall bis zu 12 Monate bei Patienten ohne hohes Blutungsrisiko.¹¹¹ Studien haben gezeigt, dass ein vorzeitiger Abbruch der Thienopyridintherapie ein äußerst wichtiger Risikofaktor für Stentthrombosen nach DES-Implantation ist.^{109;112;112}

Diabetes ist ein anderer unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten von Stentthrombosen.¹¹² Es wird angenommen, dass der mit der Diabeteserkrankung verbundene Anstieg proaggregatorischer und proinflammatorischer Mediatoren und Mechanismen, welche mit dem Prozess der Thrombusformation assoziiert sind, eine mögliche Erklärung für die erhöhte Stenoserate bei Diabetikern ist.⁶³

Es ist bekannt, dass elektives Stenting die Plättchenreaktivität erhöht.¹¹³ Eine erhöhte Plättchenreaktivität wurde als neuer Risikofaktor für ischämische Ereignisse nach PCI definiert.¹¹⁴ Es wurde gezeigt, dass Patienten, die trotz zweifacher antithrombozytärer Therapie ein kardiovaskuläres Ereignis innerhalb von 6 Monaten nach elektivem Stenting erlitten, eine höhere „post-stenting“ Plättchenreaktivität für ADP aufwiesen als Patienten ohne ischämisches Ereignis.¹¹⁴ Dies deutet darauf hin, dass eine insuffiziente Inhibierung des P2Y₁₂-Rezeptors unter Clopidogreltherapie und eine hohe Plättchenreaktivität nach Behandlung eine zentrale Rolle für das Auftreten (sub)akuter Stentthrombosen sowie ischämischer Ereignisse nach PCI spielen.⁹⁰ Aber auch die Plättchenreaktivität vor der Clopidogrelbehandlung spielt eine Rolle. Es ist erwiesen, dass Patienten, die für ein elektives koronares Stenting vorgesehen sind, und die sowohl eine erhöhte Plättchenreaktivität vor der Behandlung als auch eine erhöhte Variabilität in der Plättchenhemmung unter Clopidogreltherapie aufweisen, am wenigsten vor kardiovaskulären Ereignissen geschützt sind.^{96;105}

Besonders bei Diabetikern wird über eine erhöhte Plättchenreaktivität^{63;115} und über eine verminderte in vitro Antwort auf antithrombozytär wirksame Substanzen berichtet.¹¹⁶ Studien haben gezeigt, dass Typ 2 Diabetiker eine reduzierte Antwort auf P2Y₁₂-Rezeptorantagonisten wie beispielsweise Clopidogrel aufweisen.^{116;117}

Die Gruppe der Diabetiker ist durch eine Hochregulation des P2Y₁₂-Signalwegs charakterisiert.^{69;117} Die diabetischen Thrombozyten sind bekanntermaßen dem Phänomen der Insulinresistenz ausgesetzt, was zu einer verminderten Insulinsensitivität führt.^{5;20;69} Diese verminderte Sensitivität bewirkt die Hochregulation des P2Y₁₂-Signalwegs und die erhöhte Plättchenreaktivität bei Diabetikern.⁶⁹ Dies kann durch Gabe potenterer P2Y₁₂-Antagonisten oder durch höhere Clopidogreldosen überwunden werden.⁶⁹ Letzteres ist jedoch mit einem erhöhten Blutungsrisiko verbunden und klinische Studien zeigten, dass bei Hochrisikogruppen wie Typ 2 Diabetikern trotz höherer Clopidogrel-Erhaltungsdosen oftmals eine suboptimale antithrombozytäre Wirkung verbunden mit kardiovaskulären Komplikationen bestehen bleibt.^{69;114} Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 haben nach Revaskularisierungsverfahren schlechtere Langzeitergebnisse und höhere Restenoseraten als Nicht-Diabetiker.^{68;118} Nach einer PCI wird Diabetes mellitus zusammen mit anderen Faktoren, wie Länge oder Lage des Gefäßes, als ein unabhängiger Risikofaktor für eine Restenose angesehen.^{119;120}

Aufgrund des erhöhten Stenoserisikos bei Diabetikern mit Akutem Koronarsyndrom nach DES-Implantation^{63;115}, ist eine suffiziente Hemmung der thrombozytären P2Y₁₂-Rezeptoren mit neuen P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten, die eine geringere individuelle Variabilität in ihrem Wirkungsprofil aufweisen, klinisch essentiell. Denn gerade subakute Stentthrombosen stellen eine lebensbedrohliche Komplikation dar und sind mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität verbunden.¹²¹ Besonders bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 bleibt eine erhöhte Plättchenreaktivität trotz zweifacher antithrombozytärer Therapie vielfach bestehen.^{63;115} Dies macht diese Hochrisikogruppe zur Zielpopulation für die Entwicklung neuer, effizienter wirksamer antithrombozytärer Therapieregime.⁶⁹ AZD6140 ist eine erfolgversprechende Alternative zu Clopidogrel. Es benötigt keine metabolische Aktivierung^{77;78;84} und führt bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom zu einer schnelleren und effektiveren Hemmung der Thrombozytenfunktionen einschließlich der Thrombozytenreaktivität als Clopidogrel.¹⁰³ Studien haben gezeigt, dass Clopidogrel bei Diabetikern und/ oder Akutem Koronarsyndrom, beides Erkrankungen, die mit einer erhöhten Plättchenaktivierung assoziiert sind, eine weniger effiziente Wirkung aufweist.⁶⁷ Mit den neueren P2Y₁₂-Rezeptorantagonisten ist es pharmakologisch möglich, eine nahezu vollständige Hemmung der P2Y₁₂-vermittelten Thrombozytenaktivierung zu erreichen.⁹¹ Der schnelle Beginn und das rasche Ende der AZD6140-Wirkung macht diese Substanz attraktiv für den Einsatz bei

einer PCI, bei der eine maximale und schnelle Hemmung der ADP-induzierten Plättcheninhibition gewünscht ist.⁹⁰

Auch die Risikoreduktion von Stentthrombosen steht im allgemeinen Interesse. Studien mit P2Y₁₂-defizienten Mäusen haben die herausragende Rolle dieses Rezeptors in der Thrombusbildung und –stabilisierung bestätigt.¹²² In unserer Studie wurde gezeigt, dass AZD6140 die Plättchenadhäsion auf einer fibrinogenbeschichteten Membran bei arterieller Flussgeschwindigkeit signifikant verringert, was sich inhibitorisch auf den Prozess der Thrombusbildung auswirkt. Zudem beeinflussen die P2Y₁₂-Antagonisten atherogenetische und inflammatorische Prozesse maßgeblich.

4.4 Die P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten und ihre Auswirkungen auf atherogenetische und inflammatorische Prozesse

Atherosklerose ist eine multifaktorielle, systemische, inflammatorische Erkrankung, die durch Akkumulation von Monozyten/ Makrophagen und Lymphozyten in der Intima großer Arterien charakterisiert ist, und die von zirkulierenden Zellen inklusive der Thrombozyten beeinflusst wird.^{56;65;115} Es ist bekannt, dass die Thrombozyten eine zentrale Rolle bei der Atherogenese und bei thrombembolischen Komplikationen spielen.^{65;78;115}

Besonders bei Diabetikern findet man eine Reihe von Effekten, die die Plättchenfunktionen ungünstig beeinflussen, und die die Entwicklung einer Atherosklerose begünstigen.^{52;63;115} Bei Diabetikern ist von einem prothrombotischem und proinflammatorischem Status die Rede.⁶³ Hierzu tragen unter anderem eine erhöhte primäre und sekundäre Plättchenaggregation^{56;63;65}, eine gesteigerte systemische Thrombozytenaktivierung mit Freisetzung von in den α -Granula gespeicherten Substanzen^{78;93;115} sowie eine vermehrte Expression und Aktivierung des Plättchen-Glykoprotein Iib/ IIIa (GPIIb/ IIIa)-Komplexes bei.¹¹⁵ Die erhöhte Plättchenreaktivität und der proinflammatorische Status sind eine mögliche Erklärung, warum vor allem Diabetiker von einer antithrombozytären Therapie profitieren und warum sie ohne eine solche Therapie besonders anfällig für atherothrombotische Ereignisse sind.¹²³

In der gegenwärtigen Studie zeigt AZD6140 nicht nur einen akuten inhibitorischen Effekt auf die Plättchenaggregation, sondern auch auf die Plättchendegranulation und die

Plättchenadhäsion. Diese sind Mechanismen, die die Modulation inflammatorischer und atherogenetischer Prozesse beeinflussen.

Durch die Plättchenadhäsion an der Endotheloberfläche entstehen Signale, die ein Monozytenrekrutment zum Zeitpunkt der Plaqueformation bewirken.⁶⁵ Dies ist ein äußerst wichtiger Prozess für die Atherogenese.⁶⁵ Die Plättchen werden während der Adhäsion aktiviert, setzen proinflammatorische Zytokine und Chemokine, beispielsweise RANTES oder IL-1 β , frei⁶⁵ und exprimieren P-Selektin und CD40L (CD40 Ligand oder CD154), wobei letzteres ein Mitglied der TNF Familie ist.⁷⁸

Eine Blockade des thrombozytären P2Y₁₂-Rezeptors beugt der Plättchendegranulation und somit der Freisetzung prothrombotischer und inflammatorischer Mediatoren aus aktivierten Thrombozyten vor.^{40;63} Die chronischen Daten unserer Studie zeigen eine reduzierte Degranulation zirkulierender Plättchen gemessen an der P-Selektin-Oberflächenexpression und niedrigere Serumspiegel des proinflammatorischen Chemokins RANTES („regulated upon activation, normal T-cell expressed and –secreted“), das von aktivierten Plättchen sezerniert wird.

Mit Apolipoprotein E-defizienten (ApoE^{-/-}) Mäusen wurde gezeigt, dass eine P-Selektin-Reduktion der Entwicklung einer spontanen Atherosklerose sowie einer Neointimabildung und einem inflammatorischem Zellrekrutment entgegenwirkt.^{93;124}

Eine andere Studie mit ApoE^{-/-}-Mäusen berichtete, dass eine Hemmung der Plättchenadhäsion im initialen Stadium der Atherogenese die inflammatorische Zellakkumulation in der Intima der Gefäßwand abschwächt, was zu einer deutlichen Reduktion früher atherosklerotischer Läsionen führt.⁶⁵ Dies unterstreicht die wichtige Rolle der Thrombozyten beziehungsweise der Plättchen-Endothel-Adhäsion für atherogenetische Prozesse.

Untersuchungen stellten fest, dass die Freisetzung des Chemokins RANTES und der damit verbundene Monozytenarrest mit einer Intimahyperplasie in ApoE^{-/-}-Mäusen in Verbindung steht, und dass die Blockade des Rezeptors für RANTES einer neointimalen Formation und einer Makrophageninfiltration entgegenwirkt.⁹³

Studien belegten, dass P-Selektin für die Interaktionen aktivierter Thrombozyten mit atherosklerotischen Gefäßen sowie mit Leukozyten und Monozyten unerlässlich ist.⁵⁶ Die P-Selektin-vermittelten thrombozytären Interaktionen führen zu einer Freisetzung proinflammatorischer Faktoren sowie zur Aktivierung und zum Rekrutment von Monozyten.⁵⁶ Dies sind Prozesse, die die Exazerbation der Atherosklerose weiter vorantreiben.⁵⁶

Die Plättchendegranulation ist bei Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren mit einer atherosklerotischen Wandverdickung assoziiert.¹²⁵ Eine chronische Hemmung der systemischen Plättchenaktivierung verringert die Progression atherosklerotischer Läsionen in ApoE^{-/-}-Mäusen.⁶⁵ Bei Diabetikern ist die Plättchendegranulation nicht nur mit einer Gefäßwandverdickung assoziiert, sondern auch ein Risikofaktor für die Progression einer Atherosklerose.¹¹⁵ Die proatherosklerotischen Gefäßwandveränderungen bei Diabetikern sind unter anderem eine Erklärung für die Tatsache, dass Typ 2 Diabetiker, die noch keinen Myokardinfarkt erlitten haben und Nicht-Diabetiker, bei denen bereits ein Herzinfarkt aufgetreten ist, ein gleich hohes Infarktrisiko haben.²⁹

Da die Plättchenhyperaktivität mit dem Auftreten frühzeitiger kardialer Ereignisse und der Mortalität von Myokardinfarktpatienten im Zusammenhang steht^{64;66-68} und mehr Diabetiker an kardiovaskulären atherosklerotischen Ereignissen als an metabolischen Komplikationen der Erkrankung sterben^{50;68}, ist besonders bei diesen Patientengruppen eine adäquate antithrombozytäre Therapie notwendig. Aufgrund der Beteiligung des P2Y₁₂-Rezeptors sowohl an der Plättchenaggregation als auch an der Aktivierung multipler inflammatorischer und trophischer Prozesse, spielt dieser Rezeptor eine bedeutende Rolle in der Progression der Atherosklerose.⁷⁸ Die chronische Verabreichung von AZD6140 reduziert bei Diabetikern die Plättchenreaktivität. Da die Plättchenaktivierung bekanntermaßen einer der ersten Schritte in der Entwicklung der Atherosklerose ist^{38;65;78;115}, könnte sich die AZD6140-Gabe günstig auf atherogenetische und inflammatorische Prozesse insbesondere bei Diabetikern, die bekanntlich eine erhöhte Plättchenaktivierung aufweisen, auswirken.

4.5 Klinische Studien

Die Untersuchung der Effektivität des reversiblen P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten AZD6140 (Ticagrelor) ist Gegenstand aktueller Studien.

Die Phase-II-Studie DISPERSE (Dose Confirmation Study Assessing Anti-Platelet Effects of AZD6140 Versus Clopidogrel in NSTEMI) schloss insgesamt 200 Patienten mit atherosklerotischer Erkrankung ein.⁸⁹ AZD6140 bewirkte eine schnelle und umfassende Plättcheninhibition (> 90 %), wohingegen Clopidogrel nur mit einer etwa 60 %igen Plättchenhemmung assoziiert war.^{77;89} Die Behandlung mit AZD6140 wurde gut toleriert und zeigte eine schnelle, gleichmäßige und maximale Plättcheninhibition bei Patienten mit Atherosklerose.⁸⁹

Die DISPERSE-2-Studie umfasste 990 Patienten mit Nicht-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI). AZD6140 war mit einer verminderten Inzidenz eines Myokardinfarktes assoziiert (2.4 % versus 4.6 % bei Clopidogrel).⁸⁹ Dies deutet auf eine effizientere Hemmung der Thrombozytenfunktionen durch AZD6140 hin und bestätigt den Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der Plättcheninhibition und dem Auftreten eines Herzinfarktes.⁸⁹

Die Wirksamkeit, Sicherheit und Verträglichkeit von AZD6140 (Ticagrelor) wurde auch in der Phase-III-Studie PLATO (PLATelet Inhibition and Patient Outcomes) bei Patienten mit Akutem Koronarsyndrom in direktem Vergleich zu Clopidogrel untersucht. Diese internationale Studie beschäftigte sich mit der Annahme, dass die Plättchenfunktionen eine Schlüsselrolle für das Auftreten ischämischer Ereignisse nach einem Myokardinfarkt spielen.⁸⁹ Es wurde überprüft, ob Patienten mit Akutem Koronarsyndrom von der Gabe des neuen, oral verfügbaren P2Y₁₂-Inhibitors AZD6140 bezüglich des kombinierten Endpunkts Tod, Myokardinfarkt, Schlaganfall oder Reintervention innerhalb von 12 Monaten nach einem Akuten Koronarsyndrom profitieren.⁹⁴ Die Ergebnisse bestätigten eine signifikante Überlegenheit in der Wirksamkeit von Ticagrelor gegenüber Clopidogrel.^{94;99}

5 Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit beschreibt Untersuchungen über die Auswirkungen des P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten AZD6140 (Ticagrelor) auf die Plättchenfunktionen diabetischer Ratten. AZD6140 ist ein reversibler, direkter, potenter und oraler Inhibitor des P2Y₁₂-Rezeptors.

AZD6140 reduziert als Einzeldosis von 5 mg/kg Körpergewicht verabreicht die Empfindlichkeit der Plättchen hinsichtlich ADP schnell und reversibel. Zudem konnte bereits nach 30 Minuten eine signifikante Hemmung der Plättchenaggregation beobachtet werden. Auch die P-Selektin-Oberflächenexpression und die Plättchenadhäsion wurden nach Einmalgabe von AZD6140 signifikant reduziert.

Eine chronische Behandlung diabetischer Ratten mit AZD6140 reduzierte die Plättchenaktivierung in vivo und die Plättchenempfindlichkeit in vitro. Zudem verminderte der P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonist nach zweiwöchiger Verabreichung signifikant die Sekretion des pro-inflammatorischen Zytokins RANTES.

Der schnelle antithrombozytäre Effekt ist besonders bei Patienten, die für eine PCI vorgesehen sind, von Vorteil, da in solchen Situationen eine effektive, maximale, rasche und vorhersehbare Hemmung der ADP-induzierten Plättchenaggregation notwendig ist, um bessere klinische Ergebnisse erzielen zu können. Die reversible Wirkung von AZD6140 auf die thrombozytären Funktionen ist insbesondere bei vorbehandelten Patienten, die beispielsweise einen koronaren Bypass erhalten sollen, vorteilhaft, da in der Bypasschirurgie über exzessive Blutungsereignisse nach irreversibler antithrombozytärer Therapie berichtet wurde. Im Vergleich zu Clopidogrel ist die Behandlung mit diesem neuen P2Y₁₂-Antagonisten mit einer stärkeren Plättchenhemmung und einer geringeren Variabilität in der Antwort auf die Therapie verbunden. Eine interindividuelle Variabilität in der Wirksamkeit, wie sie bei Clopidogrel zu finden ist, korreliert mit einem erhöhten Risiko unerwünschter kardiovaskulärer Ereignisse, eine Tatsache, die sich besonders gravierend in kardiovaskulären Risikogruppen auswirkt.

AZD6140 zeigt eine bessere Wirksamkeit, einen schnelleren Beginn und ein rascheres Ende seiner Wirkung auf die Plättchenfunktionen sowie eine geringere Verlängerung der Blutungszeit im Vergleich zu Clopidogrel.

In klinischen Studien wurde das Wirkungsprofil von AZD6140 mit dem von Clopidogrel verglichen. Zuletzt wurde in der Phase III-Studie PLATO die signifikante Überlegenheit in der Wirksamkeit von AZD6140 gegenüber Clopidogrel bestätigt.

Literaturverzeichnis

1. Herold G. Endokrinologie. In: Innere Medizin. 2005.
2. Passa P. Diabetes trends in Europe. *Diabetes Metab Res Rev.* 2002;18 Suppl 3:S3-S8.
3. Longnecker MP, Daniels JL. Environmental contaminants as etiologic factors for diabetes. *Environ Health Perspect.* 2001;109 Suppl 6:871-876.
4. Mokdad AH, Ford ES, Bowman BA, Nelson DE, Engelgau MM, Vinicor F, Marks JS. Diabetes trends in the U.S.: 1990-1998. *Diabetes Care.* 2000;23:1278-1283.
5. Meigs JB. Epidemiology of the metabolic syndrome, 2002. *Am J Manag Care.* 2002;8:S283-S292.
6. Ogden CL, Yanovski SZ, Carroll MD, Flegal KM. The epidemiology of obesity. *Gastroenterology.* 2007;132:2087-2102.
7. Flegal KM, Carroll MD, Ogden CL, Johnson CL. Prevalence and trends in obesity among US adults, 1999-2000. *JAMA.* 2002;288:1723-1727.
8. Ogden CL, Flegal KM, Carroll MD, Johnson CL. Prevalence and trends in overweight among US children and adolescents, 1999-2000. *JAMA.* 2002;288:1728-1732.
9. Rennie KL, Jebb SA. Prevalence of obesity in Great Britain. *Obes Rev.* 2005;6:11-12.
10. Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: estimates and projections to the year 2010. *Diabet Med.* 1997;14 Suppl 5:S1-85.
11. Levy-Marchal C. [Evolution of the incidence of IDDM in childhood in France]. *Rev Epidemiol Sante Publique.* 1998;46:157-163.
12. Tuomilehto J, Karvonen M, Pitkaniemi J, Virtala E, Kohtamaki K, Toivanen L, Tuomilehto-Wolf E. Record-high incidence of Type I (insulin-dependent) diabetes

- mellitus in Finnish children. The Finnish Childhood Type I Diabetes Registry Group. *Diabetologia*. 1999;42:655-660.
13. Variation and trends in incidence of childhood diabetes in Europe. EURODIAB ACE Study Group. *Lancet*. 2000;355:873-876.
 14. Holstein A, Plaschke A, Egberts EH. Incidence and costs of severe hypoglycemia. *Diabetes Care*. 2002;25:2109-2110.
 15. Finkelstein EA, Fiebelkorn IC, Wang G. National medical spending attributable to overweight and obesity: how much, and who's paying? *Health Aff (Millwood)*. 2003;Suppl Web Exclusives:W3-26.
 16. Kapur A. Economic analysis of diabetes care. *Indian J Med Res*. 2007;125:473-482.
 17. Lucioni C, Garancini MP, Massi-Benedetti M, Mazzi S, Serra G. The costs of type 2 diabetes mellitus in Italy: a CODE-2 sub-study. *Treat Endocrinol*. 2003;2:121-133.
 18. Himsworth HP. The syndrome of diabetes mellitus and its causes. *Lancet*. 1949;1:465-473.
 19. Bronstein J, Lawrence RD. Two types of diabetes mellitus, with and without available plasma insulin. *Br Med J*. 1951;1:732-734.
 20. Nigro J, Osman N, Dart AM, Little PJ. Insulin resistance and atherosclerosis. *Endocr Rev*. 2006;27:242-259.
 21. Colman PG, Thomas DW, Zimmet PZ, Welborn TA, Garcia-Webb P, Moore MP. New classification and criteria for diagnosis of diabetes mellitus. Position Statement from the Australian Diabetes Society, New Zealand Society for the Study of Diabetes, Royal College of Pathologists of Australasia and Australasian Association of Clinical Biochemists. *Med J Aust*. 1999;170:375-378.
 22. Wareham NJ, O'Rahilly S. The changing classification and diagnosis of diabetes. New classification is based on pathogenesis, not insulin dependence. *BMJ*. 1998;317:359-360.

23. Barnett AH, Eff C, Leslie RD, Pyke DA. Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. *Diabetologia*. 1981;20:87-93.
24. Kaprio J, Tuomilehto J, Koskenvuo M, Romanov K, Reunanen A, Eriksson J, Stengard J, Kesaniemi YA. Concordance for type 1 (insulin-dependent) and type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus in a population-based cohort of twins in Finland. *Diabetologia*. 1992;35:1060-1067.
25. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J. The metabolic syndrome--a new worldwide definition. *Lancet*. 2005;366:1059-1062.
26. Salonen JT, Lakka TA, Lakka HM, Valkonen VP, Everson SA, Kaplan GA. Hyperinsulinemia is associated with the incidence of hypertension and dyslipidemia in middle-aged men. *Diabetes*. 1998;47:270-275.
27. Ridker PM, Wilson PW, Grundy SM. Should C-reactive protein be added to metabolic syndrome and to assessment of global cardiovascular risk? *Circulation*. 2004;109:2818-2825.
28. Kannel WB, Dawber TR, Kagan A, Revotskie N, Stokes J, III. Factors of risk in the development of coronary heart disease--six year follow-up experience. The Framingham Study. *Ann Intern Med*. 1961;55:33-50.
29. Haffner SM, Lehto S, Ronnema T, Pyorala K, Laakso M. Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. *N Engl J Med*. 1998;339:229-234.
30. Abbott RD, Donahue RP, Kannel WB, Wilson PW. The impact of diabetes on survival following myocardial infarction in men vs women. The Framingham Study. *JAMA*. 1988;260:3456-3460.
31. Miettinen H, Lehto S, Salomaa V, Mahonen M, Niemela M, Haffner SM, Pyorala K, Tuomilehto J. Impact of diabetes on mortality after the first myocardial infarction. The FINMONICA Myocardial Infarction Register Study Group. *Diabetes Care*. 1998;21:69-75.

32. Wilson PW, Castelli WP, Kannel WB. Coronary risk prediction in adults (the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol.* 1987;59:91G-94G.
33. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation.* 1998;97:1837-1847.
34. Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2002;347:1557-1565.
35. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation.* 2003;107:363-369.
36. Britten MB, Zeiher AM, Schachinger V. Clinical importance of coronary endothelial vasodilator dysfunction and therapeutic options. *J Intern Med.* 1999;245:315-327.
37. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S. Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine. *Nature.* 1988;333:664-666.
38. Schafer A, Bauersachs J. Endothelial dysfunction, impaired endogenous platelet inhibition and platelet activation in diabetes and atherosclerosis. *Curr Vasc Pharmacol.* 2008;6:52-60.
39. Cheng Y, Austin SC, Rocca B, Koller BH, Coffman TM, Grosser T, Lawson JA, FitzGerald GA. Role of prostacyclin in the cardiovascular response to thromboxane A₂. *Science.* 2002;296:539-541.
40. Angiolillo DJ, Guzman LA, Bass TA. Current antiplatelet therapies: benefits and limitations. *Am Heart J.* 2008;156:S3-S9.
41. Cattaneo M. Resistance to antiplatelet drugs: molecular mechanisms and laboratory detection. *J Thromb Haemost.* 2007;5 Suppl 1:230-237.
42. Antl M, von Bruhl ML, Eiglsperger C, Werner M, Konrad I, Kocher T, Wilm M, Hofmann F, Massberg S, Schlossmann J. IRAG mediates NO/cGMP-dependent inhibition of platelet aggregation and thrombus formation. *Blood.* 2007;109:552-559.

43. Murad F. Shattuck Lecture. Nitric oxide and cyclic GMP in cell signaling and drug development. *N Engl J Med.* 2006;355:2003-2011.
44. Eigenthaler M, Nolte C, Halbrugge M, Walter U. Concentration and regulation of cyclic nucleotides, cyclic-nucleotide-dependent protein kinases and one of their major substrates in human platelets. Estimating the rate of cAMP-regulated and cGMP-regulated protein phosphorylation in intact cells. *Eur J Biochem.* 1992;205:471-481.
45. Massberg S, Gruner S, Konrad I, Garcia Arguinzonis MI, Eigenthaler M, Hemler K, Kersting J, Schulz C, Muller I, Besta F, Nieswandt B, Heinzmann U, Walter U, Gawaz M. Enhanced in vivo platelet adhesion in vasodilator-stimulated phosphoprotein (VASP)-deficient mice. *Blood.* 2004;103:136-142.
46. Schwarz UR, Walter U, Eigenthaler M. Taming platelets with cyclic nucleotides. *Biochem Pharmacol.* 2001;62:1153-1161.
47. Cooke JP, Rossitch E Jr, Andon NA, Loscalzo J, Dzau VJ. Flow activates an endothelial potassium channel to release an endogenous nitrovasodilator. *J Clin Invest.* 1991;88:1663-1671.
48. Han SH, Quon MJ, Kim JA, Koh KK. Adiponectin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49:531-538.
49. Schafer A, Alp NJ, Cai S, Lygate CA, Neubauer S, Eigenthaler M, Bauersachs J, Channon KM. Reduced vascular NO bioavailability in diabetes increases platelet activation in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1720-1726.
50. Schafer A, Flierl U, Kobsar A, Eigenthaler M, Ertl G, Bauersachs J. Soluble guanylyl cyclase activation with HMR1766 attenuates platelet activation in diabetic rats. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:2813-2818.
51. Bauersachs J, Schafer A. Tetrahydrobiopterin and eNOS dimer/monomer ratio--a clue to eNOS uncoupling in diabetes? *Cardiovasc Res.* 2005;65:768-769.
52. McNeill AM, Rosamond WD, Girman CJ, Heiss G, Golden SH, Duncan BB, East HE, Ballantyne C. Prevalence of coronary heart disease and carotid arterial

- thickening in patients with the metabolic syndrome (The ARIC Study). *Am J Cardiol.* 2004;94:1249-1254.
53. Stary HC, Chandler AB, Glagov S, Guyton JR, Insull W, Jr., Rosenfeld ME, Schaffer SA, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of initial, fatty streak, and intermediate lesions of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation.* 1994;89:2462-2478.
54. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (second of two parts). *N Engl J Med.* 1976;295:420-425.
55. Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (first of two parts). *N Engl J Med.* 1976;295:369-377.
56. Huo Y, Schober A, Forlow SB, Smith DF, Hyman MC, Jung S, Littman DR, Weber C, Ley K. Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E. *Nat Med.* 2003;9:61-67.
57. Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1995;15:551-561.
58. Williams KJ, Tabas I. The response-to-retention hypothesis of atherogenesis reinforced. *Curr Opin Lipidol.* 1998;9:471-474.
59. Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet.* 1994;344:793-795.
60. Bastard JP, Pieroni L, Hainque B. Relationship between plasma plasminogen activator inhibitor 1 and insulin resistance. *Diabetes Metab Res Rev.* 2000;16:192-201.
61. Wight TN, Merrilees MJ. Proteoglycans in atherosclerosis and restenosis: key roles for versican. *Circ Res.* 2004;94:1158-1167.
62. Shankar RR, Wu Y, Shen HQ, Zhu JS, Baron AD. Mice with gene disruption of both endothelial and neuronal nitric oxide synthase exhibit insulin resistance. *Diabetes.* 2000;49:684-687.

63. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Jimenez-Quevedo P, Hernandez R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Banuelos C, Costa MA, Bass TA, Macaya C. Clopidogrel withdrawal is associated with proinflammatory and prothrombotic effects in patients with diabetes and coronary artery disease. *Diabetes*. 2006;55:780-784.
64. Knobler H, Savion N, Shenkman B, Kotev-Emeth S, Varon D. Shear-induced platelet adhesion and aggregation on subendothelium are increased in diabetic patients. *Thromb Res*. 1998;90:181-190.
65. Massberg S, Brand K, Gruner S, Page S, Muller E, Muller I, Bergmeier W, Richter T, Lorenz M, Konrad I, Nieswandt B, Gawaz M. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med*. 2002;196:887-896.
66. Stone KE, Chiquette E, Chilton RJ. Diabetic endovascular disease: role of coronary artery revascularization. *Am J Cardiol*. 2007;99:105B-112B.
67. Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Bienart R, Goldenberg I, Novikov I, Pres H, Savion N, Varon D, Hod H. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2004;109:3171-3175.
68. Sabate M, Jimenez-Quevedo P, Angiolillo DJ, Gomez-Hospital JA, Alfonso F, Hernandez-Antolin R, Goicolea J, Banuelos C, Escaned J, Moreno R, Fernandez C, Fernandez-Aviles F, Macaya C. Randomized comparison of sirolimus-eluting stent versus standard stent for percutaneous coronary revascularization in diabetic patients: the diabetes and sirolimus-eluting stent (DIABETES) trial. *Circulation*. 2005;112:2175-2183.
69. Angiolillo DJ, Shoemaker SB, Desai B, Yuan H, Charlton RK, Bernardo E, Zenni MM, Guzman LA, Bass TA, Costa MA. Randomized comparison of a high clopidogrel maintenance dose in patients with diabetes mellitus and coronary artery disease: results of the Optimizing Antiplatelet Therapy in Diabetes Mellitus (OPTIMUS) study. *Circulation*. 2007;115:708-716.
70. Jimenez-Quevedo P, Sabate M, Angiolillo DJ, Alfonso F, Hernandez-Antolin R, Gomez-Hospital JA, Sanmartin M, Banuelos C, Moreno R, Escaned J, Fernandez C,

- Costa MA, Fernandez-Aviles F, Macaya C. [Efficacy of sirolimus-eluting stent implantation in diabetic patients with very small vessels (< or = 2.25 mm). Insights from the DIABETES trial]. *Rev Esp Cardiol.* 2006;59:1000-1007.
71. Airoidi F, Briguori C, Iakovou I, Stankovic G, Biondi-Zoccai G, Carlino M, Chieffo A, Montorfano M, Cosgrave J, Michev I, Rogacka R, Sangiorgi GM, Colombo A. Comparison of sirolimus versus paclitaxel eluting stents for treatment of coronary in-stent restenosis. *Am J Cardiol.* 2006;97:1182-1187.
72. Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban HE, Perin M, Colombo A, Schuler G, Barragan P, Guagliumi G, Molnar F, Falotico R. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N Engl J Med.* 2002;346:1773-1780.
73. Schofer J, Schluter M, Gershlick AH, Wijns W, Garcia E, Schampaert E, Breithardt G. Sirolimus-eluting stents for treatment of patients with long atherosclerotic lesions in small coronary arteries: double-blind, randomised controlled trial (E-SIRIUS). *Lancet.* 2003;362:1093-1099.
74. Ortolani P, Ardissino D, Cavallini C, Bramucci E, Indolfi C, Aquilina M, Marzocchi A. Effect of sirolimus-eluting stent in diabetic patients with small coronary arteries (a SES-SMART substudy). *Am J Cardiol.* 2005;96:1393-1398.
75. Cin VG, Pekdemir H, Akkus MN, Camsari A, Doven O, Yenihan S. Cutting balloon angioplasty for the treatment of in-stent restenosis in diabetics: A matched comparison of 6 months' outcome with conventional balloon angioplasty. *Angiology.* 2006;57:445-452.
76. Cattaneo M, Gachet C. ADP receptors and clinical bleeding disorders. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999;19:2281-2285.
77. Cattaneo M. P2Y12 receptor antagonists: a rapidly expanding group of antiplatelet agents. *Eur Heart J.* 2006;27:1010-1012.
78. Gachet C. Regulation of platelet functions by P2 receptors. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* 2006;46:277-300.

79. Cattaneo M. ADP receptors: inhibitory strategies for antiplatelet therapy. *Drug News Perspect.* 2006;19:253-259.
80. Cattaneo M. Platelet P2 receptors: old and new targets for antithrombotic drugs. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2007;5:45-55.
81. Cattaneo M, Gachet C. The platelet ADP receptors. *Haematologica.* 2001;86:346-348.
82. Gachet C. Identification, characterization, and inhibition of the platelet ADP receptors. *Int J Hematol.* 2001;74:375-381.
83. Hechler B, Cattaneo M, Gachet C. The P2 receptors in platelet function. *Semin Thromb Hemost.* 2005;31:150-161.
84. Gachet C. The platelet P2 receptors as molecular targets for old and new antiplatelet drugs. *Pharmacol Ther.* 2005;108:180-192.
85. Cattaneo M. Aspirin and clopidogrel: efficacy, safety, and the issue of drug resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24:1980-1987.
86. Grossmann R, Sokolova O, Schnurr A, Bonz A, Porsche C, Obergfell A, Lengenfelder B, Walter U, Eigenthaler M. Variable extent of clopidogrel responsiveness in patients after coronary stenting. *Thromb Haemost.* 2004;92:1201-1206.
87. Husted S, Emanuelsson H, Heptinstall S, Sandset PM, Wickens M, Peters G. Pharmacodynamics, pharmacokinetics, and safety of the oral reversible P2Y₁₂ antagonist AZD6140 with aspirin in patients with atherosclerosis: a double-blind comparison to clopidogrel with aspirin. *Eur Heart J.* 2006;27:1038-1047.
88. Patrono C, Bachmann F, Baigent C, Bode C, De Caterina R, Charbonnier B, Fitzgerald D, Hirsh J, Husted S, Kvasnicka J, Montalescot G, Garcia Rodriguez LA, Verheugt F, Vermylen J, Wallentin L, Priori SG, Alonso Garcia MA, Blanc JJ, Budaj A, Cowie M, Dean V, Deckers J, Fernandez BE, Lekakis J, Lindahl B, Mazzotta G, Morais J, Oto A, Smiseth OA, Morais J, Deckers J, Ferreira R, Mazzotta G, Steg PG, Teixeira F, Wilcox R. Expert consensus document on the use of antiplatelet agents.

- The task force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the European society of cardiology. *Eur Heart J.* 2004;25:166-181.
89. Tantry US, Bliden KP, Gurbel PA. AZD6140. *Expert Opin Investig Drugs.* 2007;16:225-229.
90. Gurbel PA, Tantry US. Aspirin and clopidogrel resistance: consideration and management. *J Interv Cardiol.* 2006;19:439-448.
91. Schafer A, Bauersachs J, Eigenthaler M. [Clopidogrel - clinical use and potential therapeutic problems.]. *Herz.* 2008;33:280-286.
92. Niitsu Y, Jakubowski JA, Sugidachi A, Asai F. Pharmacology of CS-747 (prasugrel, LY640315), a novel, potent antiplatelet agent with in vivo P2Y₁₂ receptor antagonist activity. *Semin Thromb Hemost.* 2005;31:184-194.
93. Schober A, Manka D, von Hundelshausen P, Huo Y, Hanrath P, Sarembock IJ, Ley K, Weber C. Deposition of platelet RANTES triggering monocyte recruitment requires P-selectin and is involved in neointima formation after arterial injury. *Circulation.* 2002;106:1523-1529.
94. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, Horrow J, Husted S, James S, Katus H, Mahaffey KW, Scirica BM, Skene A, Steg PG, Storey RF, Harrington RA, Freij A, Thorsen M. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2009;361:1045-1057.
95. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet.* 1996;348:1329-1339.
96. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation.* 2003;107:2908-2913.
97. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, Neumann FJ, Ardissino D, De Servi S, Murphy SA, Riesmeyer J, Weerakkody G,

- Gibson CM, Antman EM. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2007;357:2001-2015.
98. Wiviott SD, Braunwald E, Angiolillo DJ, Meisel S, Dalby AJ, Verheugt FW, Goodman SG, Corbalan R, Purdy DA, Murphy SA, McCabe CH, Antman EM. Greater clinical benefit of more intensive oral antiplatelet therapy with prasugrel in patients with diabetes mellitus in the trial to assess improvement in therapeutic outcomes by optimizing platelet inhibition with prasugrel-Thrombolysis in Myocardial Infarction 38. *Circulation.* 2008;118:1626-1636.
99. Schomig A. Ticagrelor--is there need for a new player in the antiplatelet-therapy field? *N Engl J Med.* 2009;361:1108-1111.
100. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Alfonso F, Macaya C, Bass TA, Costa MA. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives. *J Am Coll Cardiol.* 2007;49:1505-1516.
101. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Banuelos C, Hernandez-Antolin R, Escaned J, Moreno R, Alfonso F, Macaya C. High clopidogrel loading dose during coronary stenting: effects on drug response and interindividual variability. *Eur Heart J.* 2004;25:1903-1910.
102. von Beckerath N, Taubert D, Pogatsa-Murray G, Schomig E, Kastrati A, Schomig A. Absorption, metabolization, and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: results of the ISAR-CHOICE (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect) Trial. *Circulation.* 2005;112:2946-2950.
103. Storey RF, Husted S, Harrington RA, Heptinstall S, Wilcox RG, Peters G, Wickens M, Emanuelsson H, Gurbel P, Grande P, Cannon CP. Inhibition of platelet aggregation by AZD6140, a reversible oral P2Y₁₂ receptor antagonist, compared with clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:1852-1856.

104. Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB, Neer CJ, Hopp AS, Carville DG, Guyer KE, Tait AR, Bates ER. Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance. *Circulation*. 2004;109:166-171.
105. Berry C, Tardif JC, Bourassa MG. Coronary heart disease in patients with diabetes: part II: recent advances in coronary revascularization. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:643-656.
106. Gurbel PA, Bliden KP, Samara W, Yoho JA, Hayes K, Fissaha MZ, Tantry US. Clopidogrel effect on platelet reactivity in patients with stent thrombosis: results of the CREST Study. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46:1827-1832.
107. Frelinger AL, III, Furman MI, Linden MD, Li Y, Fox ML, Barnard MR, Michelson AD. Residual arachidonic acid-induced platelet activation via an adenosine diphosphate-dependent but cyclooxygenase-1- and cyclooxygenase-2-independent pathway: a 700-patient study of aspirin resistance. *Circulation*. 2006;113:2888-2896.
108. Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation*. 2002;105:1650-1655.
109. Jeremias A, Sylvia B, Bridges J, Kirtane AJ, Bigelow B, Pinto DS, Ho KK, Cohen DJ, Garcia LA, Cutlip DE, Carrozza JP, Jr. Stent thrombosis after successful sirolimus-eluting stent implantation. *Circulation*. 2004;109:1930-1932.
110. Spertus JA, Kettelkamp R, Vance C, Decker C, Jones PG, Rumsfeld JS, Messenger JC, Khanal S, Peterson ED, Bach RG, Krumholz HM, Cohen DJ. Prevalence, predictors, and outcomes of premature discontinuation of thienopyridine therapy after drug-eluting stent placement: results from the PREMIER registry. *Circulation*. 2006;113:2803-2809.
111. Smith SC, Jr., Feldman TE, Hirshfeld JW, Jr., Jacobs AK, Kern MJ, King SB, III, Morrison DA, O'Neill WW, Schaff HV, Whitlow PL, Williams DO, Antman EM, Smith SC, Jr., Adams CD, Anderson JL, Faxon DP, Fuster V, Halperin JL, Hiratzka LF, Hunt SA, Jacobs AK, Nishimura R, Ornato JP, Page RL, Riegel B. ACC/AHA/SCAI 2005 guideline update for percutaneous coronary intervention--

- summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (ACC/AHA/SCAI Writing Committee to update the 2001 Guidelines for Percutaneous Coronary Intervention). *Catheter Cardiovasc Interv.* 2006;67:87-112.
112. Iakovou I, Schmidt T, Bonizzoni E, Ge L, Sangiorgi GM, Stankovic G, Airolidi F, Chieffo A, Montorfano M, Carlino M, Michev I, Corvaja N, Briguori C, Gerckens U, Grube E, Colombo A. Incidence, predictors, and outcome of thrombosis after successful implantation of drug-eluting stents. *JAMA.* 2005;293:2126-2130.
113. Gurbel PA, Cummings CC, Bell CR, Alford AB, Meister AF, Serebruany VL. Onset and extent of platelet inhibition by clopidogrel loading in patients undergoing elective coronary stenting: the Plavix Reduction Of New Thrombus Occurrence (PRONTO) trial. *Am Heart J.* 2003;145:239-247.
114. Gurbel PA, Bliden KP, Guyer K, Cho PW, Zaman KA, Kreutz RP, Bassi AK, Tantry US. Platelet reactivity in patients and recurrent events post-stenting: results of the PREPARE POST-STENTING Study. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:1820-1826.
115. Fateh-Moghadam S, Li Z, Ersel S, Reuter T, Htun P, Plockinger U, Bocksch W, Dietz R, Gawaz M. Platelet degranulation is associated with progression of intima-media thickness of the common carotid artery in patients with diabetes mellitus type 2. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005;25:1299-1303.
116. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramirez C, Sabate M, Jimenez-Quevedo P, Hernandez R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Banuelos C, Costa MA, Bass TA, Macaya C. Platelet function profiles in patients with type 2 diabetes and coronary artery disease on combined aspirin and clopidogrel treatment. *Diabetes.* 2005;54:2430-2435.
117. Ferreira IA, Mocking AI, Feijge MA, Gorter G, van Haeften TW, Heemskerk JW, Akkerman JW. Platelet inhibition by insulin is absent in type 2 diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26:417-422.
118. Stein B, Weintraub WS, Gebhart SP, Cohen-Bernstein CL, Grosswald R, Liberman HA, Douglas JS, Jr., Morris DC, King SB, III. Influence of diabetes mellitus on early

- and late outcome after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Circulation*. 1995;91:979-989.
119. Bauters C, Hubert E, Prat A, Bougrimi K, Van Belle E, McFadden EP, Amouyel P, Lablanche JM, Bertrand M. Predictors of restenosis after coronary stent implantation. *J Am Coll Cardiol*. 1998;31:1291-1298.
120. Kastrati A, Schomig A, Elezi S, Schuhlen H, Dirschinger J, Hadamitzky M, Wehinger A, Hausleiter J, Walter H, Neumann FJ. Predictive factors of restenosis after coronary stent placement. *J Am Coll Cardiol*. 1997;30:1428-1436.
121. Muller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schonig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost*. 2003;89:783-787.
122. Foster CJ, Prosser DM, Agans JM, Zhai Y, Smith MD, Lachowicz JE, Zhang FL, Gustafson E, Monsma FJ, Jr., Wiekowski MT, Abbondanzo SJ, Cook DN, Bayne ML, Lira SA, Chintala MS. Molecular identification and characterization of the platelet ADP receptor targeted by thienopyridine antithrombotic drugs. *J Clin Invest*. 2001;107:1591-1598.
123. Colwell JA, Nesto RW. The platelet in diabetes: focus on prevention of ischemic events. *Diabetes Care*. 2003;26:2181-2188.
124. Collins RG, Velji R, Guevara NV, Hicks MJ, Chan L, Beaudet AL. P-Selectin or intercellular adhesion molecule (ICAM)-1 deficiency substantially protects against atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *J Exp Med*. 2000;191:189-194.
125. Koyama H, Maeno T, Fukumoto S, Shoji T, Yamane T, Yokoyama H, Emoto M, Shoji T, Tahara H, Inaba M, Hino M, Shioi A, Miki T, Nishizawa Y. Platelet P-selectin expression is associated with atherosclerotic wall thickness in carotid artery in humans. *Circulation*. 2003;108:524-529.

Abbildungsverzeichnis

| | |
|--|----|
| Abb. 1: Prävalenz des metabolischen Syndroms..... | 2 |
| Abb. 2: Veränderungen in der Verteilung des BMI zwischen 1976-1980 und 1999-2004 in den Vereinigten Staaten..... | 3 |
| Abb. 3: Verteilung der direkten Kosten in der Versorgung diabetischer Patienten (nach Kapur, A. ¹⁶)..... | 7 |
| Abb. 4: Schematische Darstellung der NO- und PGI ₂ -vermittelten Reaktionen | 12 |
| Abb. 5: A) – D) Inhibition der ADP-induzierten maximalen Plättchenaggregation (Agg _{max}) in plättchenreichem Plasma (PRP) diabetischer Ratten. | 29 |
| Abb. 6: A) – D) Inhibition der ADP-induzierten P-Selektin (CD62P)-Oberflächenexpression in plättchenreichem Plasma (PRP) diabetischer Ratten, denen eine Einzeldosis AZD6140 (5 mg/ kg Körpergewicht) verabreicht wurde..... | 30 |
| Abb. 7: Inhibition der ADP-induzierten Plättchenadhäsion an einer fibrinogenbeschichteten Membran in der Flusskammer..... | 31 |
| Abb. 8: Die P-Selektin-Expression (CD62P) auf der Oberfläche unstimulierter zirkulierender Plättchen diabetischer Ratten bei chronischer Behandlung mit AZD6140 (10 mg/ kg Körpergewicht)..... | 33 |
| Abb. 9: Die Plättchenreaktivität nach chronischer Behandlung mit AZD6140 gemessen an der ADP-induzierten P-Selektin-Oberflächenexpression in plättchenreichem Plasma. | 34 |
| Abb. 10: Inhibition der ADP-induzierten Plättchenaggregation in plättchenreichem Plasma (PRP) diabetischer Ratten, die über 2 Wochen AZD6140 (10 mg/ kg Körpergewicht) beziehungsweise Clopidogrel (5 mg/ kg Körpergewicht) erhielten..... | 35 |
| Abb. 11: Chronische Inhibition der ADP-induzierten Plättchenadhäsion an einer fibrinogenbeschichteten Membran in der Flusskammer. | 36 |
| Abb. 12: Schematische Darstellung der Wirkungsweise der P2-Rezeptoren. | 37 |
| Abb. 13: Vorgeschlagene Mechanismen, die zur individuellen Variabilität in der Clopidogrelantwort führen. (nach Angiolillo, D.J. ⁴⁰) | 44 |

Tabellenverzeichnis

| | |
|--|----|
| Tab. 1: Schätzungen und Hochrechnungen der Prävalenz des Typ 1 Diabetes in Europa 1995-2010 (nach Passa, P. ²) | 4 |
| Tab. 2: Schätzungen und Hochrechnungen der Prävalenz des Typ 2 Diabetes in Europa 1995-2010 (nach Passa, P. ²) | 4 |
| Tab. 3: Deskriptive Parameter der diabetischen Ratten, die mit einer Einzeldosis (5 mg/ kg Körpergewicht) des P2Y ₁₂ -Rezeptor-Antagonisten AZD6140 behandelt wurden (n=5 für jeden Zeitpunkt)..... | 25 |
| Tab. 4: Deskriptive Parameter der diabetischen Ratten, die mit AZD6140 (10 mg/ kg) oder mit einem Placebo über 2 Wochen behandelt wurden | 27 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|---------------------|---|
| °C | Grad Celsius |
| AC | Adenylatecyclase |
| ACC | engl. <i>American College of Cardiology</i> |
| ADP | Adenosindiphosphat |
| Agg _{max} | maximale Aggregation |
| AHA | engl. <i>American Heart Association</i> |
| ApoE ^{-/-} | Apolipoprotein E-defizient |
| ASS | Acetylsalicylsäure |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| AZD6140 | Ticagrelor |
| BMI | Body-Mass-Index |
| BMS | engl. <i>Bare-Metal-Stent</i> |
| BSA | engl. <i>Bovine Serum Albumin</i> |
| Ca ²⁺ | Kalzium |
| cAK | cAMP-abhängige Kinase |
| cAMP | zyklisches Adenosinmonophosphat |
| CaCl ₂ | Kalziumchlorid |
| CD40 | engl. <i>Cluster of Differentiation</i> |
| CD40L | CD40 Ligand |
| CD62P | P-Selektin |
| cGK | cGMP-abhängige Kinase |
| cGMP | zyklisches Guanosinmonophosphat |
| CMV | Zytomegalievirus |
| COX-1 | Cyclooxygenase-1 |
| COX-2 | Cyclooxygenase-2 |
| CVD | engl. <i>Coronary Vascular Disease</i> |
| CYP | Cytochrome P450 |
| DES | engl. <i>Drug-Eluting-Stent</i> |
| dl | Deziliter |
| ec-NOS | NO-Synthase |
| EDTA | Ethylendiamintetraessigsäure |

| | |
|----------------------------------|--|
| ELISA | engl. <i>Enzyme-linked Immunosorbent Assay</i> |
| eNOS | endotheliale NO-Synthase |
| FITC | Fluoresceinisothiocyanat |
| fl | Femtoliter |
| g | Gramm |
| GP | Glykoprotein |
| GPIIb/ IIIa | Glykoprotein IIb/ IIIa-Komplex |
| GTP | Guanosintriphosphat |
| h | Stunde |
| HEPES | 2-(4-(2-Hydroxyethyl)-1-piperazinyl)-ethansulfonsäure |
| HDL | engl. <i>High Density Lipoprotein</i> |
| HLA | engl. <i>Human Leukocyte Antigen</i> |
| hs-CRP | engl. <i>high-sensitivity C-reactive protein</i> |
| IDF | engl. <i>International Diabetes Federation</i> |
| IL-1 β | Interleukin-1 β |
| INR | Indische Rupie |
| IPR | Isoprostanrezeptor |
| IRAG | Inositol-1,4,5-triphosphate receptor I-associated protein |
| KCl | Kaliumchlorid |
| kg | Kilogramm |
| l | Liter |
| LDL | engl. <i>Low Density Lipoprotein</i> |
| mg | Milligramm |
| MgCl ₂ | Magnesiumchlorid |
| MI | Myokardinfarkt |
| ml | Milliliter |
| mmol | Millimol |
| NaCl | Natriumchlorid |
| NaHCO ₃ | Natriumhydrogenkarbonat |
| NaH ₂ PO ₄ | Natriumhydrogenphosphat |
| NCEP ATP III | engl. <i>National Cholesterol Education Program, Adult Treatment Panel III</i> |
| ng | Nanogramm |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| NSTEMI | Nicht-ST-Hebungsinfarkt |

| | |
|------------------|---|
| ox-LDL | oxidiertes <i>Low Density Lipoprotein</i> |
| ox-sGC | oxidierte NO-sensitive lösliche Guanylylcyclase |
| PAI-1 | Plasminogen Activator Inhibitor-1 |
| PBS | engl. <i>Phosphate Buffered Saline</i> |
| PCI | engl. <i>Percutaneous Coronary Intervention</i> |
| PES | engl. <i>Paclitaxel-Eluting-Stent</i> |
| PGE ₁ | Prostaglandin E ₁ |
| PGI ₂ | Prostazyklin |
| pH | pH-Wert |
| PKA | Proteinkinase A |
| PRI | engl. <i>Platelet reactivity index</i> , Plättchen-Reaktivitäts-Index |
| PRP | engl. <i>Platelet Rich Plasma</i> , plättchenreiches Plasma |
| P-VASP | VASP-Phosphorylierung |
| RANTES | engl. <i>Regulated upon activation, normal T-cell expressed and -secreted</i> |
| ROS | reaktive Sauerstoffspezies |
| RR | Blutdruck nach Riva-Rocci [mmHg] |
| s | Sekunde |
| SCAI | engl. <i>Society of Cardiovascular Angiography and Interventions</i> |
| SEM | Standard Fehler des Mittelwertes |
| SES | engl. <i>Sirolimus-Eluting-Stent</i> |
| sGC | NO-sensitive lösliche Guanylylcyclase |
| SMC | engl. <i>smooth muscle cells</i> , glatte Muskelzellen |
| STZ | Streptozotocin |
| TCDD | 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin |
| TNF | Tumornekrosefaktor |
| TXA ₂ | Thromboxan A ₂ |
| USD | US-Dollar |
| VASP | engl. <i>Vasodilator-Stimulated Phosphoprotein</i> |
| VLDL | engl. <i>Very Low Density Lipoprotein</i> |
| vs | versus |
| z. B. | zum Beispiel |
| µg | Mikrogramm |
| µl | Mikroliter |
| µm ² | Mikrometer zum Quadrat |

| | |
|-----------------|----------|
| μmol | Mikromol |
| % | Prozent |

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt PD Dr. Andreas Schäfer für die unentwegte Betreuung und Unterstützung während der Erstellung dieser Arbeit und die Übernahme des Erstgutachtens.

Prof. Dr. Walter danke ich sehr für seine Bereitschaft, das Zweitgutachten für diese Arbeit zu übernehmen.

Mein Dank gilt auch der Arbeitsgruppe Bauersachs/ Schäfer für die freundliche Aufnahme in die Laborgemeinschaft.

Ich möchte mich auch bei Meike Leutke bedanken, die mir und den anderen Doktoranden bei jeglichen Fragen stets mit Rat und Tat zur Seite stand und ohne die ein reibungsloser Ablauf der experimentellen Phase dieser Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Außerdem möchte ich Stefanie Fiedler, Ulrike Flierl, Ilona Mell, Jutta Neumüller, Stefanie Pförtsch und Corinna Schöpp für die gute Zusammenarbeit, die gegenseitige Hilfsbereitschaft sowie ihre freundliche und offene Art danken, durch die uns allen diese Zeit in guter Erinnerung bleiben wird.

Meiner Familie danke ich für die Unterstützung und ihr geduldiges Zuhören. Meinen Eltern danke ich besonders dafür, dass sie mir mein Studium in dieser Weise ermöglicht haben und immer an mich geglaubt haben. Ich danke auch Hans-Georg, der mir stets zuhörte und mir immer aufmunternd und unterstützend zur Seite stand.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Juliane Jaitner

Geburtsdatum: 10.01.1982
Geburtsort: Würzburg
Staatsangehörigkeit: deutsch
Familienstand: ledig
Religionszugehörigkeit: römisch-katholisch
Eltern: Waltraud Jaitner, Lehrerin
Dr. Joachim Jaitner, Arzt für Allgemeinmedizin

Schulischer Werdegang

1988 – 1992 Volksschule Bad Bocklet
1992 – 2001 Jack-Steinberg Gymnasium Bad Kissingen
Mai 2001 Abitur

Hochschulstudium

WS 2001/2002 BWL-Studium an der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg
WS 2002/2003 Beginn des Medizinstudiums an der Julius- Maximilians-
Universität Würzburg
August-September 2004 Bestehen der Ärztlichen Vorprüfung
April-Mai 2009 Bestehen der Ärztlichen Prüfung

Praktika und Famulaturen

Juni-Juli 2002 Pflegepraktikum, Heinz-Kalk-Krankenhaus, Bad Kissingen
Februar-März 2003 Pflegepraktikum, St. Elisabeth-Krankenhaus, Bad Kissingen

Februar-März 2005 Dr. J. Jaitner, Allgemeinarztpraxis, Bad Bocklet
September –Oktober 2005 Dr. R. Junghanns, Abteilung für Unfallchirurgie,
Prof. Dr. M. Kahle, Abteilung für Viszeralchirurgie,
St. Elisabeth-Krankenhaus Bad Kissingen
Februar-März 2007 Dr. B. Fuchsbauer, Facharztpraxis für Frauenheilkunde und
Geburtshilfe, Bad Kissingen
März-April 2007 Prof. Dr. S. Noachtar, Abteilung für Neurologie, Klinikum
Großhadern, München

Praktisches Jahr

August-Dezember 2007 Prof. Dr. B. Jany, Abteilung für Innere Medizin,
Missionsärztlichen Klinik, Würzburg
Dezember-März 2008 Prof. Dr. K. V. Toyka, Abteilung für Neurologie, Julius-
Maximilians-Universität Würzburg
März-Juli 2008 Prof. Dr. R. Babst, Abteilung für Unfallchirurgie,
Kantonsspital Luzern, Prof. Dr. X. Mueller, Abteilung für
Herz-, Thorax-, Gefäßchirurgie, Kantonsspital Luzern

.....
Datum und Unterschrift