

I. Medizinische Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München
Klinikum rechts der Isar
(Direktor: Univ.-Prof. Dr. A. Schömig)

**Auswirkung der Fibrinogenrezeptorantagonisierung
auf die Thrombozytenfunktion
bei Patienten mit koronarer Stentimplantation**

Petra Margaretha Elias

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen
Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Privatdozent Dr. M. P. Gawaz
2. Univ.-Prof. Dr. F.-J. M. Neumann

Die Dissertation wurde am 30.03.2001 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 11.07.2001 angenommen.

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1. | Einleitung | 1 |
| 1.1 | Thrombozytenphysiologie | 2 |
| 1.1.1 | Thrombozytenmorphologie | 2 |
| 1.1.2 | Vermittlung der primären Hämostase durch thrombozytäre Glykoproteine | 5 |
| 1.1.3 | Glykoprotein IIb-IIIa – der Fibrinogenrezeptor | 8 |
| 1.1.4 | Immunologische Marker der thrombozytären Glykoproteine | 11 |
| 1.2 | Glykoprotein IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten in der interventionellen Kardiologie | 13 |
| 1.3 | Polymorphismen der thrombozytären Glykoproteinrezeptoren | 19 |
| 2. | Zielsetzung | 24 |
| 3. | Patienten und allgemeine Methodik | 25 |
| 3.1 | Studiendesign und Auswahl der Patienten | 25 |
| 3.2 | Reagenzien und monoklonale Antikörper | 27 |
| 3.3 | Probengewinnung und -aufbereitung | 28 |
| 3.4 | Durchflußzytometrische Bestimmung des thrombozytären Funktionszustandes | 29 |
| 3.5 | Allelspezifische Restriktionsenzymanalyse zur Bestimmung der thrombozytären Polymorphismen | 31 |
| 3.6 | Statistische Auswertung | 34 |
| 4. | Ergebnisse | 35 |
| 4.1 | Auswirkung der Abciximabtherapie auf die Thrombozytenfunktion und Thrombozytenzahl bei Patienten mit koronarer Stentimplantation | 35 |
| 4.1.1 | Ausgangscharakteristika der Studienpopulation | 35 |
| 4.1.2 | Ausgangscharakteristika der Thrombozytenrezeptoren und der Thrombozytenzahl | 36 |
| 4.1.3 | Bindung von FITC-c7E3 an zirkulierende Thrombozyten und Thrombozytenaggregate | 37 |

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 4.1.4 | Verfügbarkeit der Fibrinogenbindungsstellen und Oberflächenexpression von GPIIIa | 39 |
| 4.1.5 | Ligandeninduzierte Bindungsstellen und rezeptorinduzierte Bindungsstellen auf zirkulierenden Thrombozyten | 42 |
| 4.1.6 | Oberflächenexpression von P-Selektin | 45 |
| 4.1.7 | Glykoprotein Ib-Oberflächenexpression | 47 |
| 4.1.8 | Bindung von Faktor VIIIc, Fibrinogen und von-Willebrand-Faktor an zirkulierende Thrombozyten | 47 |
| 4.1.9 | Oberflächenexpression von Phosphatidylserin und Ausschüttung juveniler Thrombozyten | 49 |
| 4.1.10 | Thrombozytenzahl | 50 |
| 4.2 | Thrombozytäre Polymorphismen | 53 |
| 4.2.1 | Ausgangscharakteristika der Studienpopulation | 53 |
| 4.2.2 | Ausgangscharakteristika der Thrombozytenrezeptoren | 53 |
| 4.2.3 | Glykoprotein Ib-Oberflächenexpression und Rezeptorinteraktion | 56 |
| 4.2.4 | Oberflächenexpression von Glykoprotein IIIa | 62 |
| 4.2.5 | Verfügbarkeit der Fibrinogenbindungsstellen und Fibrinogenbindung an zirkulierende Thrombozyten | 64 |
| 4.2.6 | Glykoprotein IIb-IIIa-Rezeptorblockade durch Abciximab | 68 |
| 4.2.7 | Oberflächenexpression von P-Selektin | 70 |
| 4.2.8 | Expression von ligandeninduzierten Bindungsstellen und rezeptorinduzierten Bindungsstellen | 72 |
| 5. | Diskussion | 77 |
| 5.1 | GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten als adjuvante, antithrombozytäre Therapiestrategie bei koronarer Stentimplantation | 78 |
| 5.2 | Überwachung der pharmakodynamischen Wirksamkeit der GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonistentherapie mittels durchflußzytometrischer Messungen | 79 |
| 5.3 | GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten-induzierte Thrombozytopenie | 82 |
| 5.4 | Polymorphismen der thrombozytären Glykoproteine und Pharmakogenetik | 84 |
| 5.5 | Studienbeschränkungen | 88 |
| 5.6 | Therapeutischer Ausblick | 89 |

| | | |
|-----------|-------------------------|------------|
| 6. | Zusammenfassung | 92 |
| 7. | Anhang | 94 |
| 7.1 | Abkürzungen | 94 |
| 7.2 | Literaturverzeichnis | 96 |
| 8. | Curriculum Vitae | 116 |
| 9. | Danksagung | 117 |

1. Einleitung

Die Erforschung der Thrombozytenfunktion hat wesentlich zum Verständnis der pathophysiologischen Mechanismen der koronaren Herzkrankheit beigetragen. Thrombozyten spielen eine bedeutende Rolle bei der Arterioskleroseentstehung und der Entwicklung ischämischer Komplikationen (67, 71, 131, 165, 208, 231, 232, 235). Die Bildung plättchenreicher Thromben auf rupturierten arteriosklerotischen Plaques ist die Hauptursache der instabilen Angina.

Die Therapie der symptomatischen koronaren Herzkrankheit erfolgt bei medikamentösem Therapieversagen durch perkutane transluminale koronare Angioplastie (PTCA) und durch eventuelle Stentimplantation. Peri- und postinterventionell kann es hierbei zu thrombozyten- und thrombinvermittelten Komplikationen wie dem subakuten Gefäßverschluß oder der Restenosierung kommen (9, 91, 134).

Durch die Entwicklung einer neuen Klasse antithrombozytärer Substanzen, den Glykoprotein IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten, stehen erstmals Pharmaka zur Verfügung, die die Thrombozytenaggregation unabhängig vom auslösenden Stimulus nahezu vollständig hemmen. Sie stellen eine vielversprechende medikamentöse Strategie zur Vorbeugung und Behandlung der peri- und postinterventionellen ischämischen Komplikationen dar (16). Ausgangspunkt für die Entwicklung der Glykoprotein IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten ist c7E3-Fab (Abciximab; ReoPro, Eli Lilly und Centocor), das Fab-Fragment des monoklonalen, chimerischen Mensch-Maus-Antiköpers 7E3. C7E3 bindet an den thrombozytären Fibrinogenrezeptor und verhindert dadurch die Bildung von Plättchenthromben (167). Nachfolgend wurde eine Vielzahl synthetischer Substanzen entwickelt, die ein identisches Wirkungsprinzip besitzen, sich jedoch hinsichtlich Struktur, pharmakologischer Eigenschaften und Spezifität unterscheiden (72).

Einen unerwünschten Nebeneffekt der neuen antithrombozytären Therapie stellen seltene, aber sehr schwere Thrombozytopenien dar (14, 105, 107, 160), die mit einem erhöhten Blutungsrisiko, insbesondere der Einstichstelle der arteriellen Schleuse und seltener des Zentralnervensystems, einhergehen (17, 108). Kereiakes et al. berichteten von einer schweren Thrombozytopenie bei 1,6% der Patienten, die nach PTCA mit einem Abciximabbolus und anschließender Abciximabinfusion behandelt worden waren, im Gegensatz zu 0,7% der Patienten, die nach PTCA ein Placebo erhalten hatten (111). Plättchentransfusionen führen bei diesen Patienten innerhalb von Stunden zu einem deutlichen Anstieg und innerhalb von Tagen zu einer vollständigen Erholung der Thrombozytenzahl (14, 111). Der ursächliche Mechanismus der rezeptorantagonisteninduzierten, schweren Thrombozytopenie ist bis heute nicht geklärt.

1.1 Thrombozytenphysiologie

1.1.1. Thrombozytenmorphologie

Thrombozyten sind anukleäre, diskoide Scheiben mit einem Durchmesser von 2 bis 4 μm und einer Dicke von 0,75 μm . Sie werden im Knochenmark aus Megakaryozyten gebildet. 150.000 bis 300.000 Thrombozyten pro μl Blut zirkulieren für ungefähr sieben Tage im peripheren Blut bis sie im retikulären System der Leber und Milz abgebaut werden. Die Milz ist zudem Speicherort von etwa einem Drittel der Blutplättchen, die im Austausch mit dem zirkulierenden Anteil stehen (68, 209). Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, daß Thrombozyten einen sehr komplexen Aufbau besitzen, der sich in vier Zonen gliedern läßt (130, 140, 209, 252).

1. Periphere Zone:

Der Thrombozyt wird von einer trilaminären Zellmembran begrenzt, die aus Glykoproteinen, Glyko- und Phospholipiden und Cholesterin besteht und eine äußere Glykokalyx trägt. Zur zytoplasmatischen Seite der Membran sind verschiedene Enzyme, wie Phospholipase, Adenylatzyklase und Ca^{++} -ATPase lokalisiert, die über Rezeptoren aktiviert werden (130, 140, 209, 252).

Durch Abscherung von thrombozytären Membranfragmenten während der Plättchenaggregation entstehen Mikrovesikel mit einer Größe von 100 nm bis 1 μm , die die Integrinketten $\alpha_{\text{IIb}}\beta_3$ und β_1 , GPIb α und P-Selektin enthalten (66, 76, 94). Mikrovesikel besitzen eine hohe prokoagulatorische Aktivität. Sie binden Annexin V, Prothrombin, Faktor V, Faktor VIIIa und Faktor X (69, 153).

2. Strukturelle Zone:

Sie besteht aus Zytoplasma und dem Zytoskelett, das aus zirkulären Mikrotubuli, submembranösen Filamenten und Aktin-Myosin-Filamenten gebildet wird. Das Zytoskelett ist fest in der Zellmembran verankert und gewährleistet die Scheibchenform (Abb. 2) bzw. bewirkt beim aktivierten Thrombozyten eine Formveränderung und durch Ausbildung von Pseudopodien eine Zunahme der Thrombozytenoberfläche (Abb. 3). Gleichzeitig kommt es bei Aktivierung der Thrombozyten zur Zentralisierung der Zellorganellen (130, 140, 209, 252).

3. Zone der Organellen:

Die Zellorganellen des Thrombozyten sind Mitochondrien, Glykogenspeicher und drei verschiedene Formen von Granula, die als Speicherort für Proteine und andere Substanzen essentiell für die Plättchenfunktion sind. Man unterscheidet:

a) **α -Granula**, die Enzyme, Wachstumsfaktoren, zytokinähnliche Proteine, Koagulationsfaktoren und adhäsive Proteine, wie Fibrinogen, Fibronectin, vWF, Thrombospondin, Vitronectin und GPIIb-IIIa, enthalten (68),

b) **dichte Granula** mit niedermolekularen Verbindungen (ADP, ATP, Calcium, Phosphat, Serotonin), die die Aggregation fördern (68) und

c) **Lysosomen**, die hydrolytische Enzyme beinhalten (68).

Bei Aktivierung des Thrombozyten verschmelzen die Granula mit der Zellmembran und setzen den hämostaserelevanten Inhalt frei (98, 99, 140, 209).

4. Membransysteme:

Der Thrombozyt besitzt zwei strukturell und funktionell unterschiedliche Membransysteme:

a) **das offene kanalikuläre System** („surface connected open canalicular system“, SCCS): Es ermöglicht eine Oberflächenvergrößerung des Thrombozyten und dient als Transportroute zwischen externem Medium und den α -Granula (177) und

b) **das dichte tubuläre System** („dense tubular system“, DTS), das mit Hilfe einer $\text{Ca}^{++}/\text{Mg}^{++}$ -ATPase freies Ca^{++} anreichert. Durch Verminderung der zytoplasmatischen freien Ca^{++} -Konzentration werden die Plättchen in einem inaktiven Zustand gehalten. Das DTS ist auch Ort des Arachidonsäuremetabolismus (130, 140, 209, 252).



Abb. 1: Ruhende und aktivierte Blutplättchen. Links: ruhende diskoider Form; rechts: aktivierte Form (Echinosphärozyten). (nach (68))

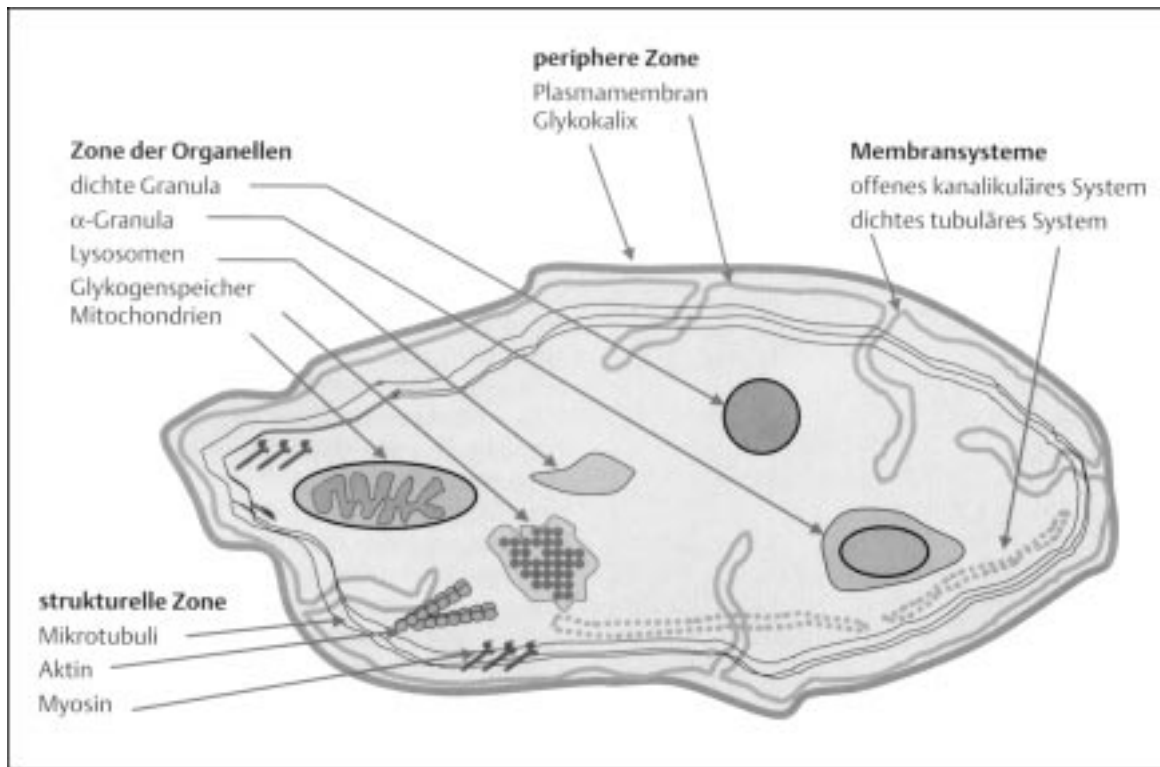


Abb. 2: Schematische Darstellung der Ultrastruktur ruhender Blutplättchen.
(nach (68))

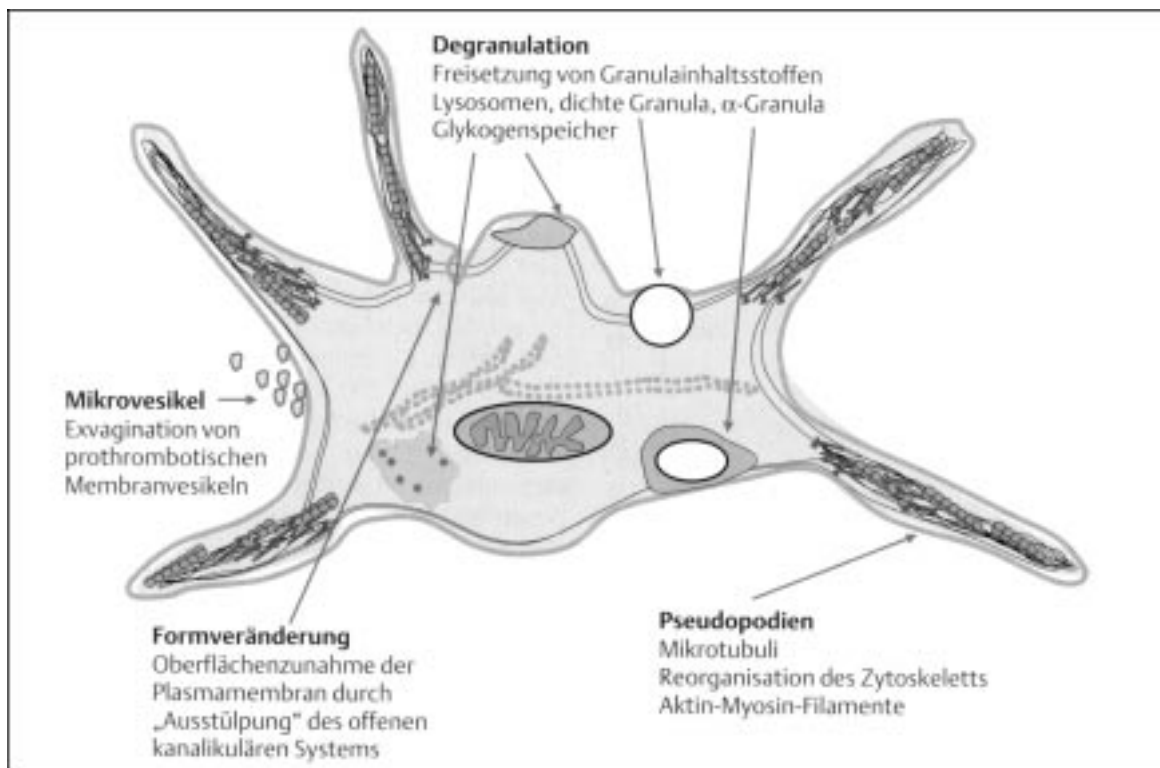


Abb. 3: Schematische Darstellung der Ultrastruktur aktivierter Blutplättchen.
(nach (68))

1.1.2 Vermittlung der primären Hämostase durch thrombozytäre Glykoproteine

Die Hauptaufgabe der Thrombozyten liegt in der Aufrechterhaltung der Hämostase durch Adhäsion an die verletzte Gefäßwand, durch Aggregation und durch Interaktion mit anderen Blutzellen. Diese wichtigen Thrombozytenfunktionen werden durch verschiedene membranständige Glykoproteine vermittelt.

Unter physiologischen Bedingungen zirkulieren Thrombozyten im Blutkreislauf ohne mit sich selbst oder der antithrombogenen Gefäßwand zu interagieren (30, 63, 221). Kommt es zur Verletzung der Endothelschicht, werden subendothelial gelegene, prothrombotische Strukturen wie Kollagen, Fibronektin, Laminin und kollagenimmobilisierter von-Willebrand-Faktor freigelegt (50), an die sich die zirkulierenden Thrombozyten heften (36, 93, 148, 179, 199, 202, 221, 248, 251). Der primäre Adhäsionsvorgang (**Kontaktphase**) findet unter dem Einfluß hoher Scherkräfte statt und wird durch einen thrombozytären Rezeptorkomplex aus drei Glykoproteinen (GPIb, GPV und GPIX) vermittelt (Abb. 4). GPIb besteht aus einer α - und einer β -Kette, die durch Disulfidbrücken miteinander verbunden sind. Auf der α -Kette sitzt die Bindungsregion für den immobilisierten von-Willebrand-Faktor.

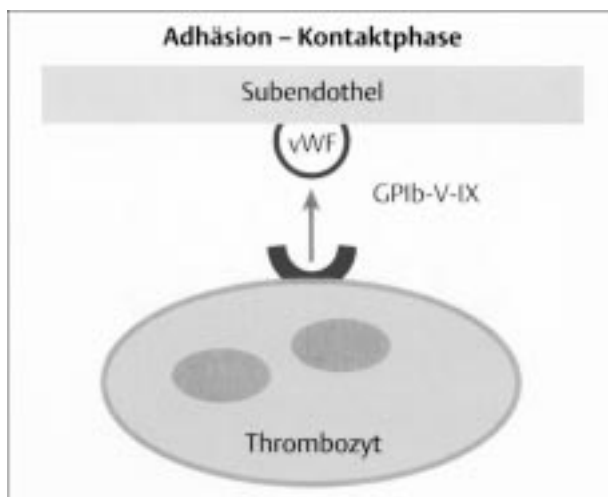


Abb. 4: Adhäsion – Kontaktphase. vWF = von-Willebrand-Faktor, GPIb-V-IX = vWF-Rezeptor. (nach (68))

Über weitere membranständige Adhäsionsrezeptoren (Kollagen-, Fibronektin- und Lamininrezeptor) erfolgt eine Stabilisierung der Plättchenadhäsion (**Phase der Stabilisierung**) (Abb. 5) (55, 67). GPVI und GPIV vermitteln dabei die Kollagen-Thrombozyteninteraktion, die im besonderen Maße zur Plättchenaktivierung führt (103, 122).

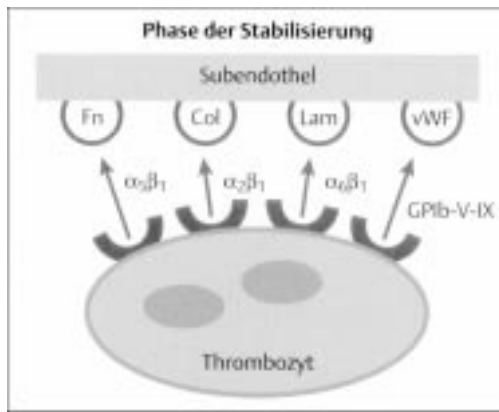


Abb. 5: Adhäsion – Phase der Stabilisierung.
Fn = Fibronektin; Col = Kollagen;
vWF = von-Willebrand-Faktor;
Lam = Laminin;
 $\alpha_5\beta_1$ = Fibronektinrezeptor;
 $\alpha_2\beta_1$ = Kollagenrezeptor;
 $\alpha_6\beta_1$ = Lamininrezeptor;
GPIb-V-IX = vWF-Rezeptor.
 (nach (68))

Die Thrombozyten verändern nach Adhäsion ihre Form, bilden Pseudopodien und spreizen sich auf der Läsion aus („**shape change**“) (68, 140). Es kommt zur Aktivierung der adhärenen Plättchen mit nachfolgender Sekretion von Granulainhaltsstoffen. Über Stimulation einer intrazellulären Signaltransduktionskaskade kommt es zur Arachidonsäurefreisetzung aus transzellulären Membranstapeln. Arachidonsäure wird im Zytoplasma durch die Cyclooxygenase und die Thromboxansynthetase zu Thromboxan A_2 metabolisiert, diffundiert aus der Zelle und führt durch Rezeptorbindung zu einer Verstärkung der Thrombozytenaktivierung. Plasmatisches Thrombin und Epinephrin wirken agonistisch. Sie induzieren eine intrazelluläre Reaktionskaskade, die zur Freisetzung von ADP und Serotonin aus den α -Granula führt. ADP und Serotonin verstärken wiederum durch Rezeptorbindung die Thrombozytenaktivierung und stimulieren darüber hinaus noch ruhende Thrombozyten (**Phase der Aktivierung**) (Abb. 6) (67, 68, 209).

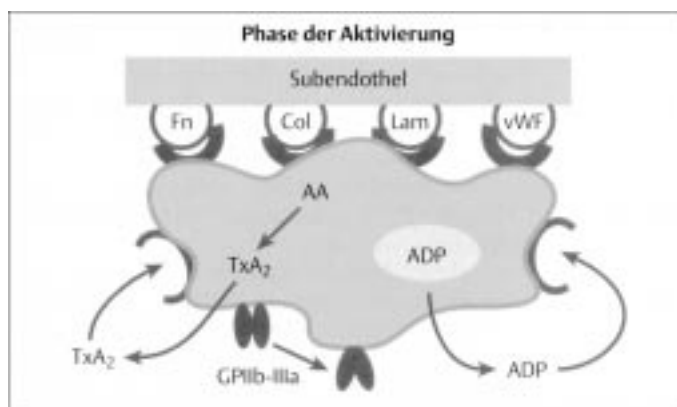


Abb. 6: Adhäsion – Phase der Aktivierung.
 TxA_2 = Thromboxan A_2 ;
AA = Arachidonsäure;
ADP = Adenosindiphosphat;
GPIIb-IIIa = Fibrinogenrezeptor.
 (nach (68))

Die gemeinsame Endstrecke aller Agonisten ist die Einleitung der Thrombozytenaggregation und somit die Thrombusbildung. Die Thrombozytenaggregation erfolgt unter dem Einfluß niedriger Scherkräfte durch Bindung von löslichem Fibrinogen an den membranständigen GPIIb-IIIa-Rezeptorkomplex.

Im ruhenden Zustand kann der GPIIb-IIIa-Komplex kein plasmatisches Fibrinogen binden. Erst die Aktivierung des Thrombozyten führt zur Konformationsänderung des Rezeptors und zur Freilegung von Fibrinogenbindungsstellen innerhalb des Rezeptorkomplexes. Über die Bildung von Fibrinogenbrücken zwischen den Thrombozyten kommt es dann zur Entstehung eines hämostatisch wirksamen, aber noch reversiblen Plättchenaggregates (Abb. 7) (35, 57, 132, 199). Während der Aggregatbildung kommt es durch Abscherung von thrombozytären Membranfragmenten zur Bildung von Mikrovesikeln, die über eine GPIIb-IIIa-Fibrinogenbrücke mit den aktivierten Thrombozyten koaggregieren und zu einer weiteren Blutplättchenaktivierung führen (5, 97, 153).

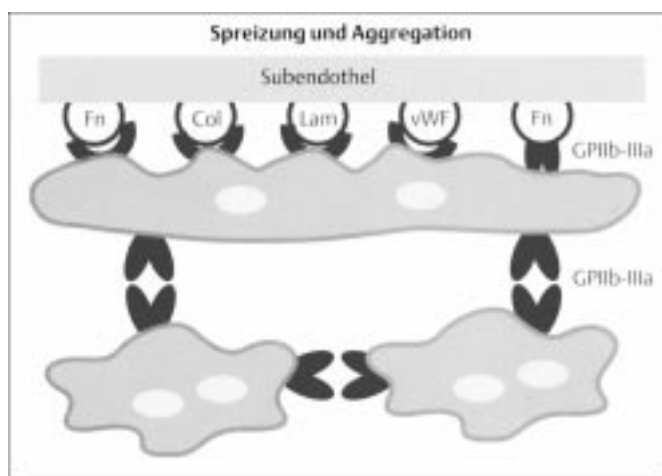


Abb. 7: Adhäsion – Spreizung und Aggregation. (nach (68))

Während der Aggregation werden neue Adhäsionsrezeptoren wie P-Selektin auf der Thrombozytenoberfläche exprimiert. In ruhenden Thrombozyten wird P-Selektin in den α -Granula gespeichert (70). Die Stimulation der Thrombozyten führt zur Degranulation. P-Selektin ist ein Adhäsionsrezeptor für Leukozyten und vermittelt die Aktivierung von Monozyten (149). Monozyten produzieren daraufhin Entzündungsmediatoren, darunter Chemokine wie Interleukin 8, „monocyte-chemoattractant-protein-1“ und das proinflammatorische, zytokinähnliche Interleukin 1, welche Entzündungsprozesse unterhalten und auf diese Weise den Verlauf ischämischer Erkrankungen ungünstig beeinflussen (39, 98, 99, 147, 155, 221).

Schließlich erlaubt die Expression entsprechender Rezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche die Anlagerung von Koagulationsenzymen wie dem Prothrombinkomplex. Auf der hochgradig katalytischen Oberfläche der aktivierten Thrombozyten kommt es dann zur Thrombinbildung. Dabei beschleunigen Mikrovesikel, die ein hohes Bindungsvermögen für plasmatische Gerinnungsfaktoren wie Faktor V, Faktor VIIIa und Faktor X aufweisen, die Aktivierung von Prothrombin zu Thrombin (69). Nachfolgend kommt es zur Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin und es entsteht ein irreversibles Plättchenaggregat (172, 221).

1.1.3 Glykoprotein I Ib-IIIa – der Fibrinogenrezeptor

Das Glykoprotein I Ib-IIIa ist mit einer durchschnittlichen Anzahl von 60.000 bis 100.000 Rezeptoren pro Thrombozyt das mengenmäßig am häufigsten vertretene Membranglykoprotein (23, 49, 74, 77, 79, 80, 82, 184, 186). Bei ruhenden Thrombozyten sind 70% der Rezeptoren auf der Membranoberfläche verteilt; der restliche, aber sehr wesentliche Teil der Rezeptoren befindet sich im offenen kanalikulären System und in den α -Granula und wird bei Thrombozytenaktivierung exprimiert (171, 253).

Das Glykoprotein I Ib-IIIa gehört zur Familie der Integrine, die als Adhäsionsrezeptoren Strukturen des Zytoskeletts mit der extrazellulären Matrix verbinden. Integrine vermitteln eine Vielzahl von biologischen Funktionen. Sie sind an der Thrombozytenadhäsion und -aggregation (180), an der Gewebeentwicklung und an Wachstumsprozessen sowie am Krebszellwachstum und an der Metastasierung beteiligt. Wie alle Integrine ist das Glykoprotein I Ib-IIIa ein Heterodimer, das aus einer α (GPIIb)- und einer β (GPIIIa)-Untereinheit zusammengesetzt ist. GPIIb besteht aus einer schweren Kette (125 kDa), die durch eine Disulfidbrücke mit einer leichten Kette (23 kDa) verbunden ist. Die leichte Kette gliedert sich in einen kurzen plasmatischen Teil (20 Aminosäuren), eine transmembrane Region (26 Aminosäuren) und einen extrazellulären Teil (91 Aminosäuren). Die schwere Kette befindet sich nur extrazellulär und enthält vier Ca^{++} -bindende Sequenzen. GPIIIa (90 kDa) besteht aus einer einzigen Polypeptidkette (778 Aminosäuren). GPIIb und GPIIIa sind nicht kovalent miteinander verbunden (Abb. 8) (23, 70).

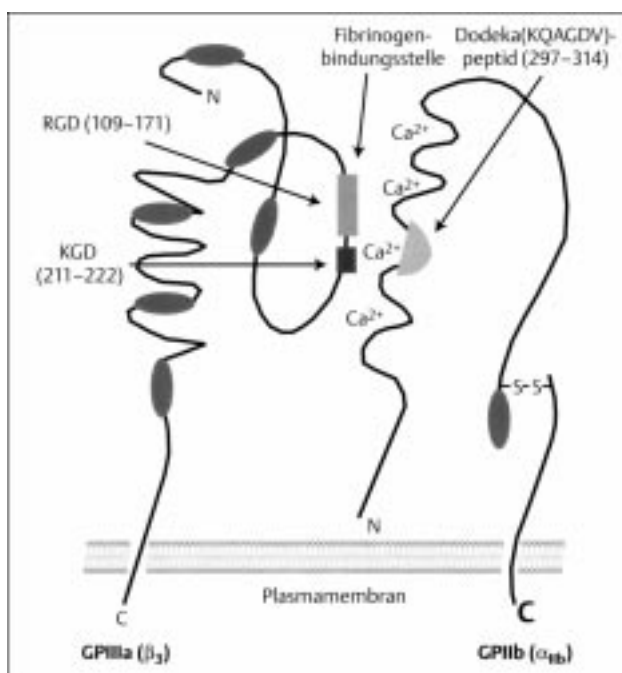


Abb. 8: Struktur des Glykoprotein I Ib-IIIa-Rezeptors (Fibrinogenrezeptor). (nach (68))

Unter physiologischen Verhältnissen tragen zirkulierende Blutplättchen einen „ruhenden“, nicht aktivierten GPIIb-IIIa-Komplex an ihrer Oberfläche (**niedrigaffiner Funktionszustand**) (Abb. 10) (70). Bei Thrombozytenaktivierung kommt es innerhalb kurzer Zeit (Minuten) zur Konformationsänderung des Glykoprotein Iib-IIIa-Rezeptors und zur Freilegung von Fibrinogenbindungsstellen (**aktiverter hochaffiner Funktionszustand**) (Abb. 10) (10, 11). Neben löslichem, plasmatischem Fibrinogen werden noch andere Proteine wie der von-Willebrand-Faktor, Vitronektin und Fibronektin im Verhältnis eins zu eins gebunden (55, 80, 81, 102, 188, 190). Die Bindung von Fibrinogen an den Glykoprotein Iib-IIIa-Komplex erfolgt über die KQAGDV (Einbuchstaben-Abkürzungssystem für die Aminosäuresequenz Lys-Gln-Ala-Gly-Asp-Val)-Sequenz auf der γ -Kette des Fibrinogens, die von GPIIb erkannt wird, sowie über die RGD (Arg-Gly-Asp)-Sequenz auf der α -Kette des Fibrinogens, die von GPIIIa erkannt wird (Abb. 9) (188).

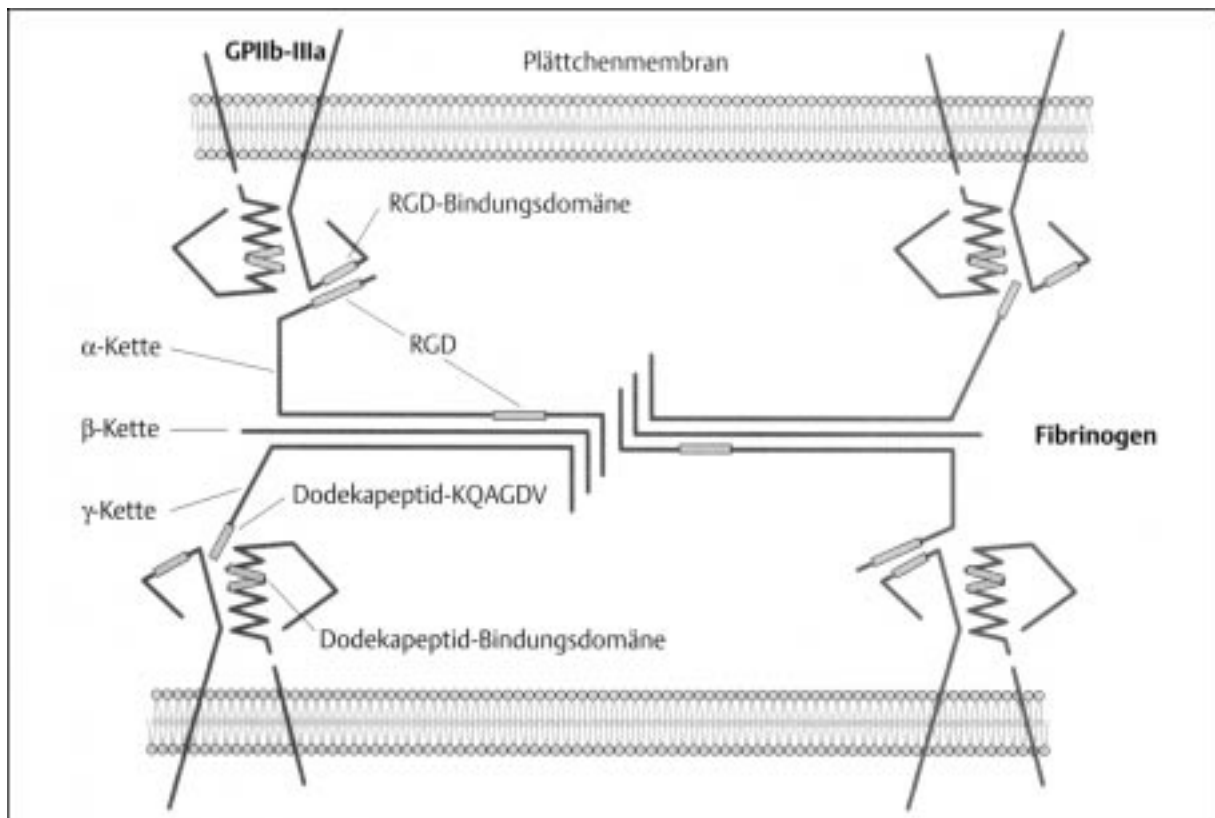


Abb. 9: Aggregation – Fibrinogenbrücke zwischen zwei GPIIb-IIIa-Molekülen (modifiziert nach Charo et al. 1994). (nach (68))

Diese Ligandenbindung führt zu einer zusätzlichen strukturellen (Freilegung ligandeninduzierter Bindungsstellen [LIBS]) und funktionellen (fokale Rezeptoranreicherung [„Clustering“], transmembranäre Signaltransduktion und Tyrosinkinasephosphorylierung) Veränderung des Rezeptors

(ligandenbesetzter Funktionszustand) (Abb. 10) (10, 11, 184, 186). Die ligandeninduzierte Konformationsänderung des Rezeptors vermittelt Mechanismen, die die irreversible Fibrinogenbindung an GPIIb-IIIa regulieren („**postoccupancy events**“) (Abb. 10) (70). Ebenso ändert Fibrinogen bei Rezeptorbindung seine Konformation und exprimiert rezeptorinduzierte Bindungsstellen (RIBS). Das RIBS-Epitop liegt auf der γ -Kette von Fibrinogen (γ 373-385) nahe der KQAGDV-Sequenz (γ 408-411), spielt aber im Gegensatz zu dieser bei der direkten GPIIb-IIIa-Fibrinogeninteraktion und der Plättchenaggregation keine Rolle (137).

Synthetische Peptide, die eine RGD- oder KQAGDV-Sequenz enthalten, können an den nicht aktivierten Glykoprotein IIb-IIIa-Rezeptor binden und durch Konformationsänderung dessen Aktivierung induzieren (**intrinsische Aktivität von GPIIb-IIIa-Antagonisten**) (Abb. 10) (70). Gleichzeitig stellen sie kompetitive Inhibitoren der Ligandenbindung dar: LIBS besteht aus zwei verschiedenen ligandenbindenden Taschen, die sich interaktiv beeinflussen. Eine Tasche dient zur Bindung von Fibrinogen, die andere separate Tasche bindet Liganden vom RGD-Typ. Liganden vom RGD-Typ können an GPIIb-IIIa-Rezeptoren binden, die bereits durch Fibrinogen besetzt sind und die Dissoziation von Fibrinogen bewirken (101).

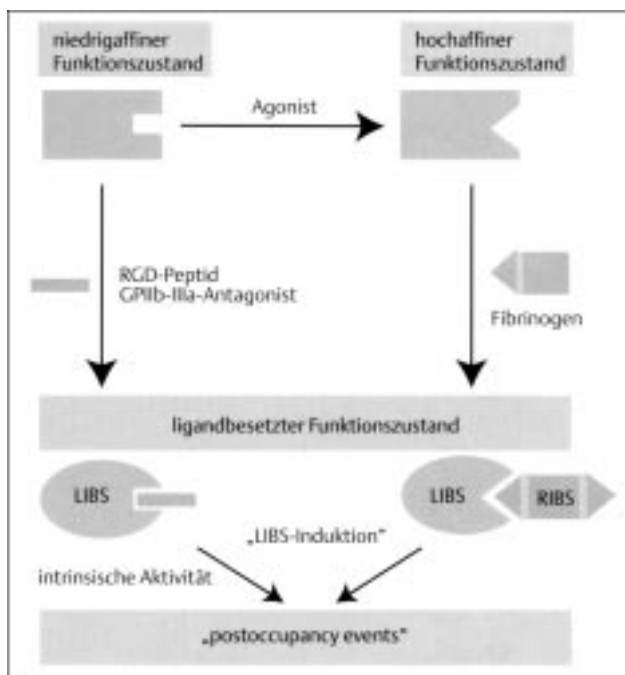


Abb. 10: Funktionszustände des thrombozytären Fibrinogenrezeptors GPIIb-IIIa. (nach (70))

1.1.4 Immunologische Marker der thrombozytären Glykoproteine

Die Entwicklung monoklonaler Antikörper hat es möglich gemacht, Oberflächenexpression und Konformationszustand der thrombozytären Membranrezeptoren sowie ihre Ligandenbindung zu bestimmen (1, 194) und somit den in vivo Funktionszustand der Thrombozyten zu beschreiben (156).

Der monoklonale Antikörper anti-CD42b bindet an das Glykoprotein Ib (89, 154, 226).

Anti-CD41 erkennt das Glykoprotein Iib und anti-CD61 das Glykoprotein IIIa des Rezeptorkomplexes GPIIb-IIIa unabhängig davon, ob dieser in einem ruhenden oder aktivierten Zustand vorliegt (90, 133, 154).

Nach Rezeptoraktivierung und Ligandenbindung kommt es zur Konformationsänderung des Fibrinogenrezeptors, die von LIBS-1 und PMI-1 erkannt wird (78). LIBS-1 bindet an ein kryptogenes Epitop auf GPIIIa, interferiert aber nicht mit der Ligandenbindungstasche. PMI-1 bindet aktivierungsabhängig an GPIIb (74).

Mittels anti-CD62P wird die Oberflächenexpression von P-Selektin bei Thrombozytenaktivierung bestimmt (74, 89, 90, 154, 226).

Anti-vWF, anti-Faktor VIIC und anti-Fibrinogen werden zur quantitativen Bestimmung des an die Thrombozytenoberfläche gebundenen von-Willebrand-Faktors, Faktors VIIC bzw. Fibrinogens verwendet (226, 249). Anti-Fibrinogen erkennt die E-Domäne des Fibrinogenmoleküls (Zentrum, in dem sich die zweifach angelegten α -, β - und γ -Ketten des Fibrinogenmoleküls treffen) (67, 78).

Die Ausbildung von rezeptorinduzierten Bindungsstellen beim Fibrinogenmolekül wird durch RIBS beschrieben (74, 78).

C7E3 blockiert den Glykoprotein Iib-IIIa-Komplex. Dabei bindet es nicht nur an membranständige Rezeptoren, sondern markiert auch Rezeptoren, die sich im offenen kanalikulären System (SCCS) und in den α -Granula befinden (177). In der vorliegenden Arbeit wird FITC-c7E3 verwendet, um die Abciximabsättigung des Fibrinogenrezeptors zu bestimmen.

Echistatin, ein RGD-Sequenz enthaltendes Polypeptid, ist ein starker kompetitiver Inhibitor der Glykoprotein Iib-IIIa-Fibrinogeninteraktion (52). Bindet Echistatin an den GPIIb-IIIa-Komplex, bewirkt es eine Konformationsänderung des Rezeptors und führt zur Thrombozytenaktivierung (8). Mittels Echistatin wird die Verfügbarkeit der Fibrinogenbindungsstellen auf zirkulierenden Thrombozyten beurteilt (74).

Annexin V, ein Plazentaprotein mit hoher Affinität für anionische Phospholipide, dient zur Beschreibung der Phosphatidylserinexpression auf der Thrombozytenoberfläche aktivierter Blutplättchen (154).

Mittels Thiazolorange, das an Reste der Ribonukleinsäure in unreifen Thrombozyten bindet, wird eine überstürzte Ausschüttung juveniler Thrombozyten erkannt.

Tabelle 1 zeigt die thrombozytären Membranglykoproteine, ihre physiologische Bedeutung und rezeptorspezifische monoklonale Antikörper und Peptide im Überblick.

Tabelle 1: Thrombozytäre Membranglykoproteine.

| Glykoprotein | CD-Nomenklatur | monoklonale Antikörper | Anzahl | Vorkommen | physiologische Bedeutung |
|-------------------|----------------|--|----------------|---|---|
| GPIb-V-IX | CD42b | anti-CD42b | 25.000 | Thrombozytenmembran | Adhäsionsrezeptor: aktivierungsunabhängige Bindung von immobilisiertem vWF, Kollagen, Fibronectin, Laminin |
| GPIIb-IIIa | | | 60.000-100.000 | Thrombozytenmembran, kanalikuläres System, α -Granula | Aggregationsrezeptor: aktivierungsabhängige Bindung von löslichem Fibrinogen, Fibronectin, Vitronectin, vWF |
| GPIIb | CD41 | anti-CD41; PMI-1: bindet nur an den aktivierten Rezeptor | | | |
| GPIIIa | CD61 | anti-CD61; LIBS-1: bindet nur an den aktivierten Rezeptor | | | |
| P-Selektin | CD62P | anti-CD62P | 20.000 | α -Granula der Thrombozyten, Weibel-Palade-Körperchen der Endothelzellen | aktivierungsabhängige Oberflächenexpression; Leukozytenadhäsion, Monozytenaktivierung |

1.2 Glykoprotein IIb-IIIa-Rezeptorantagonisten in der interventionellen Kardiologie

Das heute angewandte, antithrombozytäre Therapieschema, Azetylsalizylsäure in Kombination mit unfraktioniertem Heparin und Tiklopidin bzw. Clopidogrel, hat die Rate postinterventioneller kardialer Ereignisse bei PTCA und Stentimplantation deutlich gesenkt (13, 15, 22, 51, 123, 159, 161). Azetylsalizylsäure hemmt die Thromboxansynthese im Blutplättchen irreversibel innerhalb einer Woche (72). Die Thienopyridine Tiklopidin und Clopidogrel, die die ADP-induzierte GPIIb-IIIa-Expression und Aktivierung unterdrücken, entfalten ihr Wirkungsmaximum nach 2 (Clopidogrel) bzw. 3 bis 4 Tagen (Tiklopidin) (13, 22, 72, 92). Aus diesem Grund erscheint dieses antithrombozytäre Therapieschema suboptimal in der Prävention des subakuten Gefäßverschlusses und ischämischer Ereignisse, welche meist noch während oder kurz nach PTCA und eventueller Stentimplantation bei 4% bis 9% der Patienten auftreten (42, 135, 230).

1983 entwickelten Collier et al. einen monoklonalen Mausantikörper 7E3, gegen den für Thrombozyten und Megakaryozyten spezifischen GPIIb-IIIa-Rezeptor und zeigte seine antithrombotischen Effekte im Tiermodell (29). Zur Minderung der Antigenität des Mausantikörpers 7E3 wurde ein humanisiertes, chimerisches Fab-Fragment hergestellt, genannt c7E3 oder "Abciximab". Dabei wurde der größte Teil des unspezifischen murinen Fab-Anteils durch einen humanen Fab-Anteil ersetzt, so daß Abciximab nur noch die variablen Regionen des ursprünglichen Mausantikörpers trägt (72).

C7E3 (Abciximab) führt bei Gabe zu einer sofortigen und vollständigen Blockade des thrombozytären Fibrinogenrezeptors GPIIb-IIIa und damit zur Hemmung der Plättchenaggregation und nachfolgender Thrombusbildung, die ursächlich mit der Entstehung abrupter Gefäßokklusion und ischämischer Ereignisse verbunden ist. In jüngster Zeit wurde ein zusätzlicher kardioprotektiver Effekt von c7E3 (Abciximab) im Tiermodell beschrieben. Abciximabgabe führte bei einem isolierten Rattenherz, das künstlich in eine ischämische Phase versetzt und anschließend reperfundiert wurde, zum Erhalt der kontraktilen Funktion und zur Behinderung der Leukozyten-Endothelzell- und Thrombozyten-Endothelzellinteraktion (24).

Innerhalb weniger Jahre entwickelten sich die GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten von einer Laborkuriosität zu einem wesentlichen medikamentösen Bestandteil bei Koronarintervention. Ihre klinische Wirksamkeit wurde in mehreren groß angelegten, randomisierten Doppelblindstudien, an denen insgesamt mehr als 15.000 Patienten teilnahmen, gezeigt (142, 231, 232, 233, 235, 237, 242).

Die erste großangelegte Studie mit GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten in der interventionellen Kardiologie war die EPIC-Studie („evaluation of IIb-IIIa

platelet receptor antagonist 7E3 in preventing ischemic complications”) (232). Sie schloß 2099 Patienten mit einem erhöhten Risiko für PTCA-Durchführung ein und teilte sie drei verschiedenen Behandlungsplänen zu:

1. Präinterventionelle Placebobolusgabe und anschließende zwölfstündige Placeboinfusion
2. Präinterventionelle Abciximabbolusgabe (0,25 mg/kg)
3. Präinterventionelle Abciximabbolusgabe (0,25 mg/kg) und anschließende zwölfstündige Abciximabinfusion (10 µg/min).

Alle Patienten erhielten zusätzlich Azetylsalizylsäure und einen initialen Heparinbolus von 10.000IE bis 12.000 IE mit anschließender zwölfstündiger Heparininfusion. Als Studienendpunkte wurden Tod, Myokardinfarkt, dringliche Re-PTCA, koronare Bypasschirurgie, Stentimplantation oder intraaortale Gegenpulsation wegen erneuter Ischämie innerhalb von 30 Tagen festgelegt.

Abciximabbolusgabe mit anschließender Abciximabinfusion resultierte in einer 35%-igen Verringerung der Rate der Studienendpunkte im Vergleich zur Placebogabe ($P=0,008$). Bei alleiniger Abciximabbolusgabe wurde diese Rate nur um 10% gesenkt ($P=0,43$) (Tab. 2) (232). Zudem zeigte die Abciximabtherapie einen deutlichen Langzeiteffekt mit Reduktion von erneuten kardialen Ereignissen während der folgenden sechs Monate sowie nach einem und drei Jahren. Als gravierender Nachteil der Abciximabanwendung stellte sich der Anstieg der Rate von schweren Blutungen heraus. Unter Abciximabbolusgabe und anschließender -infusion kam es bei 14% der Patienten zu schweren Blutungen; in der Placebogruppe bei lediglich 6,6%. Die Mehrheit der Blutungen trat am femoralen Gefäßzugang oder bei koronarer Bypassoperation auf (Tab. 2) (232).

In der Nachfolgestudie EPILOG („evaluation of PTCA to improve longterm outcome by c7E3 GPIIb-IIIa receptor blockade”), die 2792 Patienten mit normalem PTCA-Risiko umfaßte, konnten Blutungskomplikationen durch Dosisreduktion der begleitenden Heparintherapie unter Erhalt der Effektivität verringert werden. Bei Reduktion der Standardheparindosis von 100 IE/kg auf 70 IE/kg konnte kein signifikanter Unterschied zwischen der Abciximabgruppe und der Placebogruppe hinsichtlich des Risikos für schwere Blutungen festgestellt werden (Tab. 2). Allerdings bestätigte die EPILOG-Studie den unter Abciximabtherapie beobachteten Langzeiteffekt nicht (195, 233).

Die CAPTURE-Studie („chimeric 7E3 antiplatelet therapy in unstable angina refractory to standard treatment”) ergab, daß bei schwerer instabiler Angina pectoris eine 17- bis 25stündige Vorbehandlungsphase mit Abciximab im Vergleich zu einer Vorbehandlungsphase mit Heparin und Azetylsalizylsäure den Erfolg einer späteren Revaskularisierung durch PTCA wesentlich verbessert (Tab. 2) (231, 245).

In der RAPPORT-Studie („ReoPro in acute myocardial infarction and primary PTCA organization and randomized trial“) wurde gezeigt, daß die Abciximabbolusgabe mit anschließender zwölfstündiger Abciximabinfusion im Vergleich zur Placebogabe bei direkter PTCA im akuten Myokardinfarkt zu

einer signifikanten Reduktion der gemeinsamen Endpunkte von Tod, Re-Infarkt oder Re-Intervention nach 7 Tagen (3,3% vs 8,7%, $P=0,015$) bzw. nach 30 Tagen (4,9% vs 10,3%, $P=0,034$) führt (236) (Tab. 2).

Die erste randomisierte Studie, die die Wirksamkeit des GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten Abciximab bei koronarer Stentimplantation untersuchte, war die EPISTENT-Studie („evaluation of **p**latelet I**b**/III**a** inhibitor for **s**tenting“). Sie umfaßte 2399 für eine Stentimplantation geeignete Patienten, die randomisiert drei verschiedenen Behandlungsarmen zugeteilt wurden (242):

1. Standardheparin (100 IE/kg), Placebo und Stentimplantation
2. niedrigdosiertes Heparin (70 IE/kg), Abciximabbolus mit anschließender zwölfstündiger Abciximabinfusion und Stentimplantation
3. niedrigdosiertes Heparin (70 IE/kg), Abciximabbolus mit anschließender zwölfstündiger Abciximabinfusion und PTCA (234, 242).

Alle Patienten erhielten zusätzlich Azetylsalizylsäure und Tiklopidin. Stentimplantation und Abciximabgabe sowie PTCA und Abciximabgabe führten zu einer signifikanten Reduktion der Rate der Studienendpunkte (Tod, Myokardinfarkt und Re-Angioplastie) im Vergleich zur Stentimplantation mit alleiniger Heparinabgabe (10,8%: Stentimplantation und alleinige Heparinabgabe versus 6,9%: PTCA und Abciximabgabe [$P=0,007$] versus 5,3%: Stentimplantation und Abciximabgabe [$P<0,001$]) (Tab. 2) (2, 145, 234, 242). Darüber hinaus zeigte die Abciximabgabe bei Stentimplantation, verglichen mit alleiniger Heparinabgabe bei Stentimplantation, einen deutlichen Langzeiteffekt mit 57%iger Verringerung der Mortalitätsrate während der folgenden zwölf Monate (242).

Die ERASER-Studie („evaluation of **R**eo**P**ro and stenting to **e**liminate **r**estenosis“) untersuchte bei 225 Patienten inwieweit die periinterventionelle Abciximabgabe (0,25 mg Bolus mit anschließender 12stündiger Infusion oder 24stündiger Infusion von $10\mu\text{g}/\text{min}$) die Stentrestenoserate im Vergleich zur Placebogabe beeinflußt. Nach 6 Monaten ergaben sich zwischen den drei Behandlungsregimen hinsichtlich der Restenoserate im Stentbereich, die durch intrakoronaren Ultraschall verifiziert wurde, keine signifikanten Unterschiede.

Bis heute wurde eine Reihe von peptidischen GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten wie Eptifibatid (Integrelin) (IMPACT-II-Studie [“**i**ntegrelin to **m**anage **p**latelet **a**ggregation to **c**ombat **t**hrombosis“], ESPRIT-Studie) (Tab. 2) (48, 235, 210) und nicht-peptidischen GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten wie Lamifiban und Aggrastat (Tirofiban) (RESTORE-Studie [“**r**andomized **e**fficacy **s**tudy of **t**irofiban for **o**utcomes and **r**estenosis“]) (Tab. 2) (237) entwickelt und klinisch geprüft. Sie besitzen alle unterschiedliche Wirkungsprofile. Peptidische Rezeptorantagonisten beinhalten die Aminosäuresequenz RGD oder KGD und besitzen eine zyklische Struktur zur spezifischen Wirkungsverstärkung und zum Schutz vor enzymatischem Abbau. Nicht-peptidische Rezeptorantagonisten sind synthetische RGD-Mimetika. Vor kurzem kam es zur Entwicklung oral wirksamer Antagonisten wie Xemilofiban (ORBIT-Studie [“**o**ral glycoprotein I**b**-III**a** receptor blockade to inhibit thrombosis“]) (112, 114, 218), Orbofiban,

Sibrafiban und Lefradifiban, die sich in der Langzeitbehandlung jedoch nicht bewährt haben (116).

Tabelle 2: *GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten in der interventionellen Kardiologie.*

| Studie/Jahr | Behandlungspläne | *Erreichen der Studienendpunkte | **Auftreten von schweren Blutungen |
|--------------------------|--|---------------------------------|------------------------------------|
| EPIC/1994 n=2099 | Abciximabbolus/-infusion + Heparin vs | 8.3% vs (P=0.008) | 15% vs |
| | Abciximabbolus + Heparin vs | 11.5% vs (P=0.43) | 13% vs |
| | Placebo + Heparin | 12.8% | 7% (P<0.1) |
| EPILOG/1997 n=2792 | Abciximab+Heparin(Standarddosis) vs | 5.4% vs (P<0.001) | 3.3% vs |
| | Abciximab + Heparin (Niedrigdosis) vs | 5.2% vs (P<0.001) | 1.9% vs |
| | Placebo+Heparin (Standarddosis) | 11.7% | 3.9% (P=0.46) |
| CAPTURE/1997 n=1265 | Abciximab + Heparin vs | 11.3% vs | 7.1% vs |
| | Heparin | 15.9% (P=0.012) | 3.4% (P<0.005) |
| IMPACT-II/1997 n=4010 | Eptifibatide (135/0.5) + Heparin vs | 9.2% vs | 5.6% vs |
| | Eptifibatide (135/0.75) + Heparin vs | 9.9% vs | 5.9% vs |
| | Placebo + Heparin | 11.4% | 5.2% (P=°NS) |
| RESTORE/1997 n=2212 | Tirofiban (10/0.15) + Heparin vs | 10.3% vs | |
| | Heparin | 12.2% (P=0.16) | |
| RAPPORT/1998 n=483 | Abciximabbolus/-infusion vs | 4,9% vs | |
| | Placebo | 10,3% (P=0,034) | |
| EPISTENT/1998 n=2399 | Stentimplantation+Abciximabbolus/-infusion+ Heparin (Niedrigdosis) vs | 5,3% vs (P<0.001) | 1,5% vs |
| | PTCA + Abciximabbolus/-infusion + Heparin (Niedrigdosis) vs | 6,9% vs (P=0.007) | 1,4% vs |
| | Stentimplantation + Placebogabe + Heparin (Standarddosis) | 10,8% | 2,2% (P=0,38) |

°NS: nicht signifikant; P-Werte sind nur dann aufgeführt, wenn sie zur Verfügung standen.

**Alle Studien benutzten die TIMI-Kriterien zur Klassifikation der Blutung.

*Als Studienendpunkte waren Tod, Myokardinfarkt, aortokoronare Bypassoperation oder wiederholte koronare Angioplastie wegen akuter Ischämie, Stentimplantation oder intraaortale Gegenpulsation definiert.

Obgleich alle derzeit verfügbaren Fibrinogenrezeptorantagonisten ein identisches Wirkungsprinzip aufweisen, unterscheiden sie sich hinsichtlich, struktureller Eigenschaften, Bindungsspezifität, Pharmakokinetik und Pharmakodynamik erheblich (72, 117, 120, 121, 163, 228, 229).

Größe und Struktur der Fibrinogenrezeptorantagonisten bestimmen den Bindungsort auf dem thrombozytären GPIIb-IIIa-Rezeptor.

Eptifibatide, Tirofiban und Lamifiban sind kleine Moleküle (500 Da bis 800 Da), die in die GPIIb-IIIa-Rezeptor-Bindungsfurche für Liganden vom RGD-Typ passen. Die komplementäre Paßform gewährleistet eine hohe Bindungsspezifität der Moleküle für GPIIb-IIIa (228, 229).

Im Gegensatz dazu ist Abciximab (45.000 Da) zu groß für die Interaktion mit der ligandenbindenden Tasche. Bei Rezeptorbindung bedeckt Abciximab den GPIIb-IIIa-Komplex vergleichbar mit einem Hut und interferiert dabei mit einem komplexen Ligandenbindungsort der β_3 -Untereinheit des Fibrinogenrezeptors (228, 229).

Neben dem thrombozytären Fibrinogenrezeptor blockiert Abciximab zudem den Vitronektinrezeptor ($\alpha_v\beta_3$), der die β_3 -Untereinheit des GPIIb-IIIa-Rezeptors enthält und vornehmlich auf Endothelzellen und glatten Muskelzellen exprimiert wird (34). Der Vitronektinrezeptor spielt eine wesentliche Rolle bei der Migration und Proliferation glatter Muskelzellen sowie bei der intimalen Hyperplasie nach Gefäßverletzung. Aus diesem Grund wird eine anti-proliferative Wirkung von Abciximab durch Blockade des Vitronektinrezeptors diskutiert (72, 120, 121).

Durch Bindung an den auf Granulozyten, Monozyten und natürlichen Killerzellen vorkommenden MAC-1-Rezeptor verringert Abciximab die Leukozyten-Thrombozyten-Interaktion sowie die Adhäsion von Monozyten an die verletzte Gefäßwand und wirkt dadurch potentiell antiinflammatorisch (72, 120, 121).

Hinsichtlich Pharmakokinetik und Pharmakodynamik ergeben sich zwischen den Fibrinogenrezeptorantagonisten folgende Unterschiede:

Eptifibatide, Tirofiban und Lamifiban sind kompetitive Rezeptorantagonisten, deren antithrombozytärer Effekt konzentrationsabhängig ist; die Stöchiometrie (Verhältnis der Zahl der Rezeptorantagonistenmoleküle zur Zahl der GPIIb-IIIa-Rezeptoren) beträgt mehrere Hundert Moleküle pro GPIIb-IIIa-Rezeptorkomplex (228, 229). Nach i.v.-Gabe werden maximale Plasmaspiegel innerhalb von 5 Minuten erreicht (121). 25% der Moleküle im Plasma sind an Plasmaproteine gebunden, die restlichen 75% stellen den pharmakologisch aktiven Pool dar (121). Eptifibatide, Tirofiban und Lamifiban sind niedrigaffine Antikörper mit einer relativ langen Plasmahalbwertszeit ($\leq 2,5$ Stunden) und kurzer Wirkdauer am Fibrinogenrezeptor (120). 4 Stunden nach Beendigung der Fibrinogenrezeptorantagonistengabe kann eine thrombozytenaggregationshemmende Wirkung nicht mehr nachgewiesen werden (121, 228).

Im Gegensatz dazu ist Abciximab ein hochaffiner Antikörper. Die Stöchiometrie (Verhältnis der Zahl der Rezeptorantagonistenmoleküle zur Zahl der GPIIb-IIIa-Rezeptoren) beträgt 1,5 Moleküle pro GPIIb-IIIa-Rezeptorkomplex (120, 228). Nach i.v.-Gabe bindet Abciximab innerhalb von Minuten an den Fibrinogenrezeptor. Ungebundene Abciximabmoleküle werden durch proteolytische Abbauvorgänge aus dem Plasmakompartiment entfernt (Plasmahalbwertszeit $\cong 26$ Minuten) (121). Bedingt durch die hohe Antikörperaffinität kommt es unter Abciximab zu einer langanhaltenden Rezeptorblockade. 24 Stunden nach Ende der Abciximabgabe besteht noch eine 50%ige bis 60%ige Blockade des GPIIb-IIIa-Rezeptors (228). Nach 14 Tagen werden noch Abciximabmoleküle auf der Thrombozytenoberfläche nachgewiesen (121).

Bindungsspezifität, Pharmakokinetik und Pharmakodynamik beeinflussen entscheidend die Wirksamkeit und das Sicherheitsprofil der verschiedenen Fibrinogenrezeptorantagonisten. Die TARGET-Studie („do tirofiban and abciximab for revascularisation give equivalent outcomes trial?“), eine großangelegte, randomisierte Doppelblindstudie mit 4300 Patienten, untersucht derzeit die klinischen Unterschiede der verschiedenen Fibrinogenrezeptorantagonisten (120).

Als unerwünschten Nebeneffekt der parenteralen sowie oralen Fibrinogenrezeptorantagonistentherapie beobachtet man in bis zu 5% der Fälle das Auftreten von sich akut entwickelnden (innerhalb der ersten 24 Stunden nach Therapiebeginn) Thrombozytopenien (<100.000 Blutplättchen/ μl) (118, 141, 229). Besonders schwere Thrombozytopenien (<20.000 Blutplättchen/ μl), die in bis zu 0,7% der Fälle auftreten, gehen mit einem erhöhten Blutungsrisiko, insbesondere der Einstichstelle der arteriellen Schleuse und selten des Zentralnervensystems, einher und stellen für die Patienten eine potentielle Lebensbedrohung dar (201). Die Therapie der Wahl ist nach Absetzen des Fibrinogenrezeptorantagonisten die Infusion von Blutplättchenkonzentraten, die innerhalb von 24 Stunden zum Anstieg der Thrombozytenzahl führen (107).

Die Häufigkeit der signifikanten Thrombozytopenien ist abhängig von der Art des GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten (Abciximab: 0,4% bis 5,6%, Aggrastat: 1,2% bis 1,8%, Eptifibatide: 2,6% bis 3,0%, Lamifiban: 0,8% bis 2,8%), dessen Dosierung und Anwendungsdauer sowie der antithrombotischen Begleittherapie (73, 141, 201, 229).

Wichtigste Differentialdiagnose der rezeptorantagonisteninduzierten Thrombozytopenie ist die Pseudothrombozytopenie in EDTA-Blut durch Bildung von Plättchenaggregaten, die nach Sane et al. für ein Drittel (36,3%) der unter peri- und postinterventioneller Abciximabtherapie auftretenden, verminderten Blutplättchenzahlen verantwortlich ist (201). Zum Ausschluß der Pseudothrombozytopenie wird die Bestimmung der Thrombozytenzahl im Zitratblut wiederholt (6).

Der ursächliche Mechanismus der rezeptorantagonisteninduzierten Thrombozytopenie ist derzeit noch weitgehend ungeklärt.

1.3 Polymorphismen der thrombozytären Glykoproteinrezeptoren

Plättchenmembranglykoproteine sind hochgradig polymorph (169, 174). Zur Zeit kennt man zehn plättchenspezifische, diallelische Alloantigensysteme: HPA (human platelet antigen) 1-8, Nak¹ und Sit^a. Sie unterscheiden sich jeweils durch eine einzige Basenpaarsubstitution, die zum Austausch einer einzigen Aminosäure im entsprechenden Glykoprotein führt (125, 170, 202, 240).

Diese molekularen Varianten der Glykoproteinrezeptoren können zur Entwicklung einer Alloimmunantwort führen, die sich klinisch als Posttransfusionspurpura (PTP) oder neonatale alloimmunologische thrombozytopenische Purpura (NAITP) manifestiert (247).

Die Posttransfusionspurpura (PTP) ist sehr selten. Bis heute wurde weltweit von 200 Fällen berichtet (4). Es handelt sich hierbei meist um vielgebärende Frauen, die durch vorausgegangene Schwangerschaften gegen „fremde“ Thrombozytenantigene sensibilisiert wurden. Ungefähr eine Woche nach Bluttransfusion kommt es zu einer antikörpervermittelten Blutplättchenzerstörung, die zu einer ernsten Thrombozytopenie und einem hämorrhagischen Syndrom führt. Dabei werden nicht nur die Thrombozyten des Spenders zerstört, sondern auch die des Patienten. Der dafür verantwortliche Mechanismus ist unbekannt. Nach ein bis sechs Wochen verschwindet die PTP wieder spontan.

Die neonatale alloimmunologische thrombozytopenische Purpura (NAITP) tritt mit einer Häufigkeit von 1:2000 Lebendgeburten auf (150). Sie ist das Resultat mütterlicher Sensibilisierung gegen vererbte väterliche Antigene, die auf den fetalen Thrombozyten exprimiert sind. Durch die transplazentare Passage mütterlicher Antikörper kommt es zur Thrombozytenzerstörung im Feten mit nachfolgendem hämorrhagischem Syndrom. Die NAITP ist der Erythroblastosis fetalis (Morbus haemolyticus), die durch Rhesusunverträglichkeit verursacht wird, ähnlich. Im Gegensatz zur Erythroblastosis, die erst nach einer Sensibilisierung der Mutter durch eine vorausgegangene Schwangerschaft auftritt, entwickelt sich die NAITP ohne Warnung bei der ersten Schwangerschaft.

Hauptziel der antithrombozytären Antikörper ist der GPIIb-IIIa-Komplex (Fibrinogenrezeptor). Am häufigsten betroffen ist das HPA-1 (PI^A)- System (>90% der berichteten Fälle von PTP und NAITP in der weißen Bevölkerung [126]). HPA-1 ist ein Polymorphismus des GPIIIa, der aus einer Substitution von Leucin an Stelle 33 der Aminosäurekette (HPA-1a, PI^{A1}) durch Prolin (HPA-1b, PI^{A2}) resultiert (Abb. 11) (Tab. 3). Die Domäne, die von anti-HPA-1a-Antikörper erkannt wird, liegt nahe einer „aktiven Stelle“. Antikörperbindung führt zur Behinderung der Aggregation (126).

HPA-4 (Pen oder Yuk), HPA-6 (Ca oder Tu), HPA-7 (Mo) und HPA-8 (Sr) sind ebenfalls Alloantigensysteme des GPIIIa und an der Entstehung von PTP und NAITP beteiligt (Abb. 11) (174).

Für GPIIb wurde bis jetzt nur ein einziges diallelisches System beschrieben: der HPA-3 (Bak)-Polymorphismus. HPA-3a (Bak^a) kodiert für Serin an Stelle 843 der Aminosäurekette, HPA-3b (Bak^b) für Isoleucin (Abb. 11) (Tab. 3) (174).

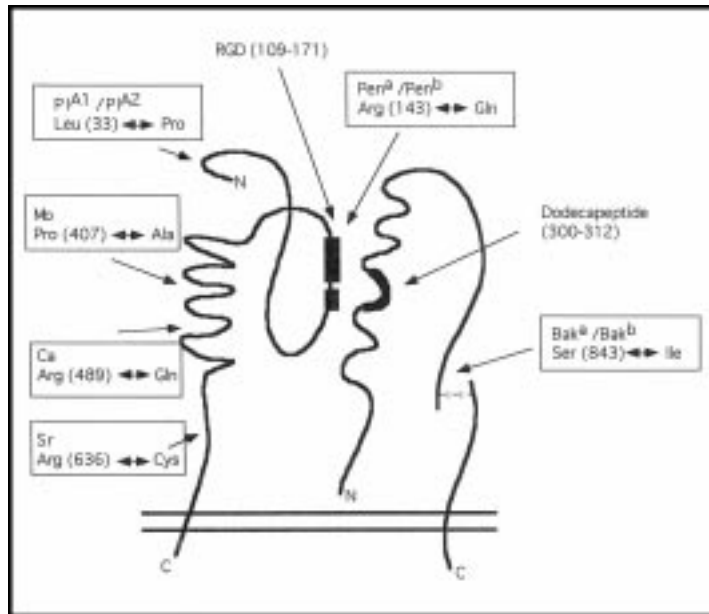


Abb. 11: Polymorphismen des Glykoprotein IIb-IIIa-Rezeptors (Fibrinogenrezeptor).

Für GPIIb α sind zwei unterschiedliche Alloantigensysteme beschrieben: HPA-2 (Ko oder Sib), eine Threonin¹⁴⁵ (HPA-2a, Ko^a) - Methionin (HPA-2b, Ko^b)-Substitution (124) nahe der vWF- bzw. α -Thrombinbindungsstelle (84) (Tab. 3) und VNTR, ein zweiter Polymorphismus, der vier verschiedene Größenvarianten des GPIIb α bedingt (84). Durch molekulare Gewichtsmessungen konnten vier Klassen von GPIIb α bestimmt werden, die mit A, B, C und D nach abnehmender Molekülmasse bezeichnet wurden. Nachfolgende Studien erklärten die Größendifferenz der Moleküle durch eine unterschiedliche Anzahl von Tandemwiederholungen („variable number of tandem repeats“ [VNTR]) einer 13-Aminosäuresequenz in der Makroglykopeptidregion von GPIIb α : eine (molekulare Gewichtsklasse D), zwei (molekulare Gewichtsklasse C), drei (molekulare Gewichtsklasse B) oder vier Wiederholungen (molekulare Gewichtsklasse A) (138). Mit jeder Tandemwiederholung entfernt sich die vWF-Bindungsstelle weiter von der Thrombozytenoberfläche. Der VNTR-Polymorphismus ist mit dem HPA-2-Polymorphismus gekoppelt. HPA-2a ist mit der molekularen Gewichtsklasse D (eine Wiederholung) oder C (zwei Wiederholungen) und HPA-2b mit der molekularen Gewichtsklasse B (drei Wiederholungen) oder C verbunden (220).

Es gibt erste Hinweise, daß thrombozytäre Polymorphismen das Adhäsions- und Aggregationsverhalten der Thrombozyten beeinflussen (175). Neuere Forschungsergebnisse beschreiben, daß ein Polymorphismus des GPIIIa (HPA-1b, PI^{A2}) mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung koronarer Erkrankungen und die Entwicklung eines Myokardinfarkts verbunden ist (250). Weiss et al. zeigten, daß in einer Gruppe von 71 Patienten mit Myokardinfarkt und instabiler Angina die Prävalenz des HPA-1b-Allels doppelt so hoch war wie in der Vergleichsgruppe; und sogar 3,6 mal so hoch unter den Patienten, deren koronare Herzkrankheit vor dem 60. Lebensjahr entdeckt wurde (250). Diese Publikation erregte großes Interesse, führte aber auch zu kontroversen Diskussionen, zumal diese Ergebnisse durch einige Studien bestätigt (25, 53, 54, 83, 254) und durch andere widerlegt wurden (19, 41, 54, 56, 95, 106, 192, 200, 204, 223). Als ursächlich für diese widersprüchlichen Studienergebnisse werden die unterschiedlich großen Fallzahlen der Studien diskutiert. Es fällt auf, daß kleine Studien eine Assoziation zwischen dem HPA-1b (PI^{A2})-Phänotyp und einem erhöhten Risiko für die Entstehung koronarer Erkrankungen zeigen, wohingegen großangelegte Studien, in denen das Risiko eines Zufallsbefundes vermindert ist, einen Zusammenhang verneinen (87, 176, 193). Weiter spielt bei der Durchführung genetischer Studien die Auswahl einer adäquaten Kontrollgruppe eine große Rolle, da die Allelhäufigkeit einzelner Gene in verschiedenen ethnischen Gruppen variiert (142). Darüber hinaus kann nicht ausgeschlossen werden, daß der HPA-1 (PI^A)-Polymorphismus mit einem anderen unidentifizierbaren genetischen Marker verbunden ist, welcher der eigentliche, aktive Faktor ist (175, 176).

Zur letztendlichen Klärung der Frage, ob der HPA-1b (PI^{A2})-Phänotyp mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung koronarer Erkrankungen verbunden ist, bedarf es sicherlich weiterer, großangelegter, randomisierter Fallkontrollstudien mit klar definierten Ein- und Ausschlußkriterien.

Neuere Untersuchungen zeigen einen Einfluß des HPA-1 (PI^A)-Polymorphismus auf die Restenoserate nach koronarer Stentimplantation (109, 110, 143). Kastrati et al. schlossen in ihre Studie 1150 Patienten ein, bei denen eine erfolgreiche Stentimplantation durchgeführt wurde, und untersuchten nach 6 Monaten die Restenoserate im Stentbereich mittels Koronarangiographie. HPA-1b (PI^{A2})-positive Patienten zeigten eine signifikant höhere Restenoserate verglichen mit HPA-1b (PI^{A2})-negativen Patienten (47% versus 38%, $P=0.009$). Darüber hinaus konnte ein Gendosiseffekt nachgewiesen werden. Das Risiko, eine Restenose zu entwickeln, war für homozygote Träger des PI^{A2} -Allels am höchsten (53,1% Restenoserate) (109, 110). Andere Studien konnten die Ergebnisse von Kastrati et al. bestätigen (143).

Auch der VNTR-Polymorphismus und der HPA-2-Polymorphismus spielen bei der Entstehung arterieller Erkrankungen eine Rolle. Der unterschiedliche Abstand der vWF-Bindungsregion auf GPIIb/IIIa von der Thrombozytenoberfläche, der durch den VNTR-Polymorphismus bedingt ist,

beeinflusst die Thrombozyten-vWF-Interaktion. HPA-2 modifiziert durch seine Nähe zur vWF-Bindungsstelle die Rezeptorfunktion (20, 84).

Im Gegensatz dazu kann der HPA-3 (Bak)-Polymorphismus nicht als sinnvoller, unabhängiger, genetischer Marker zur Risikoabschätzung bei der Entwicklung koronarer Erkrankungen bzw. einer koronaren Stentthrombose benutzt werden (18, 19).

Neuere Erkenntnisse zeigen darüber hinaus eine funktionelle Rolle der thrombozytären Polymorphismen. Man diskutiert ihren Einfluß auf die Gentranskription, die Glykoproteinbiosynthese und den Glykoproteintransport zur Zellmembran. So wurde beschrieben, daß zwei miteinander gekoppelte, diallelische Polymorphismen innerhalb der kodierenden Sequenz des α_2 -Gens die Rezeptordichte des $\alpha_2\beta_1$ (Integrin das wesentlich bei der Plättchenadhäsion an Kollagen beteiligt ist) auf der Thrombozytenoberfläche bestimmen (128).

Die Assoziation zwischen dem HPA-1b (PI^{A2})-Polymorphismus und dem akuten Koronarsyndrom bzw. der erhöhten Restenoserate nach koronarer Stentimplantation impliziert, daß diese genetische Variation möglicherweise eine thrombozytäre Hyperaktivität bedingt. Die funktionelle Bedeutung des HPA-1b (PI^{A2})-Polymorphismus hinsichtlich Thrombozytenaktivierung, Fibrinogenbindungsaffinität und Aggregabilität wurde in mehreren in vitro Studien untersucht.

Die kürzlich durchgeführte Framingham Offspring Studie, die mittels allelspezifischer Restriktionsenzymanalyse den HPA-1 (PI^A)-Genotyp und mittels aggregometrischer Verfahren die thrombozytäre Reaktivität von 1422 Patienten untersuchte, zeigte einen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des HPA-1b (PI^{A2})-Allels und einer erhöhten Epinephrin- bzw. ADP-induzierten in vitro Thrombozytenaggregabilität. Zur Induktion der Blutplättchenaggregation bedurfte es 0,9 μmol Epinephrin bei (PI^{A1})-homozygoten Individuen, 0,7 μmol Epinephrin bei (PI^{A2})-heterozygoten Individuen und 0,6 μmol Epinephrin bei (PI^{A2})-homozygoten Individuen ($P=0.009$) (47). Michelson et al. bestätigten durch ihre in vitro Studie die „Hyperreaktivität“ (PI^{A2})-positiver Thrombozyten. Verglichen mit (PI^{A1} , PI^{A1})-Thrombozyten zeigten (PI^{A2})-positive Thrombozyten eine erhöhte Aktivierung des GPIIb-IIIa-Rezeptors und eine verstärkte Degranulation und P-Selektin Expression bei Zusatz von ADP sowie eine vermehrte Fibrinogenbindung im ruhenden und aktivierten Zustand (158). Ebenso konnten Goodall et al. eine signifikant höhere Fibrinogenbindung an HPA-1b (PI^{A2})-positive GPIIb-IIIa-Rezeptoren unter ADP-Stimulation, verglichen mit der Kontrollgruppe, nachweisen (85). Dieses Ergebnis läßt vermuten, daß der HPA-1 (PI^A)-Polymorphismus entweder die Rezeptorfunktion (z.B. Ligandenaffinität) oder die intrazelluläre Signaltransduktion beeinflusst. Neuere Studienerkenntnisse beschreiben den Einfluß des HPA-1b (PI^{A2})-Polymorphismus auf den thrombozytären Signaltransduktionsweg. HPA-1b (PI^{A2})-positive Thrombozyten

zeigen im Vergleich zu HPA-1b (PI^{A2})-negativen Thrombozyten eine verstärkte Adhäsion an immobilisiertes Fibrinogen und erfahren nachfolgend, durch polymorphismusbedingte Unterschiede der Signaltransduktionskaskade, eine verstärkte Formveränderung, eine erhöhte F-Aktin-Filamentbildung und eine Zunahme der Tyrosinphosphorylierung (246).

Die Erkenntnisse der *in vitro* Studien hinsichtlich der funktionellen Rolle der thrombozytären Polymorphismen sind jedoch nicht einheitlich. Einige Studien konnten keinen Zusammenhang zwischen dem HPA-1b (PI^{A2})-Polymorphismus und der Thrombozytenaggregabilität, dem Aktivierungsprofil der Blutplättchen sowie der Fibrinogenbindungsaffinität nachweisen (37, 152) bzw. zeigten eine Hypoaggregabilität der HPA-1b (PI^{A2})-positiven Thrombozyten bei Stimulation mit TRAP (thrombin receptor activating peptide) und ADP (129). Adrioli et al machten für die HPA-1b (PI^{A2})-Allel-assoziierte „Hypoaktivität“ eine verminderte Aktivierung des Fibrinogenrezeptors durch Thromboxan A₂ verantwortlich (3).

Die Molekularbiologie eröffnet neue Felder der Thrombozytenforschung. Die Erforschung der verschiedenen Polymorphismen der thrombozytären Glykoproteinrezeptoren kann möglicherweise helfen, Risikopatienten zu erkennen, die der neuen, aber relativ teuren GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten-therapie bedürfen.

Tabelle 3: Polymorphismen der thrombozytären Glykoproteinrezeptoren.

| Glykoprotein-rezeptor | Alloantigensystem | andere veröffentliche Namen | Allelformen | phänotypische Häufigkeit |
|-----------------------|-------------------|-----------------------------|---|-------------------------------|
| GPIIIa | HPA-1 | PI ^A , Zw | HPA-1a, HPA-1b PI ^{A1} , PI ^{A2} | 72% a/a 26% a/b 2% b/b |
| GPIb | HPA-2 | Ko, Sib | HPA-2a, HPA-2b Ko ^a , Ko ^b | 85% a/a 14% a/b 1% b/b |
| GPIIb | HPA-3 | Bak, Lek | HPA-3a, HPA-3b Bak ^a , Bak ^b | 37% a/a 48% a/b 15% b/b |

2. Zielsetzung

Ballonangioplastie und intrakoronare Stentimplantation stellen etablierte Verfahren zur Behandlung der therapierefraktären koronaren Herzkrankheit dar. In großen randomisierten Studien konnte gezeigt werden, daß präinterventionelle Abciximabbolusgabe und anschließende zwölfstündige Abciximabinfusion die peri- und postinterventionelle Rate ischämischer Komplikationen und kardialer Ereignisse signifikant senken können. Die Abciximabgabe ist jedoch mit einem erhöhten Blutungsrisiko und der Gefahr einer sich entwickelnden Thrombozytopenie verbunden. Neben einer Vielzahl klinischer Studien über die Wirksamkeit der GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten gibt es bis heute keine Veröffentlichung, die den Funktionszustand der thrombozytären Glykoproteine im Verlauf der Abciximabtherapie bei Patienten mit koronarer Stentimplantation beschreibt.

Die vorliegende Arbeit soll einen Beitrag zu folgenden Fragestellungen leisten:

1. Führt die periinterventionelle Gabe des Fibrinogenrezeptorantagonisten Abciximab bei Patienten mit koronarer Stentimplantation zu signifikanten Änderungen des Funktions- und Konformationszustandes der thrombozytären Membranglykoproteine?

2. Besteht unter Abciximabtherapie ein Zusammenhang zwischen dem Funktionszustand der thrombozytären Membranglykoproteine und dem Verlauf der Thrombozytenzahlen im peripheren Blut bzw. der Entwicklung einer Thrombozytopenie?

3. Zeigen sich unter Abciximabtherapie in Abhängigkeit von der Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (Pl^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak) Unterschiede hinsichtlich der Thrombozytenfunktion und Fibrinogenrezeptorblockade? Besteht eine diagnostische Wertigkeit thrombozytärer Polymorphismen für den periinterventionellen Einsatz des Fibrinogenrezeptorantagonisten Abciximab bei Patienten mit koronarer Stentimplantation?

Zur Klärung dieser Fragen charakterisierten wir die Thrombozytenfunktion vor, während und nach Abciximabtherapie anhand durchflußzytometrischer Parameter, untersuchten den Verlauf der Thrombozytenzahlen im peripheren Blut und bestimmten die Allelausprägung der Thrombozytenmembranglykoproteinpolymorphismen HPA-1 (Pl^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak) mit Hilfe der allelspezifischen Restriktionsenzymanalyse.

3. Patienten und allgemeine Methodik

3.1 Studiendesign und Auswahl der Patienten

In unsere vergleichende Studie wurden 43 konsekutive Patienten mit symptomatischer ischämischer Herzkrankheit eingeschlossen, um die Auswirkung der Fibrinogenrezeptorantagonisierung auf die Thrombozytenfunktion zu untersuchen. Alle Patienten erhielten eine PTCA mit Stentimplantation. Die koronare Ballonangioplastie und Stentimplantation wurden über den transfemorale Zugang nach Judkins-Technik durchgeführt. Die angiographische Darstellung der Koronararterien erfolgte mit anionischem Kontrastmittel (Solutrast 370, Byk-Gulden). Vier Stunden nach Intervention wurde der arterielle Zugang wieder entfernt und die Einstichstelle mit einem Druckverband versorgt.

Die 43 Patienten wurden durch zeitliche Randomisierung einem von zwei begleitenden, medikamentösen Therapieplänen zur Optimierung des PTCA-Ergebnisses zugeteilt:

Die Studiengruppe (Abciximabgruppe) bestand aus 20 Patienten, die vor Durchführung der koronaren Intervention intravenös einen Abciximabbolus (0,25 mg/kg Körpergewicht), einen an das Körpergewicht angepaßten Bolus unfraktioniertes Heparin (70 IE/kg Körpergewicht) und 500 mg ASS erhielten. Nach Abciximabbolusgabe wurde mit einer zwölfstündigen Abciximabinfusion (10 µg/min) begonnen. Dies entspricht dem in der EPILOG-Studie angewandtem Therapieschema (233). Keiner der in die Studie eingeschlossenen Patienten wurde jemals zuvor mit Abciximab behandelt.

Die Kontrollgruppe (HeparinGruppe) mit 23 Patienten erhielt vor Beginn der Angioplastie intravenös einen Bolus unfraktioniertes Heparin (15.000 IE) und 500 mg ASS. Postinterventionell wurde mit einer zwölfstündigen Heparininfusion begonnen, um einen PTT-Wert zu erhalten, der doppelt so hoch wie der Normalwert (ca. 60 bis 90 Sekunden) liegt.

Allen Patienten wurde täglich zweimal 100 mg ASS (Aspirin, Bayer) p.o. und zweimal 250 mg Tiklopidin (Tiklyd) p.o., beginnend am Tag der Intervention, verabreicht.

Patienten mit hämorrhagischer Diathese oder einer anderen, die Thrombozytenfunktion beeinflussenden Krankheit, wie Multiorganversagen, Sepsis, chronische Entzündung, aktive Blutung, chronisches Nierenversagen, Leberinsuffizienz oder schwere Anämie (43, 59, 60, 61, 62, 224), wurden von der Studie ausgeschlossen. Ebenso stellten Kontraindikationen gegen eine Antikoagulationstherapie sowie ein akutes Koronarsyndrom ein Ausschlusskriterium dar.

Die Ethikkommission der Technischen Universität München genehmigte das Studienprotokoll. Alle Patienten wurden vor Studienbeginn aufgeklärt und willigten schriftlich in die Teilnahme an der Studie ein.

Die Patienten beider Gruppen waren hinsichtlich demographischer (Tab. 4) und angiographischer Daten (Tab. 5) vergleichbar. Die Daten können den folgenden Tabellen entnommen werden.

Tab. 4: Demographische Daten beider Patientengruppen.

| | Abciximabgruppe (n=20) | Heparin-Gruppe (n=23) |
|---|---------------------------|--------------------------|
| Geschlecht (männlich/weiblich) | 13/7 | 17/6 |
| Alter in Jahren, Mittelwert±SD, (Bereich) | 69±8,2 (55-82) | 66±7,3 (45-79) |
| Aktive Raucher, n (%) | 4 (20%) | 6 (26%) |
| Hypercholesterinämie, n (%) | 13 (65%) | 15 (75%) |
| Arterielle Hypertonie, n (%) | 11 (55%) | 16 (70%) |
| Diabetes mellitus, n (%) | 5 (25%) | 3 (13%) |
| Myokardinfarktanamnese, n (%) | 10 (50%) | 14 (61%) |
| Eingeschränkte linksventrikuläre Funktion | 3 (15%) | 4 (17%) |
| Instabile Angina pectoris, n (%) | 2 (10%) | 4 (17%) |
| CABG | 1 (5%) | 2 (7%) |
| PTCA-Anamnese, n (%) | 8 (40%) | 5 (22%) |
| Körpermaß, Mittelwert±SD | 126,5±20,5 | 132±0 |
| Mehrfäßkrankung, n (%) | 12 (60%) | 14 (60,8%) |
| 1 | 8 (40%) | 9 (39,2%) |
| 2 | 6 (30%) | 7 (30,4%) |
| 3 | 6 (30%) | 7 (30,4%) |
| Angioplastiertes Gefäß, n (%) | | |
| LAD | 6 (30%) | 10 (43,5%) |
| LCx | 6 (30%) | 8 (34,8%) |
| RCA | 8 (40%) | 5 (21,7%) |

Abkürzungen: SD, Standardabweichung; PTCA, perkutane transluminale Koronarangioplastie; LAD, left anterior descending coronary artery; LCx, left circumflex coronary artery; RCA, right coronary artery; CABG, coronary artery bypass graft.

Tabelle 5: Angiographische Daten beider Patientengruppen.

| | Abciximabgruppe (n=20) | Heparin-Gruppe (n=23) |
|--|---------------------------|--------------------------|
| Referenzdurchmesser [mm] | 2,91±0,54 | 2,71±0,42 |
| Minimal. Lumendurchmesser vorher [mm] | 0,46±0,20 | 0,53±0,27 |
| Minimal. Lumendurchmesser nachher [mm] | 2,80±0,56 | 2,58±0,4 |
| Stenosegrad vorher [%] | 83,64±8,66 | 80,23±10,65 |
| Stenosegrad nachher [%] | 7,44±6,10 | 7,20±9,47 |
| Maximaler Inflationsdruck [atm] | 12±3,77 | 13,26±3,48 |
| Ballon/Gefäß Verhältnis | 1,08±0,08 | 1.10 ±0.08 |

Die Tabelle zeigt Mittelwerte und Standardabweichungen.

3.2 Reagenzien und monoklonale Antikörper

Thrombozyten, die durchflußzytometrisch bestimmt werden sollten, wurden mit CyfixII (Privatdozent Dr. med. Ruf, Klinikum Karlsruhe), das Methacrolein enthält, fixiert (197, 198).

Die monoklonalen Antikörper, die zur Beschreibung des Funktionszustandes der thrombozytären Glykoproteine verwendet wurden, lagen als direkte FITC (Fluorescein-Isothiocyanat)-Konjugate vor, außer anti-CD42b, das mit PE (Phycoerythrin) markiert war. Die monoklonalen Antikörper anti-CD42b, anti-CD41, anti-CD61, anti-CD62P, anti-Fibrinogen, anti-vWF und anti-Faktor VIIIc wurden von der Firma Immunotech (Marseille, France) bezogen. Annexin V kauften wir von Bender Med Systems, Thiazolorange von Becton Dickenson und Echistatin von Sigma. Dr. Mark Ginsberg (Scripps Clinic, La Jolla, USA) stellte uns freundlicherweise die monoklonalen Antikörper LIBS-1 und RIBS zur Verfügung. C7E3 (Abciximab; ReoPro, Centocor) wurde in einer PD Sepharose Säule (Pharmacia) gelfiltrierte und anschließend mit FITC (Fluorescein-Isothiocyanat) markiert. Zur Bestimmung der unspezifischen Membranfluoreszenz wurde ein irrelevanter FITC-markierter monoklonaler Antikörper (Fa. Dianova, Hamburg, Deutschland) verwendet.

Die Bestimmung der Thrombozytenzahl übernahm freundlicherweise die Abteilung für Klinische Chemie des Deutschen Herzzentrums (Dr. med. Braun), München.

DNS zur Bestimmung der Genpolymorphismen wurde aus EDTA-Blut mit Hilfe des QIAmp Blood Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) gewonnen. Für die PCR verwendeten wir folgende Primer von Perkin Elmer:

5'Primer (5`TTCTGATTGCTGGACTTCTCTT3`) 232 (10 pmol/µl) und
3'Primer (5`TCTCTCCCCATGGCAAAGAGT3`) 252 (10 pmol/µl) für HPA-1,
5'Primer (5`CTTCTCCCTGGCAACCCTGAT3`) 202 (10 pmol/µl) und
3'Primer (5`TTCAGCATTGTCCTGCAGCCAGC3`) 221 (10 pmol/µl) für
HPA-2 und

5'Primer (5`GTAAGAGCTGGGTGGAAGAAAGACC3`) 241 (10 pmol/µl)
und 3'Primer (5`CTCCTTAACGTACTGGGAAGC3`) 263 (10 pmol/µl) für
HPA-3.

10 x PCR-Puffer (BM) und Taq-Polymerase (BM) bezogen wir von Boehringer Mannheim GmbH und 10 mM dNTP-Mix (Gibco) von GIBCA BRL Life Technologies. Verdaut wurden die PCR-Proben mit MSP I und 10 x Buffer L (Boehringer Mannheim GmbH) (HPA-1), BsaH I, BSA und NE-Buffer (Bio Labor, New England) (HPA-2) und FOK I und 10 x Buffer M (Boehringer Mannheim GmbH) (HPA-3). 6% TBE-Gel (10 mm x 12 well) stammte von Novel Experimental Technology (San Diego, USA), TBE Buffer von GIBCA

BRL Life Technologies, Marker VIII von Boehringer Mannheim GmbH und TBE Sample Puffer (5x) von ANAMED.

3.3 Probengewinnung und -aufbereitung

Periphervenöse Blutproben wurden kurz vor Medikamentengabe und 12, 24, 48, 72 und 96 Stunden nach Infusionsbeginn aus der mäßig gestauten Kubitalvene der Patienten mit einer 19 Gauche-Kanüle entnommen.

Die ersten 2 ml Blut wurden jeweils verworfen. Anschließend erfolgte die Abnahme von 2,5 ml EDTA-Blut zur Bestimmung der Thrombozytenzahl (mit Hilfe des Coulter Counter [Corning]). Bei Thrombozytopenie wiederholten wir die Bestimmung der Thrombozytenzahl in Zitratblut (6, 38, 225). 20 ml Blut in 3,8%igem Zitrat verwendeten wir für Koagulationsparameterbestimmungen und Aggregationsmessungen, ein 5 ml-Serumröhrchen für Serumanalysen. Für die durchflußzytometrischen Messungen entnahmen wir 0,5 ml Blut in eine Polypropylenkanüle, die 1 ml CyfixII enthielt (45, 75, 197, 198). Nach einer zehnmütigen Fixationszeit, in der das "CyfixII-Röhrchen" auf Eis lag, verdünnten wir den Inhalt mit 50 ml PBS in einem Eppendorfgefäß. Die Blutproben wurden anschließend bei 4° Celsius unter Lichtabschluß bis zur Aufbereitung für die durchflußzytometrische Untersuchung, die innerhalb der nächsten 24 Stunden erfolgte, aufbewahrt. Frühere Studien zeigten, daß die hier angewandte Abnahmetechnik zu keiner meßbaren in vitro Aktivierung der Thrombozyten führt (45, 75, 197, 198).

Um die durch CyfixII fixierten Thrombozyten durchflußzytometrisch analysieren zu können, bereiteten wir sie mit fluorochrommarkierten, plättchen-spezifischen, monoklonalen Antikörpern auf (44, 58, 62). Dabei wurden 40 µl CyfixII-Blut in einem beschrifteten Kunststoffröhrchen (FACS-Röhrchen, Fa. Becton-Dickinson, Heidelberg, Deutschland) mit gesättigten Konzentrationen monoklonaler, direkt fluorochrommarkierter Antikörper für 15 Minuten bei Raumtemperatur unter Lichtabschluß inkubiert: jede Probe mit 5 µl FITC-markiertem Antikörper (anti-CD41, anti-CD61, anti-CD62P, Annexin V, c7E3, Echistatin, anti-Fibrinogen, anti-Faktor VIIIc, LIBS-1, PMI-1, RIBS oder anti-vWF) und 5µl PE-gelabeltem anti-CD42b. Zur Färbung der Thrombozyten mit Thiazolorange verwendeten wir 70 µl Thiazolorange und 10 µl PE-markiertes anti-CD42b. Als unspezifische Kontrolle wurde ein irrelevanter FITC-markierter Antikörper eingesetzt (Dianova, Hamburg). Nach 15 Minuten wurde die Immunfärbung durch Zugabe von 50 µl einer 0,5%igen PFA (Paraformaldehyd)/PBS (Phosphat-Buffered-Saline)-Lösung gestoppt. Im An-

schluß daran folgte die durchflußzytometrische Bestimmung des thrombozytären Funktionszustandes.

Das hier angewandte Studienprotokoll hat sich in früheren Studien als zuverlässig und labortechnisch geeignet herausgestellt (58, 59, 60, 61, 64, 65).

3.4 Durchflußzytometrische Bestimmung des thrombozytären Funktionszustandes

Die durchflußzytometrische Analyse, die auf einer gleichzeitigen Messung von Fluoreszenzintensität und Streulichtsignalen einer Zelle basiert, stellt eine zuverlässige Methode zur Beschreibung des in vivo Funktionszustandes der Thrombozyten dar (133, 156, 226, 157). Die Entwicklung plättchenspezifischer, monoklonaler Antikörper, insbesondere die Entwicklung monoklonaler Antikörper, die die ruhende, aktivierte und ligandenbesetzte Form des GPIIb-IIIa-Rezeptors unterscheiden können, erlaubt genaue Aussagen über Oberflächenexpression und Funktionszustand der thrombozytären Membranrezeptoren zum Zeitpunkt der Blutabnahme (78, 90, 194, 214). Darüber hinaus ermöglicht die hohe Sensibilität der durchflußzytometrischen Analyse die Unterscheidung zwischen aktivierten und nicht aktivierten thrombozytären Subpopulationen (78, 197, 214).

Alle Blutproben wurden in einem Becton Dickinson FACScan Durchflußzytometer (Becton-Dickinson, Heidelberg, Deutschland) analysiert. Zur Kalibrierung des Gerätes verwendeten wir Standard-Fluoreszenz-Mikrobeads (Calibrite^R, Fa. Becton-Dickinson, Heidelberg, Deutschland).

Die "Zweifarb"-Analyse ist derzeit die Methode der Wahl zur durchflußzytometrischen Charakterisierung der Blutplättchenfunktion, da sie eine größtmögliche Sensitivität und Spezifität bei der Identifizierung der Thrombozytenpopulation gewährleistet.

Jede Probe wurde zum einen mit einem PE (Phycoerythrin)-konjugierten, plättchenspezifischen Antikörper (anti-CD42b) gefärbt, um die Thrombozytenpopulation bei der durchflußzytometrischen Messung von Erythrozyten, Leukozyten und Zelldetritus unterscheiden zu können. Zum anderen wurde jede Probe mit einem FITC (Fluorescein-Isothiocyanat)-konjugierten Antikörper inkubiert, um Oberflächenexpression und Funktionszustand der thrombozytären Membranrezeptoren beschreiben zu können. Alle Antikörper wurden im vielfachen Überschuß eingesetzt und lagen in gesättigten Konzentrationen vor.

Bei der durchflußzytometrischen Analyse wurde die Thrombozytenpopulation anhand der räumlichen Streulichtverteilung und der PE-anti-CD42b-Immunofluoreszenz identifiziert und der Registrierbereich des Zytometers

darauf konstant eingestellt (Abb. 12) (78, 214). Auf diese Weise wurde anschließend die FITC-Immunfluoreszenzintensität der Thrombozyten gemessen. Je Probe wurden 5000 Ereignisse bei einer maximalen Flußrate von 60 Ereignissen pro Sekunde gezählt.

Die logarithmisch gemessene Intensität der FITC-Fluoreszenzereignisse wurde in einer Verteilungskurve dargestellt und der Mittelwert der gemessenen Fluoreszenz berechnet (Abb. 12). Die relative mittlere Immunfluoreszenz diente zur Beschreibung der Oberflächenexpression der konstitutionell auf der Thrombozytenmembran vorkommenden Rezeptoren bzw. deren Funktionszustandes und ermöglichte eine Differenzierung zwischen Ruhezustand und Aktivierung der Blutplättchen (Abb. 12). Die Immunfluoreszenzintensität der Antikörper, die an Rezeptoren binden, die nur bei Aktivierung auf der Thrombozytenoberfläche exprimiert werden (P-Selektin), wurde in Prozentpositiven (Prozentsatz nach Abzug der unspezifischen Fluoreszenz) angegeben.

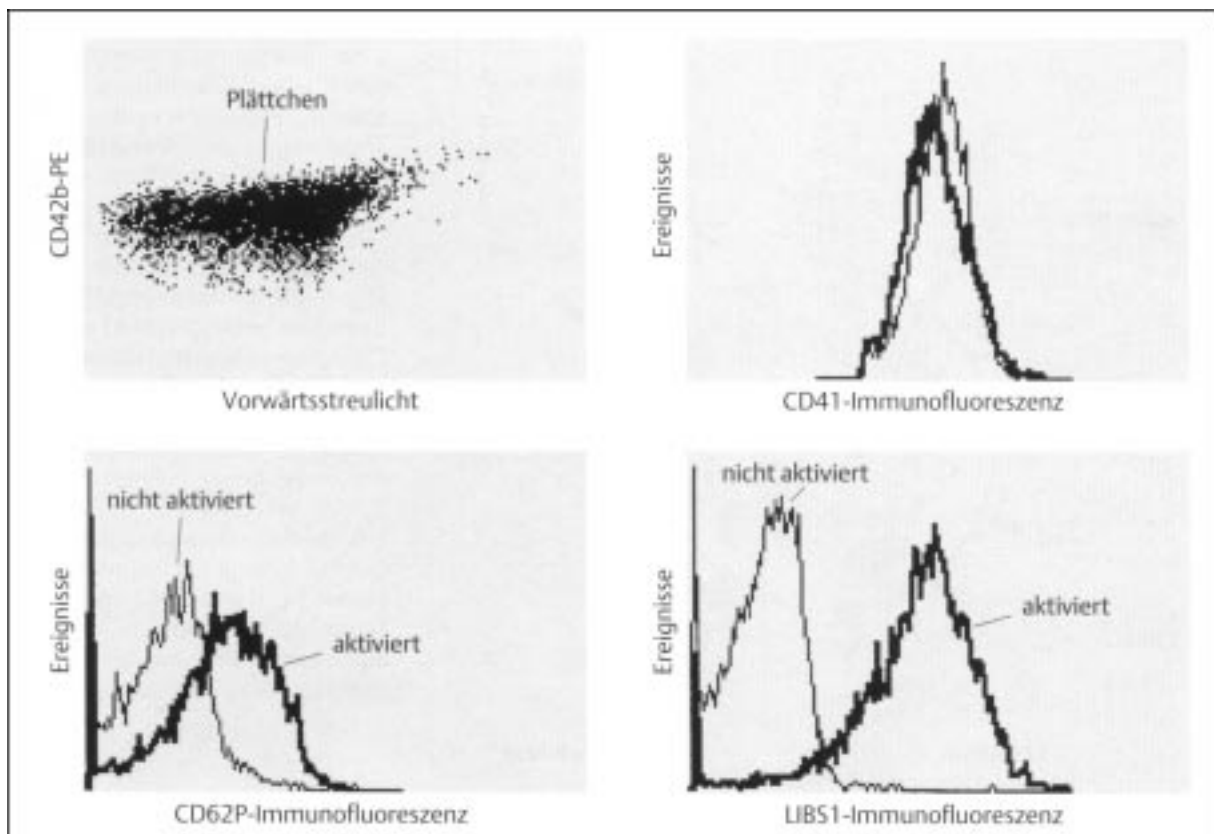


Abb. 12: Durchflußzytometrische Analyse der Blutplättchen („Zweifarbenvollblutmethode“). Die Blutplättchen werden anhand der plättchenspezifischen Immunreaktivität (CD42) und ihres charakteristischen Streulichtverhaltens identifiziert. Danach wird die Thrombozytenaktivierung immunologisch anhand der Bindung von aktivierungsabhängigen monoklonalen Antikörpern identifiziert. (nach (71))

3.5 Allelspezifische Restriktionsenzymanalyse zur Bestimmung der thrombozytären Polymorphismen

Thrombozytäre Alloantigensysteme basieren auf singulären Basenpaar-substitutionen und können daher durch genomische Typisierung beschrieben werden. Die ASRA (allelspezifische Restriktionsenzymanalyse) stellt eine schnelle, zuverlässige und einfach durchzuführende Methode zur Bestimmung thrombozytärer Polymorphismen dar (224).

Genomische DNS wurde jeweils aus 150 µl EDTA-antikoagulierte Vollblut mit Hilfe des QIAmp Blood Kit (Qiagen, Hilden, Deutschland) nach Herstelleranweisung isoliert. Durch PCR (polymerase chain reaction) wurden anschließend die Anteile genomischer DNS verstärkt, welche die polymorphen Sequenzen enthalten: entsprechend für

HPA-1 (PI^A) eine 268 Basenpaare umfassende Sequenz, die das Exon 2 des GPIIIa-Gens enthält,

HPA-2 (Ko) eine 541 Basenpaare umfassende Sequenz, die das Exon 2 des GPIIb α -Gens enthält und

HPA-3 (Bak) eine 460 Basenpaare umfassende Sequenz, die das Exon 26 des GPIIb-Gens enthält.

Dazu benutzten wir folgende Primer:

5`TTCTGATTGCTGGACTTCTCTT3` und 5`TCTCTCCCCATGGCAAAG-AGT3` für HPA-1

5`CTTCTCCCTGGCAACCCTGAT3` und 5`TTCAGCATTGTCCTGCAGCC-AGC3` für HPA-2 und

5`GTAAGAGCTGGGTGGAAGAAAGACC3` und 5`CTCCTTAACGTACT-GGGAAGC3` für HPA-3.

Die Amplifizierung der DNS-Sequenzen erfolgte in einem Thermocycler von Hybaid Omni Gene (MWG Biotech). Die genaue Zusammensetzung des PCR-Ansatzes sowie Zahl, Dauer und Temperatur der Zyklen im Thermocycler können Tabelle 6 entnommen werden.

Nach Durchführung der PCR stellten wir anhand eines Kontrollgels fest, ob eine ausreichende Verstärkung der DNS-Sequenzen erzielt wurde. Bei Genprodukten, die sich auf dem Kontrollgel nur mit einer schwachen Bande darstellten, wiederholten wir die PCR. Anschließend verdauten wir die Proben mit MSP I und 10 x Buffer L (HPA-1, PI^A), BsaH I, BSA und NE-Buffer (HPA-2, Ko) oder FOK I und 10 x Buffer M (HPA-3, Bak). Die PCR-Produkte wurden mit dem entsprechenden Restriktionsenzym für 90 Minuten bei 37° Celsius inkubiert. MSP I schneidet das HPA-1a (PI^{A1}) spezifische PCR-Produkt in drei Fragmente mit einer Basenpaarlänge von 223, 39 und 6 und das HPA-1b (PI^{A2}) spezifische PCR-Produkt in vier Fragmente mit einer Basenpaarlänge von 173,

50, 39 und 6. Das HPA-2a (Ko^a) spezifische PCR-Produkt wird durch BsaH I in drei Fragmente mit einer Basenpaarlänge von 242, 183 und 116 getrennt; das HPA-2b (Ko^b) spezifische PCR-Produkt in zwei Fragmente mit einer Basenpaarlänge von 358 und 183. FOK I schneidet das HPA-3a (Bak^a) spezifische PCR-Produkt in drei Fragmente mit einer Basenpaarlänge von 191, 149 und 120 und das HPA-3b (Bak^b) spezifische PCR-Produkt in zwei Fragmente mit einer Basenpaarlänge von 311 und 149. Die verdauten Proben wurden durch 6% TBE-Gelelektrophorese aufgetrennt, nach anschließender Ethidiumbromidfärbung unter UV-Licht analysiert und das Ergebnis photographisch festgehalten (Abb. 13, Abb. 14, Abb. 15). Als Kontrolle diente der DNS-Längenstandard VIII, der ein Gemisch aus DNS-Fragmenten mit folgender Basenpaaranzahl enthält: 1114, 900, 692, 501, 489, 404, 320, 242, 190, 147, 124, 110, 67, 37, 34 (2x), 26, 19 und bei Gelelektrophorese ein typisches Muster mit 13 Banden zeigt.

Tabelle 6: Zusammensetzung des PCR-Ansatzes und Programmierung des Thermocyclers zur Bestimmung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (Pl^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak).

| PCR-Ansatz | HPA-1 | HPA-2 | HPA-3 |
|------------------------|------------------|------------------|------------------|
| 5`Primer | 1 µl (232) | 1 µl (202) | 1 µl (241) |
| 3`Primer | 1 µl (252) | 1 µl (221) | 1 µl (263) |
| 10xPCR-Puffer | 5 µl | 5 µl | 5 µl |
| 10 mM dNTP-Mix | 1 µl | 1 µl | 1 µl |
| Taq-Polymerase | 1 µl | 1 µl | 1 µl |
| DNS | 2,5 µl | 2,5 µl | 4 µl |
| Zahl der Zyklen | 72 | 72 | 72 |
| im Thermocycler | 2 min 95° C, 1x | 2 min 95° C, 1x | 2 min 95° C, 1x |
| | 1 min 95° C, 35x | 1 min 95° C, 35x | 1 min 95° C, 35x |
| | 1 min 60° C, 35x | 1 min 60° C, 35x | 1 min 60° C, 35x |
| | 7 min 72° C, 1x | 7 min 72° C, 1x | 7 min 72° C, 1x |
| Abkühlphase | 2 min 28° C, 1x | 2 min 28° C, 1x | 2 min 28° C, 1x |

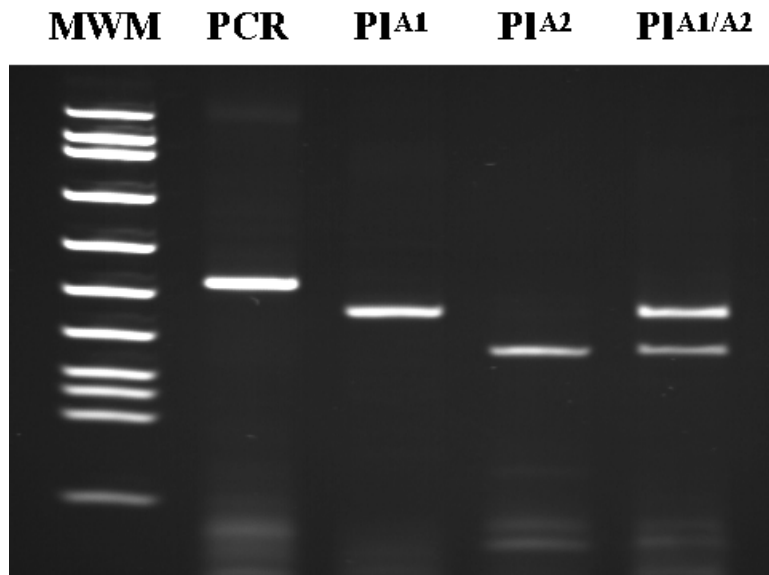


Abb. 13: PI^A-Polymorphismus (HPA-1): Die verdauten PCR-Proben wurden durch 6% TBE-Gelelektrophorese aufgetrennt. Für das PI^{A1} spezifische PCR-Produkt sind Banden auf Höhe der Basenpaarlänge 223, 39 und 6 (verglichen mit dem DNS-Längenstandard VIII; MWM), für das PI^{A2} spezifische PCR-Produkt Banden auf Höhe der Basenpaarlänge 173, 50, 39, 6 (verglichen mit dem DNS-Längenstandard VIII; MWM) charakteristisch.

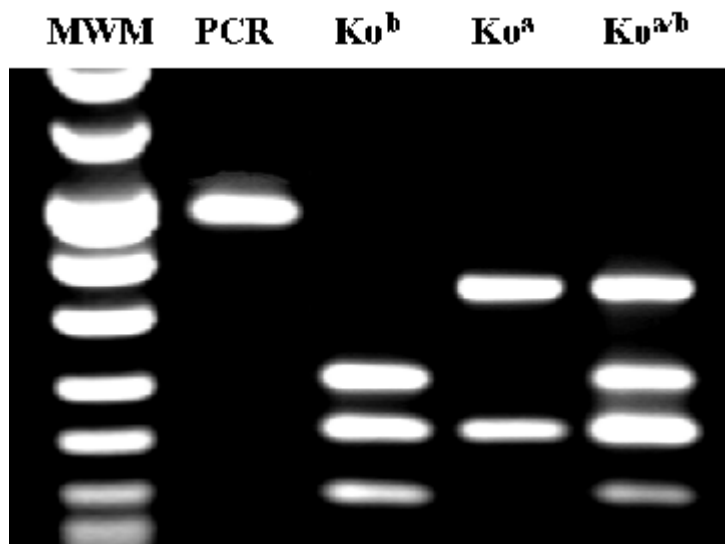


Abb. 14: Ko-Polymorphismus (HPA-2): Die verdauten PCR-Proben wurden durch 6% TBE-Gelelektrophorese aufgetrennt. Für das Ko^a spezifische PCR-Produkt sind Banden auf Höhe der Basenpaarlänge 242, 183 und 116 (verglichen mit dem DNS-Längenstandard VIII; MWM), für das Ko^b spezifische PCR-Produkt Banden auf Höhe der Basenpaarlänge 358 und 183 (verglichen mit dem DNS-Längenstandard VIII; MWM) charakteristisch.

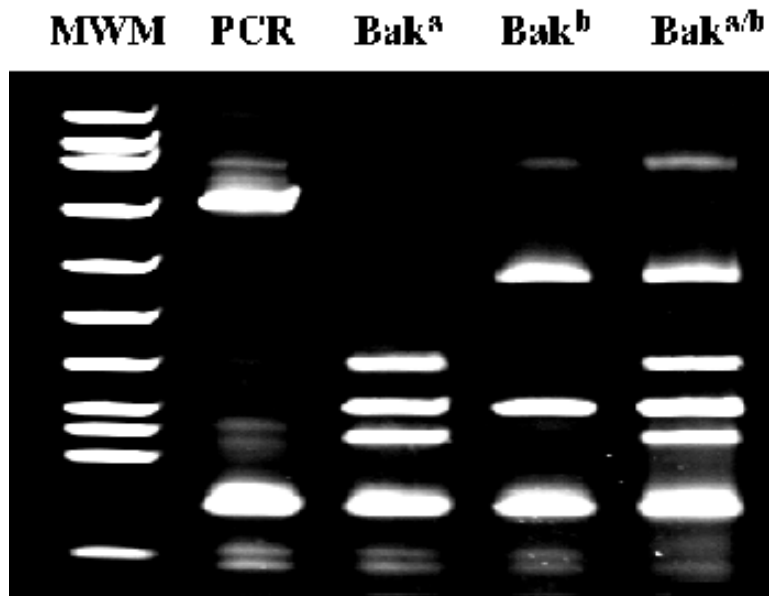


Abb. 15: Bak-Polymorphismus (HPA-3): Die verdauten PCR-Proben wurden durch 6% TBE-Gelelektrophorese aufgetrennt. Für das Bak^a spezifische PCR-Produkt sind Banden auf Höhe der Basenpaarlänge 191, 149 und 120 (verglichen mit dem DNS-Längenstandard VIII; MWM), für das Bak^b spezifische PCR-Produkt Banden auf Höhe der Basenpaarlänge 311 und 149 (verglichen mit dem DNS-Längenstandard VIII; MWM) charakteristisch.

3.6 Statistische Auswertung

Der Kolmogorov-Smirnov-Test zeigte, daß die durchflußzytometrisch ermittelten Werte nicht normalverteilt waren. Aus diesem Grund wendeten wir nichtparametrische Testverfahren zur Datenanalyse an. In den Tabellen 7 bis 50 sind die Ergebnisse als Median und als erstes und drittes Quartil für n Bestimmungen angegeben. Ebenso basieren die Liniendiagramme in den Abbildungen 16 bis 30 auf Berechnungen des Medians und ersten und dritten Quartils. Eine Ausnahme stellen die aus den anti-CD62P-Meßwerten und Thrombozytenzahlen ermittelten Ergebnisse dar, die als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt sind (Tab. 39, Tab. 40, Tab. 41) (Abb. 25, Abb. 26; Abb. 28, Abb. 29). Unterschiede innerhalb der Zeitverläufe sowie zwischen den Behandlungsgruppen wurden durch die Varianzanalyse für wiederholte Messungen ermittelt. Werte von $p < 0,05$ wurden als signifikant betrachtet.

4. Ergebnisse

4.1 Auswirkung der Abciximabtherapie auf die Thrombozytenfunktion und Thrombozytenzahl bei Patienten mit koronarer Stentimplantation

4.1.1 Ausgangscharakteristika der Studienpopulation

Von Januar 1997 bis Juni 1997 wurden 43 konsekutive Patienten mit symptomatischer ischämischer Herzkrankheit, die eine PTCA und Stentimplantation erhielten, in die vergleichende Studie eingeschlossen. 20 Patienten verabreichten wir zur Optimierung des PTCA- und Stentimplantationsergebnisses Abciximab (initialer Bolus und anschließende zwölfstündige Infusion); 23 Patienten wurden mit unfraktioniertem Heparin behandelt (initialer Bolus und anschließende zwölfstündige Therapie).

Die Studiengruppe (Abciximabgruppe) und die Kontrollgruppe (Heparin-Gruppe) zeigten hinsichtlich der demographischen und angiographischen Daten keine signifikanten Unterschiede (Tab. 4, Tab. 5).

Die intrakoronare Stentimplantation wurde bei allen Patienten erfolgreich durchgeführt. Es konnte keine angiographisch sichtbare Dissektion nachgewiesen werden. Keiner, der in die Studie eingeschlossenen Patienten, entwickelte eine subakute Stentthrombose während des Beobachtungszeitraumes von 96 Stunden sowie anamnestisch während der ersten vier Wochen nach Koronarintervention. Ein Patient der Studiengruppe zeigte eine Blutungskomplikation im oberen Gastrointestinaltrakt am Ende der Abciximabinfusion, die von einer akuten, schweren Thrombozytopenie ($26.000/\mu\text{l}$) begleitet wurde. Andere große Blutungen oder vaskuläre Komplikationen konnten nicht beobachtet werden.

4.1.2 Ausgangscharakteristika der Thrombozytenrezeptoren und der Thrombozytenzahl

Die Studien- und Kontrollgruppe waren vor Gabe der Studien- bzw. der Kontrollmedikation hinsichtlich der GPIIb-IIIa-Oberflächenexpression (anti-CD41-Bindung, anti-CD61-Bindung), der GPIb-Oberflächenexpression (anti-

CD42b-Bindung), der P-Selektin-Freisetzung (anti-CD62P-Bindung), und der Oberflächenexpression von ligandeninduzierten Bindungsstellen (LIBS-1-Bindung) vergleichbar (Tab. 7). Die Ausgangswerte der Thrombozytenzahlen unterschieden sich in der Studien- und Kontrollgruppe nicht signifikant voneinander (Tab. 7).

Die Oberflächenexpression von rezeptorinduzierten Bindungsstellen (RIBS-Bindung) sowie die PMI-1-Bindung und Echistatin-Bindung an zirkulierende Thrombozyten wurde nur in der Abciximabgruppe beurteilt (Tab. 7).

Weiter wurde die Phosphatidylserinoberflächenexpression (Annexin V-Bindung), die Bindung von Fibrinogen (anti-Fibrinogen-Bindung), Faktor VIIIc (anti-Faktor VIIIc-Bindung) und von-Willebrand-Faktor (anti-vWF) an zirkulierende Thrombozyten sowie die Ausschüttung juveniler Thrombozyten (Thiazolorange-Bindung) nur in der Heparin-Gruppe evaluiert (Tab. 7).

Tabelle 7: Ausgangscharakteristika der Thrombozytenrezeptoren und der Thrombozytenzahl in der Abciximab- und Heparin-Gruppe.

| | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) vor Medikamentengabe */** | |
|---------------------|--|--------------------------|
| | Abciximabgruppe (n=20) | Heparin-Gruppe (n=23) |
| Annexin V | | 6,4 (6,2 - 7,2) |
| c7E3 | 24,1 (20,9 – 28,5) | 28,4 (24,8 – 31,5) |
| anti-CD41 | 96,7 (88,7 - 105) | 124,6 (95,6 – 129,1) |
| anti-CD42b | 77,3 (62,5 – 89,4) | 94,5 (76,2 – 108,3) |
| anti-CD61 | 43,4 (40,6 – 56,9) | 49,3 (39 – 59,1) |
| anti-CD62P * | 6,3 ± 1,1 | 4,7 ± 1,9 |
| Echistatin | 4,5 (3,9 – 5,7) | |
| anti-Faktor VIIIc | | 10,3 (8,4 – 15,3) |
| anti-Fibrinogen | | 8,0 (5,8 – 9,4) |
| LIBS-1 | 12,0 (9,7 – 15,0) | 9,6 (7,3 – 13,8) |
| PMI-1 | 5,8 (5,3 – 7,7) | |
| RIBS | 10,4 (7,8 – 14,1) | |
| Thiazolorange | | 4,7 (3,5 – 5,6) |
| anti-vWF | | 10,2 (8,9 – 12,1) |
| Thrombozytenzahl ** | 206,2 ± 12,9 | 210,5 ± 12,5 |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

*/** Die Werte sind als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

* Die Immunofluoreszenzintensität von anti-CD62P ist in Prozent-positiven angegeben.

** Die Thrombozytenzahl entspricht ($\times 10^3/\mu\text{l}$).

4.1.3 Bindung von FITC-c7E3 an zirkulierende Thrombozyten und Thrombozytenaggregate

Um die Bindung von Abciximab an die zirkulierenden Blutplättchen während und nach Medikamentengabe bestimmen zu können, entwickelten wir einen kompetitiven Immunfluoreszenzbindungsassay. Wir benutzten eine fluoreszeinkonjugierte Form von Abciximab (FITC-c7E3), um auf eine einfache und zuverlässige Art den Anteil des GPIIb-IIIa-Rezeptors ermitteln zu können, der unter Therapie kein Abciximab gebunden hatte.

Während der Abciximabinfusion verringerte sich in der Studiengruppe (Abciximabgruppe) die FITC-c7E3-Bindung signifikant gegenüber dem Ausgangswert ($p < 0,001$). Nach Infusionsende stieg der FITC-c7E3-Wert langsam an, erreichte aber auch nach 96 Stunden nicht wieder den Ausgangswert (relative mittlere Intensität von FITC-c7E3 vor Infusionsbeginn: 20,9; nach 12 Stunden: 7,4; nach 96 Stunde: 16,0) (Abb. 16, Abb. 17).

In der Kontrollgruppe (HeparinGruppe) blieb die FITC-c7E3-Bindung innerhalb des Beobachtungszeitraumes weitgehend unverändert (Abb. 16, Abb. 17).

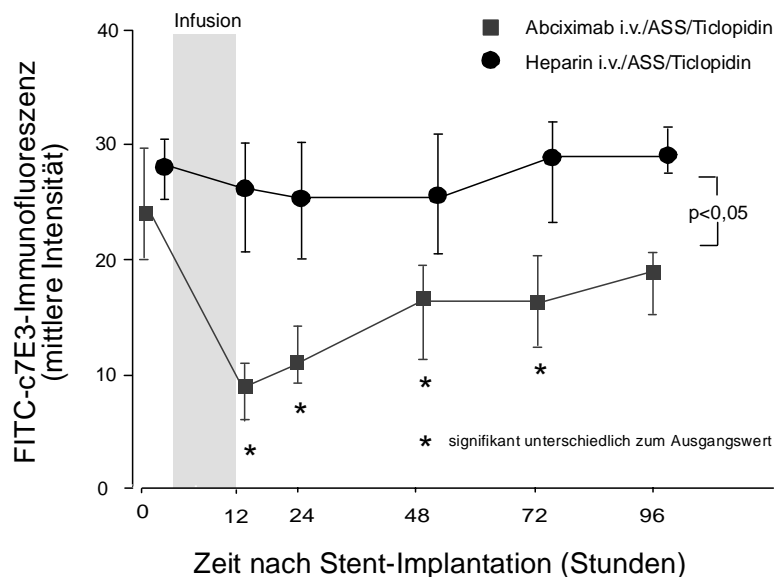


Abb. 16: FITC-c7E3-Bindung an zirkulierende Thrombozyten bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe im Vergleich zur HeparinGabe. Tage, an denen die FITC-c7E3-Bindung an zirkulierende Thrombozyten gegenüber dem Ausgangswert signifikant erniedrigt war, sind mit einem Stern gekennzeichnet.

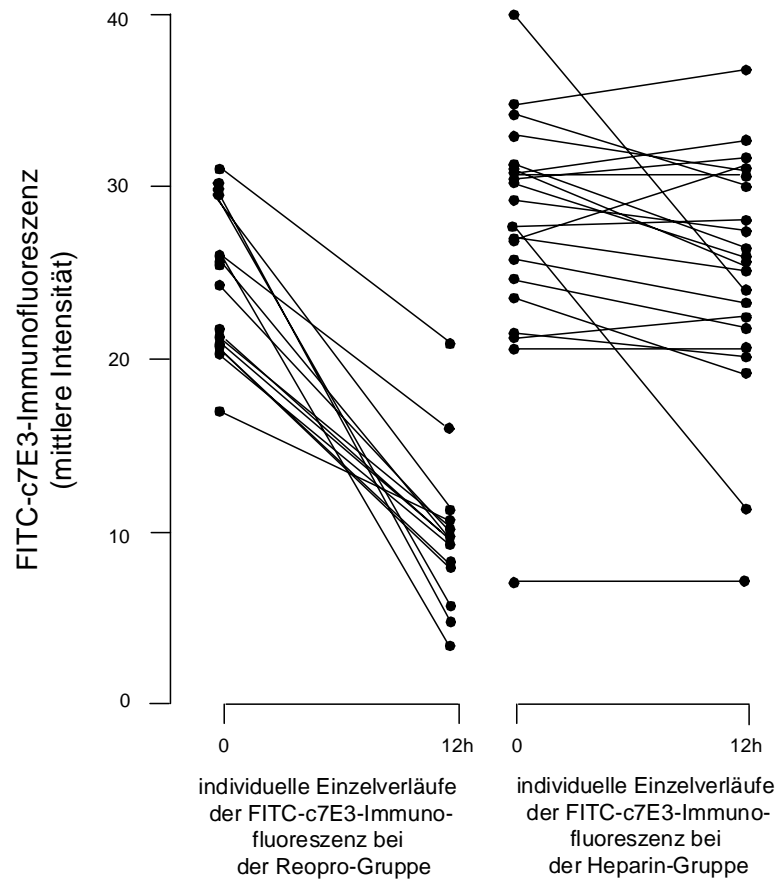


Abb. 17: Individuelle Einzelverläufe der FITC-c7E3-Bindung an zirkulierende Thrombozyten vor und 12 Stunden nach Abciximabgabe (links) und Heparin-gabe (rechts).

4.1.4 Verfügbarkeit der Fibrinogenbindungsstellen und Oberflächenexpression von GPIIb/IIIa

Um die Verfügbarkeit der Fibrinogenbindungsstellen unter Abciximabbehandlung bestimmen zu können, benutzten wir anti-CD41, einen komplexen, spezifischen monoklonalen Antikörper gegen das Glykoprotein IIb (90, 133, 154) und Echistatin, einen kompetitiven Inhibitor der GPIIb-IIIa-Fibrinogeninteraktion (52). Anti-CD41 erkennt und bindet an Epitope im Bereich der Fibrinogenbindungsstellen und hemmt dadurch die Ligandenbindung. Echistatin, ein RGD-Sequenz enthaltendes Polypeptid, bewirkt durch Bindung an den Glykoprotein IIb-IIIa-Komplex eine Konformationsänderung des Rezeptors und führt zur Thrombozytenaktivierung (8, 74).

Wie für FITC-c7E3 beschrieben, sank die mittlere Intensität der anti-CD41-Bindung während der Abciximabinfusion signifikant unter den Ausgangswert ($p < 0,001$) und stieg danach langsam an, erreichte aber auch hier nicht wieder das Ausgangsniveau nach 96 Stunden (relative mittlere Intensität der anti-CD41-Immunofluoreszenz vor Infusionsbeginn: 96,7; nach 12 Stunden: 36,8; nach 96 Stunden: 73,4) (Abb. 18, Abb. 19). In der Kontrollgruppe zeigten sich keine Änderungen hinsichtlich der anti-CD41-Bindung innerhalb des 96-stündigen Beobachtungszeitraumes (Abb. 18, Abb. 19).

Auch die mittlere Intensität der Echistatinbindung sank während der Abciximabinfusion unter den Ausgangswert und stieg danach langsam wieder an (Tab. 8). Die Werte erreichten jedoch keine statistische Signifikanz ($p = 0,7$). Eine Kontrollgruppe ist nicht vorhanden.

Tab. 8: Echistatinbindung an zirkulierende Thrombozyten bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe.

| | Immunofluoreszenz (mittlere Intensität) |
|-----------------------------------|--|
| Echistatin vor Abciximabgabe | 4,5 (3,9 – 5,7) |
| Echistatin nach Abciximabgabe | 3,4 (3,2 – 3,8) |
| Echistatin 12h nach Abciximabgabe | 3,8 (3,6 – 5,0) |
| Echistatin 24h nach Abciximabgabe | 3,8 (3,6 – 4,8) |
| Echistatin 48h nach Abciximabgabe | 4,5 (4,1 – 5,1) |
| Echistatin 72h nach Abciximabgabe | 4,2 (3,7 – 5,4) |
| Echistatin 96h nach Abciximabgabe | 4,4 (3,9 – 5,4) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil angegeben.

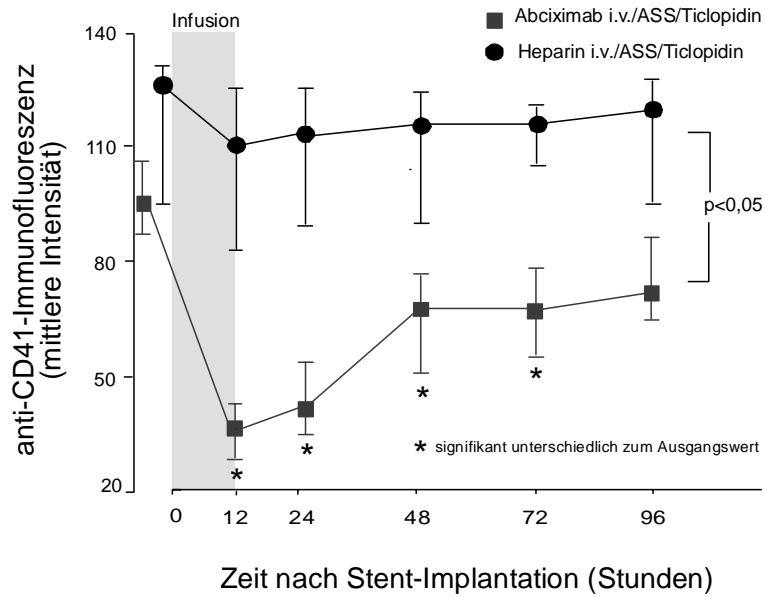
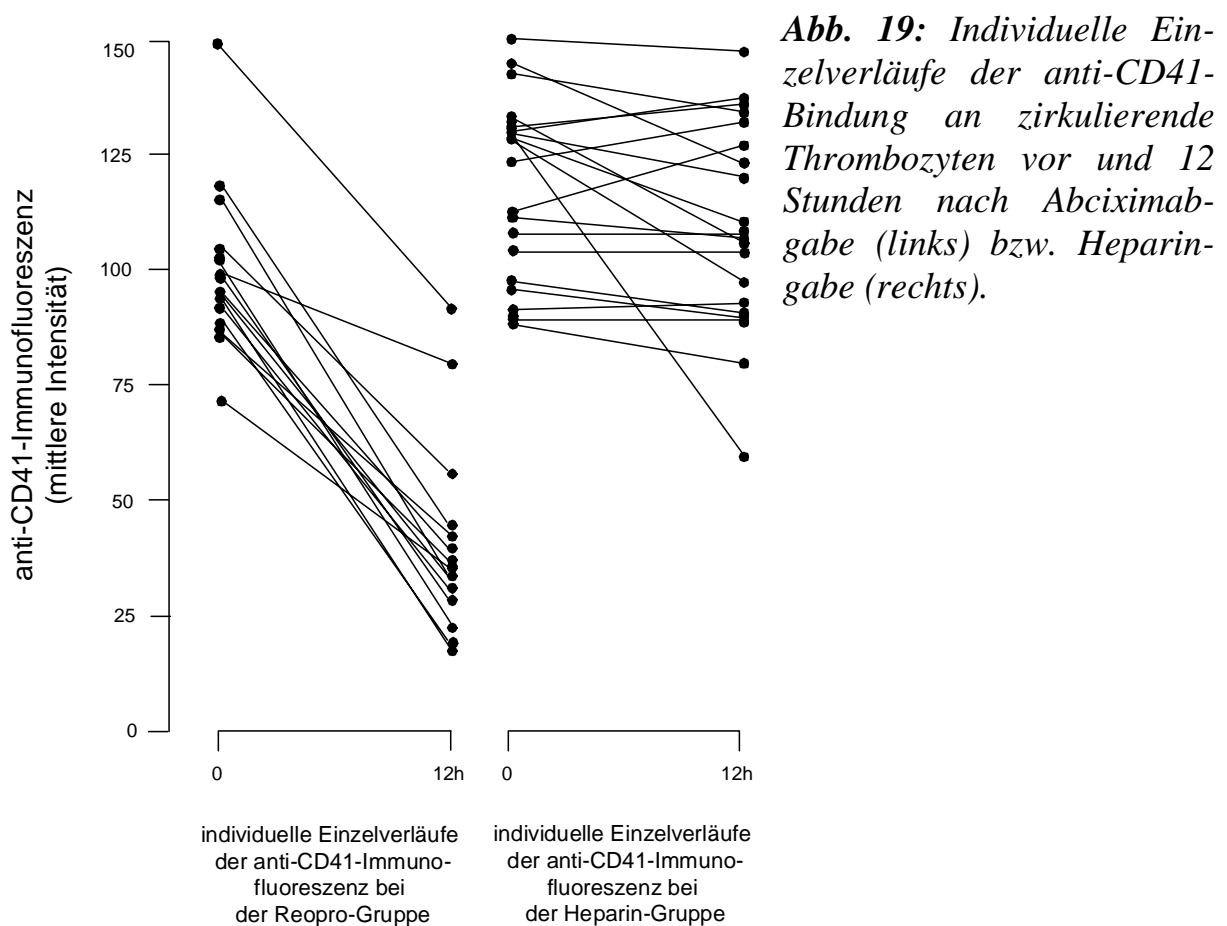


Abb. 18: Verfügbarkeit der Fibrinogenbindungsstellen auf zirkulierenden Thrombozyten (anti-CD41-Bindung) bei Patienten mit koronarer Stent-implantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe im Vergleich zur Heparin-gabe. Tage, an denen die Verfügbarkeit der Fibrinogenbindungsstellen gegenüber dem Ausgangswert signifikant vermindert war, sind mit einem Stern gekennzeichnet.



Zur Darstellung der Oberflächenexpression von GPIIIa verwendeten wir den monoklonalen Antikörper anti-CD61 (90, 133, 154).

Bei den Patienten der Studiengruppe stieg 48, 72 und 96 Stunden nach Infusionsbeginn der Wert der anti-CD61-Bindung signifikant gegenüber dem Ausgangsniveau an ($p < 0,05$) (relative mittlere Intensität der anti-CD61-Immunofluoreszenz vor Infusionsbeginn: 43; nach 48 Stunden: 49; nach 72 Stunden: 49,9; nach 96 Stunden: 47,9) (Abb. 20). Die anti-CD61-Bindung blieb während des Beobachtungszeitraumes in der Vergleichsgruppe unverändert (Abb. 20).

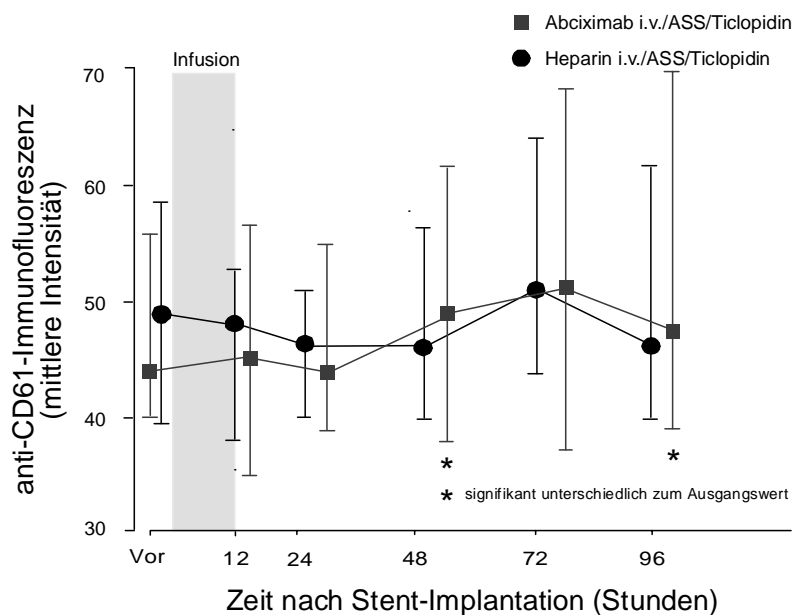


Abb. 20: Oberflächenexpression von GPIIIa auf zirkulierenden Thrombozyten (anti-CD61-Bindung) bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe im Vergleich zur Heparinabgabe. Tage, an denen die Oberflächenexpression von GPIIIa gegenüber dem Ausgangswert signifikant erhöht war, sind mit einem Stern gekennzeichnet.

4.1.5 Ligandeninduzierte Bindungsstellen und rezeptor-induzierte Bindungsstellen auf zirkulierenden Thrombozyten

Zur Beantwortung der Frage, ob die Abciximabbindung den Funktionszustand des GPIIb-IIIa-Rezeptors beeinflusst, verwendeten wir die monoklonalen Antikörper LIBS-1 und PMI-1 (74, 78). Beide Antikörper erkennen ausschließlich die ligandenbesetzte Form von GPIIb-IIIa.

In der Studiengruppe (Abciximabgruppe) stieg die LIBS-1-Bindung unter Abciximabinfusion signifikant gegenüber dem Ausgangsniveau an und blieb während des gesamten Beobachtungszeitraumes deutlich erhöht ($p < 0,05$) (relative mittlere Intensität der LIBS-1-Immunofluoreszenz vor Infusionsbeginn: 12,0; nach 12 Stunden: 14,6; nach 24 Stunden: 14,0; nach 48 Stunden: 15,0; nach 72 Stunden: 13,8 und nach 96 Stunden: 13,0) (Abb. 21, Abb. 22). Keine signifikanten Veränderungen zeigten sich hinsichtlich der mittleren Intensität der LIBS-1-Immunofluoreszenz in der Kontrollgruppe (Heparin Gruppe) (Abb. 21, Abb. 22).

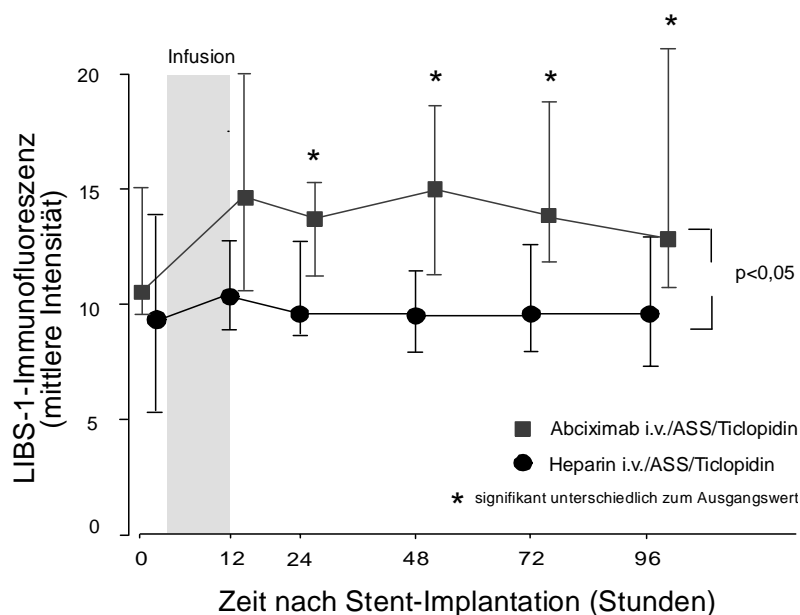


Abb. 21: Expression von ligandeninduzierten Bindungsstellen auf zirkulierenden Thrombozyten (LIBS-1-Bindung) bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe im Vergleich zur Heparin-gabe. Tage, an denen die Expression von ligandeninduzierten Bindungsstellen gegenüber dem Ausgangswert signifikant erhöht war, sind mit einem Stern gekennzeichnet.

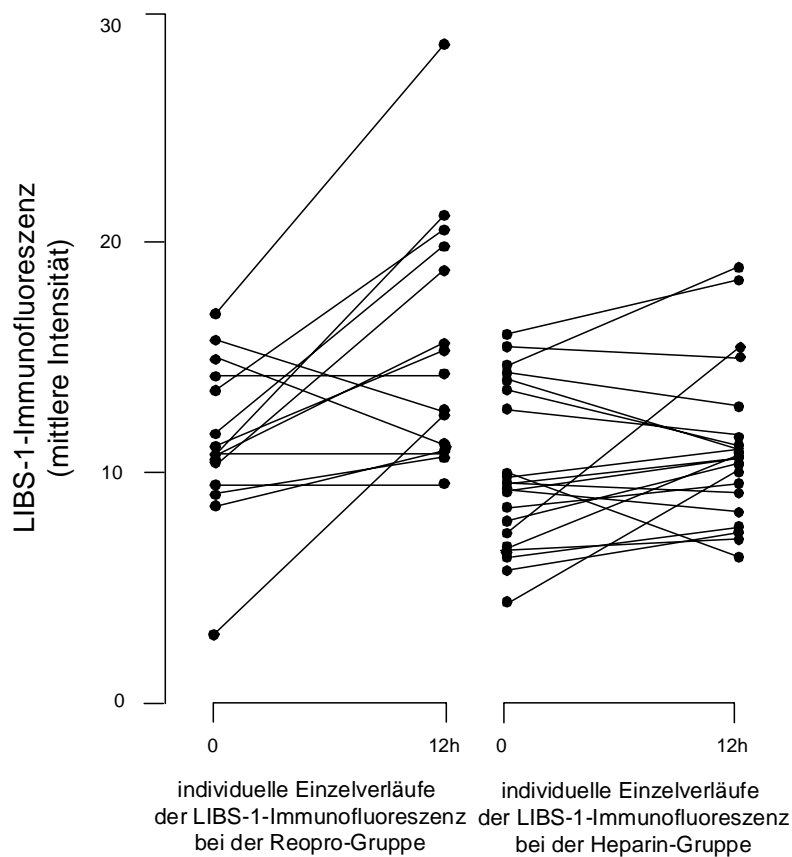


Abb. 22: Individuelle Einzelverläufe der LIBS-1-Bindung an zirkulierende Thrombozyten vor und 12 Stunden nach Abciximabgabe (links) und Heparin-gabe (rechts).

Ebenso lag die relative mittlere Intensität der PMI-1-Immunofluoreszenz bei der Studiengruppe (Abciximabgruppe) nach Infusionsende und während des darauffolgenden Beobachtungszeitraumes signifikant über dem Ausgangsniveau ($p < 0,05$) (relative mittlere Intensität der PMI-1-Immunofluoreszenz vor Infusionsbeginn: 5,8; nach 12 Stunden: 7,9; nach 24 Stunden: 7,3; nach 48 Stunden: 7,7; nach 72 Stunden: 7,9; nach 96 Stunden: 8 Stunden) (Abb. 23, Abb. 24). Eine Kontrollgruppe ist nicht vorhanden.

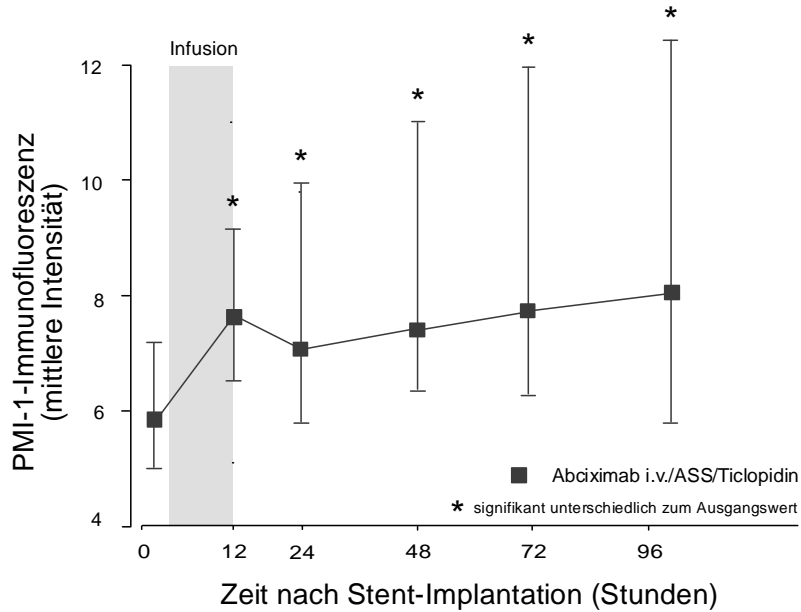


Abb. 23: PMI-1-Bindung an zirkulierende Thrombozyten bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe. Tage, an denen die PMI-1-Bindung gegenüber dem Ausgangswert signifikant erhöht war, sind mit einem Stern gekennzeichnet.

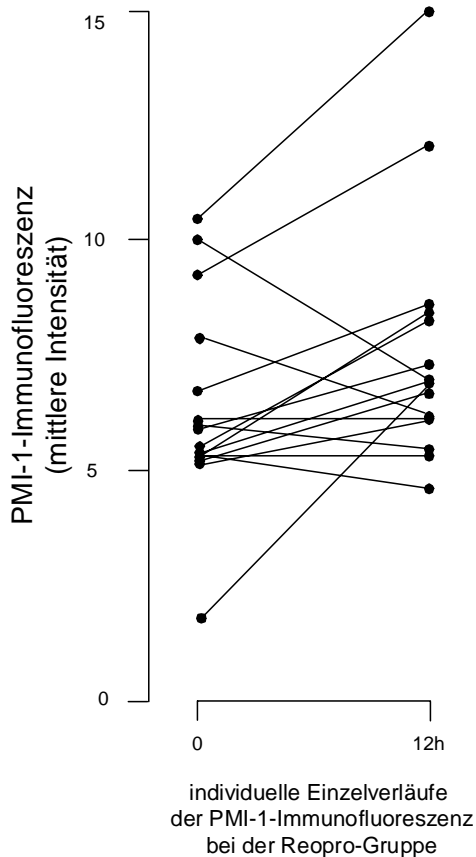


Abb. 24: Individuelle Einzelverläufe der PMI-1-Bindung an zirkulierende Thrombozyten bei Patienten mit koronarer Stentimplantation vor und 12 Stunden nach Abciximabgabe.

Zur Beurteilung der Frage, ob es unter Abciximabtherapie zur Expression von rezeptorinduzierten Bindungsstellen kommt, verwendeten wir den monoklonalen Antikörper RIBS (74, 78). Auch hier zeigte sich bei der Studiengruppe (Abciximabgruppe) 48 und 96 Stunden nach Infusionsbeginn ein signifikanter Anstieg der mittleren Intensität der RIBS-Immunofluoreszenz über das Ausgangsniveau ($p < 0,05$) (Tab. 9). Eine Vergleichsgruppe ist nicht vorhanden.

Tab. 9: Expression von rezeptorinduzierten Bindungsstellen auf zirkulierenden Thrombozyten (RIBS-Bindung) bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe.

| | Immunofluoreszenz (mittlere Intensität) |
|-------------------------------|--|
| RIBS vor Abciximabgabe | 10,4 (7,8 – 14,1) |
| RIBS nach Abciximabgabe | 12,7 (7,8 – 14,1) |
| RIBS 12h nach Abciximabgabe | 12,6 (11,0 – 15,8) |
| RIBS 24h nach Abciximabgabe | 13,1 (11,4 – 14,7) |
| RIBS 48h nach Abciximabgabe * | 14,9 (9,6 – 18,4) |
| RIBS 72h nach Abciximabgabe | 13,5 (10,2 – 16,6) |
| RIBS 96h nach Abciximabgabe * | 13,7 (11,2 – 23,8) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil angegeben. Tage, an denen die Expression von RIBS signifikant gegenüber dem Ausgangswert erhöht war, sind mit einem Stern gekennzeichnet

4.1.6 Oberflächenexpression von P-Selektin

Zur Beurteilung der P-Selektin-Freisetzung aus den thrombozytären α -Granula unter Abciximabtherapie benutzten wir den monoklonalen Antikörper anti-CD62P (74, 89, 90, 154, 226).

In der Studiengruppe (Abciximabgruppe) kam es zu einem deutlichen Anstieg der anti-CD62P-Bindung, die 48 Stunden nach Infusionsbeginn ihren höchsten Wert erreichte ($p < 0,05$) und nach 96 Stunden wieder auf das Ausgangsniveau absank (%-anti-CD62P-positive Thrombozyten vor Infusionsbeginn: 5,5; nach 12 Stunden: 6,7; nach 24 Stunden: 7,8; nach 48 Stunden: 11,6; nach 72 Stunden: 6,1 und nach 96 Stunden: 5,3) (Abb. 25, Abb. 26). Im Gegensatz dazu konnte in der Vergleichsgruppe (HeparinGruppe) keine signifikant erhöhte P-Selektin-Freisetzung festgestellt werden (Abb. 25, Abb. 26).

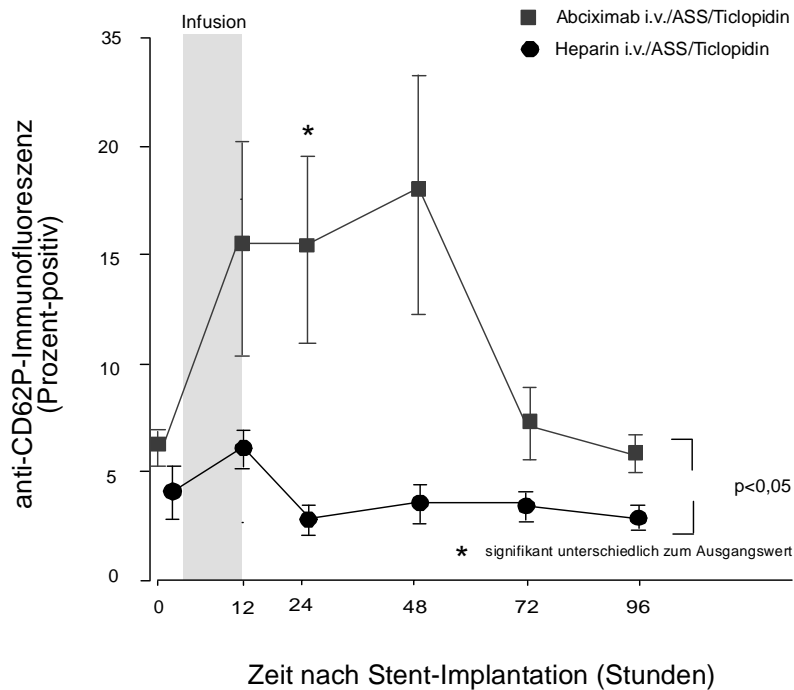


Abb. 25: P-Selektin-Freisetzung von zirkulierenden Thrombozyten (anti-CD62P-Bindung) bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe im Vergleich zur Heparin-gabe. Tage, an denen die P-Selektin-Freisetzung gegenüber dem Ausgangswert signifikant erhöht war, sind mit einem Stern gekennzeichnet.

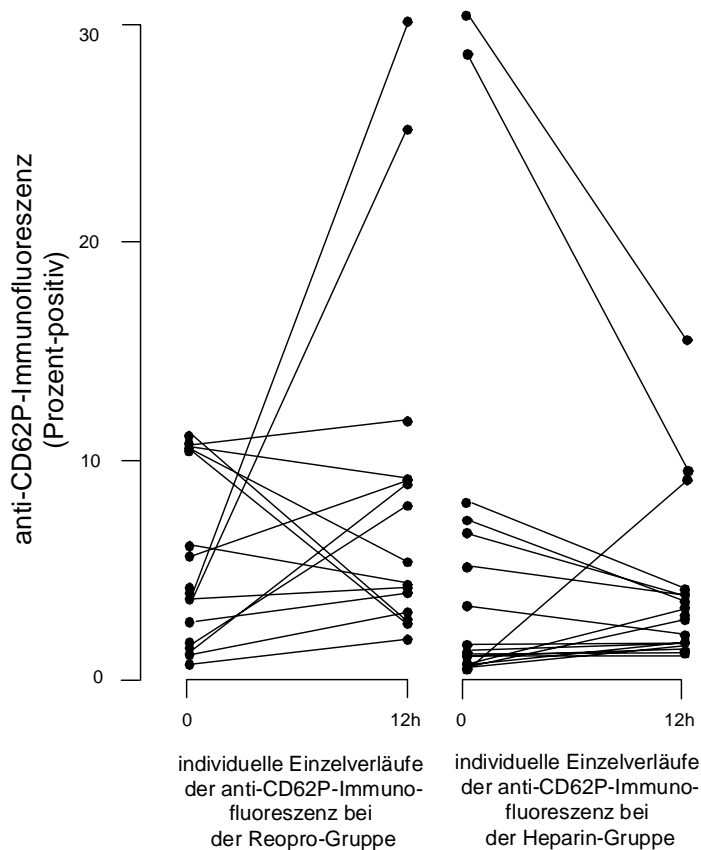


Abb. 26: Individuelle Einzelverläufe der anti-CD62P-Bindung an zirkulierende Thrombozyten bei Patienten mit koronarer Stentimplantation vor und 12 Stunden nach Abciximabgabe (links) bzw. Heparin-gabe (rechts).

4.1.7 Glykoprotein Ib-Oberflächenexpression

Während des Beobachtungszeitraumes kam es zu keiner wesentlichen Veränderung der Glykoprotein Ib-Oberflächenexpression (89, 154, 226). Die mittlere Intensität der anti-CD42b-Immunofluoreszenz blieb in beiden Gruppen unverändert.

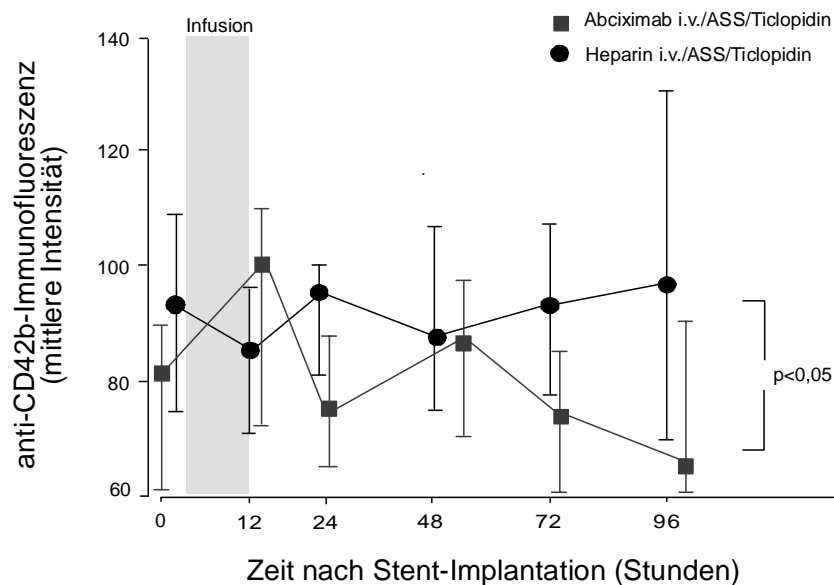


Abb. 27: Oberflächenexpression von GPIb-Rezeptoren (anti-CD42b-Bindung) bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe im Vergleich zur Heparinabgabe.

4.1.8 Bindung von Faktor VIIIc, Fibrinogen und von-Willebrand-Faktor an zirkulierende Thrombozyten

Zur quantitativen Bestimmung des an die Thrombozytenoberfläche gebundenen Faktors VIIIc, Fibrinogens und von-Willebrand-Faktors verwendeten wir die monoklonalen Antikörper anti-Fibrinogen, anti-Faktor VIIIc und anti-vWF (67, 78, 226, 249).

Die relative mittlere Intensität der anti-Fibrinogen-Immunofluoreszenz blieb während des Beobachtungszeitraumes in beiden Gruppen nahezu

unverändert (Tab. 10). Auch zwischen den beiden Gruppen konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Ebenso zeigten sich keine Veränderungen hinsichtlich der anti-Faktor VIIIIC-Bindung und der anti-vWF-Bindung innerhalb des Beobachtungszeitraumes in der Heparin-Gruppe (Tab. 11, Tab. 12). Eine Abciximab-Gruppe ist nicht vorhanden.

Tab. 10: Fibrinogenbindung an zirkulierende Thrombozyten bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe im Vergleich zur Heparin-Gruppe.

| | Immunofluoreszenz (mittlere Intensität) | Immunofluoreszenz (mittlere Intensität) |
|---|--|--|
| | Abciximab-Gruppe | Heparin-Gruppe |
| anti-Fibrinogen vor Medikamentengabe | 6,4 (5,6 – 8,6) | 8,0 (5,8 – 9,4) |
| anti-Fibrinogen nach Medikamentengabe | 7,0 (6,0 – 8,3) | |
| anti-Fibrinogen 12h nach Medikamentengabe | 6,6 (5,8 – 7,3) | 8,5 (6,6 – 11,4) |
| anti-Fibrinogen 24h nach Medikamentengabe | 7,2 (5,7 – 8) | 7,1 (5,6 – 9,3) |
| anti-Fibrinogen 48h nach Medikamentengabe | 6,9 (5,8 – 7,4) | 6,9 (5,5 – 9,0) |
| anti-Fibrinogen 72h nach Medikamentengabe | 6,5 (6,3 – 8,4) | 6,7 (5,5 – 8,0) |
| anti-Fibrinogen 96h nach Medikamentengabe | 7,8 (6,3 – 14,5) | 7,2 (5,9 – 8,7) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil angegeben.

Tab. 11: Faktor VIIIIC-Bindung an zirkulierende Thrombozyten bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Heparin-Gruppe.

| | Immunofluoreszenz (mittlere Intensität) |
|--|--|
| anti-Faktor VIIIIC vor Heparin-Gruppe | 10,3 (8,4 – 15,3) |
| anti-Faktor VIIIIC 12h nach Heparin-Gruppe | 10,4 (8,7 – 13,8) |
| anti-Faktor VIIIIC 24h nach Heparin-Gruppe | 9,5 (8,0 – 11,8) |
| anti-Faktor VIIIIC 48h nach Heparin-Gruppe | 10,0 (8,0 – 10,8) |
| anti-Faktor VIIIIC 72h nach Heparin-Gruppe | 9,1 (7,9 – 10,3) |
| anti-Faktor VIIIIC 96h nach Heparin-Gruppe | 9,4 (8,1 – 11,8) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil angegeben.

Tab. 12: von-Willebrand-Faktor-Bindung an zirkulierende Thrombozyten bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Heparin-gabe.

| | Immunofluoreszenz (mittlere Intensität) |
|--------------------------------|--|
| anti-vWF vor Heparin-gabe | 10,2 (8,9 – 12,1) |
| anti-vWF 12h nach Heparin-gabe | 11,5 (9,2 – 14,4) |
| anti-vWF 24h nach Heparin-gabe | 10,8 (10,0 – 12,8) |
| anti-vWF 48h nach Heparin-gabe | 10,0 (8,6 – 11,5) |
| anti-vWF 72h nach Heparin-gabe | 10,0 (7,6 – 10,6) |
| anti-vWF 96h nach Heparin-gabe | 9,7 (8,8 – 11,3) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil angegeben.

4.1.9 Oberflächenexpression von Phosphatidylserin und Ausschüttung juveniler Thrombozyten

Zur Beschreibung der Phosphatidylserinexpression auf der Thrombozytenoberfläche benutzten wir den monoklonalen Antikörper Annexin V (154). Um eine überstürzte Ausschüttung juveniler Thrombozyten erkennen zu können, verwendeten wir eine fluoreszenzkonjugierte Form von Thiazolorange.

Die mittlere Intensität der Annexin V-Immunofluoreszenz und der Thiazolorange-Immunofluoreszenz blieb während des Beobachtungszeitraumes in der Heparin-gruppe unverändert (Tab. 13, Tab. 14). Eine Abciximab-gruppe ist nicht vorhanden.

Tab. 13: Phosphatidylserinexpression auf der Thrombozytenoberfläche (Annexin V-Bindung) bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Heparin-gabe.

| | Immunofluoreszenz (mittlere Intensität) |
|---------------------------------|--|
| Annexin V vor Heparin-gabe | 6,4 (6,2 – 7,2) |
| Annexin V 12h nach Heparin-gabe | 6,7 (6,0 – 7,8) |
| Annexin V 24h nach Heparin-gabe | 6,5 (6,0 – 7,1) |
| Annexin V 48h nach Heparin-gabe | 6,3 (5,8 – 6,7) |
| Annexin V 72h nach Heparin-gabe | 6,2 (5,6 – 6,5) |
| Annexin V 96h nach Heparin-gabe | 6,1 (5,9 – 7,0) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil angegeben

Tab. 14: Ausschüttung juveniler Thrombozyten (Thiazolorange-Bindung) bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Heparin-gabe.

| | Immunofluoreszenz (mittlere Intensität) |
|-------------------------------------|--|
| Thiazolorange vor Heparin-gabe | 4,7 (3,5 – 5,6) |
| Thiazolorange 12h nach Heparin-gabe | 4,3 (3,2 – 5,0) |
| Thiazolorange 24h nach Heparin-gabe | 4,3 (3,1 - 5,1) |
| Thiazolorange 48h nach Heparin-gabe | 4,8 (3,7 – 6,4) |
| Thiazolorange 72h nach Heparin-gabe | 6,2 (3,5 – 6,8) |
| Thiazolorange 96h nach Heparin-gabe | 6,2 (3,9 – 9) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil angegeben

4.1.10 Thrombozytenzahl

Bei den Patienten der Studiengruppe (Abciximabgruppe) gingen die oben beschriebenen Veränderungen des Funktionszustandes der thrombozytären Membranglykoproteine mit einem Abfall der Thrombozytenzahl im peripheren Blut einher. Die Thrombozytenzahl fiel nach Infusionsbeginn unter das Ausgangsniveau und erreichte ihren Tiefstwert nach 12 Stunden; dieser Wert war jedoch mit $p < 0,06$ statistisch nicht signifikant. Nach Infusionsende begann die Thrombozytenzahl langsam zu steigen und erreichte nach 96 Stunden wieder den Ausgangswert (Mittelwert der Thrombozytenzahlen ($\times 10^3/\mu\text{l}$) vor Infusionsbeginn: 206,2; nach 12 Stunden: 178,6; nach 24 Stunden: 183,9; nach 48 Stunden: 184,5; nach 72 Stunden: 201,9; nach 96 Stunden: 205,9) (Abb. 28).

Zwei Patienten der Studiengruppe entwickelten unter Abciximabgabe eine schwere Thrombozytopenie (Tiefstwerte von 51.000 bzw. 26.000 Thrombozyten/ μl 12 Stunden nach Infusionsbeginn) (Abb. 29). Die Thrombozytenzahlen dieser beiden Patienten blieben während des gesamten Beobachtungszeitraumes erniedrigt. In der Vergleichsgruppe (Heparin-gabegruppe) traten keine signifikanten Veränderungen hinsichtlich der Thrombozytenzahl auf (Abb. 28, Abb. 29).

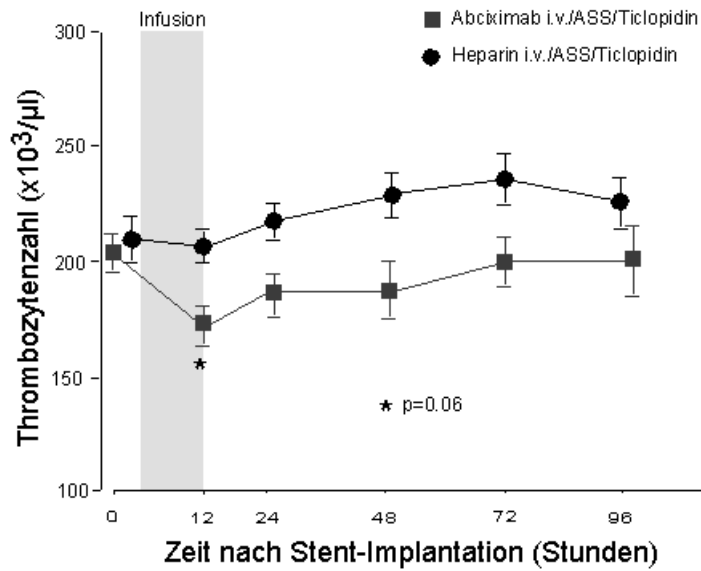


Abb. 28: Thrombozytenzahl bei Patienten mit koronarer Stentimplantation; zeitlicher Verlauf vor und nach Abciximabgabe im Vergleich zur Heparingabe.

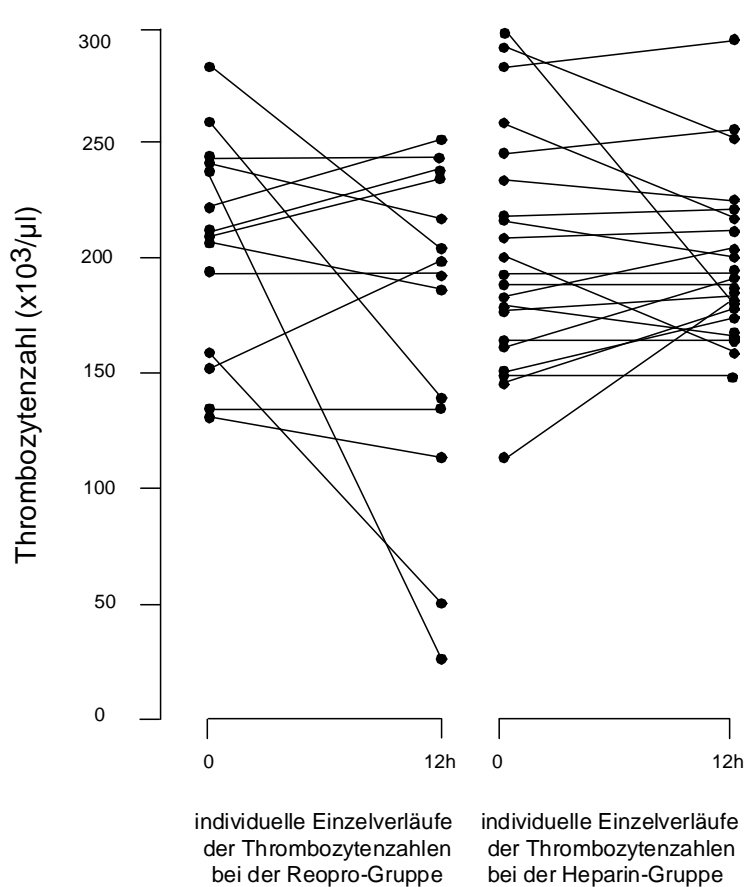


Abb. 29: Individuelle Einzelverläufe der Thrombozytenzahl vor und 12 Stunden nach Abciximabgabe (links) bzw. Heparingabe (rechts).

Darüber hinaus konnten wir zeigen, daß in der Studiengruppe (Abciximabgruppe) zwischen dem Anstieg der LIBS-1-Bindung 12 Stunden nach Abciximabgabe ($\Delta[12 \text{ Stunden} - 0]$) und dem Abfall der Thrombozytenzahl 12 Stunden nach Abciximabgabe ($\Delta[12 \text{ Stunden} - 0]$) eine signifikante, inverse Korrelation bestand ($r=-0,66$; $p<0,05$) (Abb. 30).

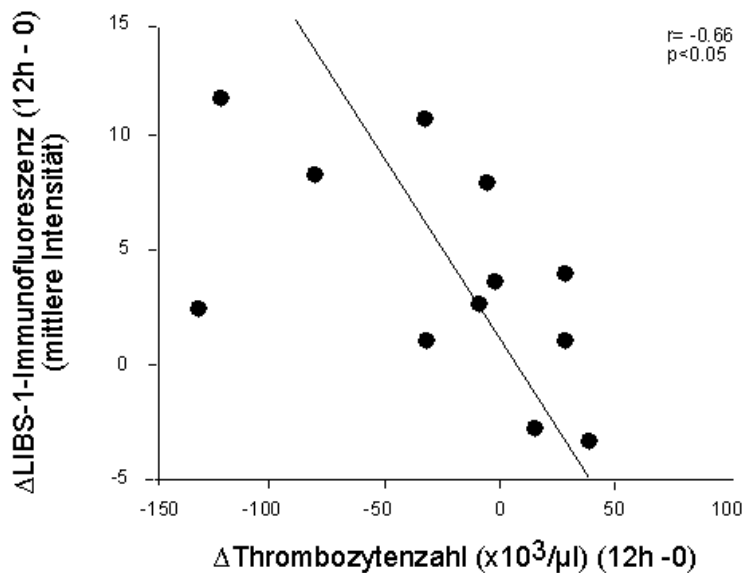


Abb. 30: Korrelation von LIBS-Oberflächenexpression auf zirkulierenden Thrombozyten (LIBS-1-Bindung) und Thrombozytenzahl bei Patienten mit koronarer Stentimplantation und Abciximabtherapie zum Zeitpunkt $\Delta(12 \text{ Stunden} - 0)$.

4.2 Thrombozytäre Polymorphismen

4.2.1 Ausgangscharakteristika der Studienpopulation

Wir untersuchten 37 konsekutive Patienten mit symptomatischer ischämischer Herzkrankheit, bei denen erfolgreich eine PTCA und intrakoronare Stentimplantation durchgeführt wurde. Die Studiengruppe, die 19 Patienten einschloß, erhielt als adjuvante antithrombozytäre Therapie Abciximab (initialer Bolus und anschließende zwölfstündige Therapie); die Kontrollgruppe mit 18 Patienten wurde mit unfraktioniertem Heparin behandelt (initialer Bolus und anschließende zwölfstündige Infusion).

Hinsichtlich demographischer und angiographischer Daten zeigten die Studiengruppe (Abciximabgruppe) und die Kontrollgruppe (Heparingruppe) keine signifikanten Unterschiede (Tab. 4, Tab. 5).

In der vorliegenden Arbeit waren die Allele der drei thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (PI^A ; GPIIIa), HPA-2 (Ko; GPIb) und HPA-3 (Bak; GPIIb) in der Studien- und Kontrollgruppe prozentual annähernd gleich verteilt: HPA-1b (PI^{A2})-positive Patienten : Studiengruppe vs Kontrollgruppe: 21,1% und 22,2%; HPA-2b (Ko^b)-positive Patienten: Studiengruppe vs Kontrollgruppe: 15,7% und 27,8%; HPA-3b (Bak^b)-positive Patienten: Studiengruppe vs Kontrollgruppe: 78,9% und 61,1%.

4.2.2 Ausgangscharakteristika der Thrombozytenrezeptoren

In der Studien- und Kontrollgruppe ergaben sich vor Medikamentengabe, in Abhängigkeit von der Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (PI^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak), keine Unterschiede hinsichtlich der Glykoprotein IIB-Oberflächenexpression (anti-CD41-Bindung) (Tab. 15, Tab. 16, Tab. 17).

HPA-2b (Ko^b)-positive Patienten zeigten im Vergleich zu HPA-2b (Ko^b)-negativen Patienten vor Medikamentengabe eine signifikant erhöhte Oberflächenexpression von Glykoprotein Ib (anti-CD42b-Bindung) ($p < 0,05$). Die Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (PI^A) und HPA-3 (Bak) hatte keinen Einfluß auf die Glykoprotein Ib-Oberflächenexpression (Tab. 15, Tab. 16, Tab. 17).

Ebenso bestand bei HPA-1b (PI^{A2})-negativen Patienten verglichen mit HPA-1b (PI^{A2})-positiven Patienten und bei HPA-2b (Ko^b)-positiven Patienten verglichen mit HPA-2b (Ko^b)-negativen Patienten eine signifikant verstärkte

Glykoprotein IIIa-Oberflächenexpression (anti-CD61-Bindung) ($p < 0,05$) (Tab. 15, Tab. 16, Tab. 17). HPA-3b (Bak^b)-positive Patienten und HPA-3b (Bak^b)-negative Patienten zeigten keine signifikant unterschiedliche Glykoprotein IIIa-Oberflächenexpression.

Bei Vorhandensein des HPA-3b (Bak^b)-Allels waren die P-Selektin-Freisetzung (anti-CD62P-Bindung) sowie die Expression von rezeptor-induzierten Bindungsstellen auf den zirkulierenden Thrombozyten (RIBS-Bindung) vor Medikamentengabe signifikant erhöht ($p < 0,05$). Die Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (Pl^A) und HPA-2 (Ko) beeinflussten die P-Selektin-Freisetzung und Expression von rezeptor-induzierten Bindungsstellen nicht (Tab. 15, Tab. 16, Tab. 17).

Der mittels monoklonaler Antikörper evaluierte Funktionszustand des GPIIb-IIIa-Rezeptors (LIBS-1-Bindung, PMI-1-Bindung) sowie die Bindung von Faktor VIIIc (anti-Faktor VIIIc-Bindung), Fibrinogen (anti-Fibrinogen-Bindung) und von-Willebrand-Faktor (anti-vWF-Bindung) an zirkulierende Thrombozyten unterschieden sich vor Medikamentengabe in Abhängigkeit von der Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (Pl^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak) nicht signifikant voneinander (Tab. 15, Tab. 16, Tab. 17).

Tabelle 15: Ausgangscharakteristika der Thrombozytenrezeptoren in Abhängigkeit von der Allelausprägung des thrombozytären Polymorphismus HPA-1 (Pl^A).

| | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) vor Medikamentengabe * | |
|-------------------|---|-------------------------------|
| | HPA-1b-negativ n=29 (78,4%) | HPA-1b-positiv n=8 (21,6%) |
| anti-CD41 | 102,1 (88,8 – 119,8) | 114,1 (92,4 – 133,2) |
| anti-CD42b | 82,3 (75,2 – 104,9) | 90,6 (71,1 – 104) |
| anti-CD61 | 49,3 (41,7 – 57,9) | 30,9 (25,3 – 41,5) |
| anti-CD62P * | 3,9 ± 3,5 | 9,7 ± 12,6 |
| c7E3 | 26,3 (23,7 – 29,6) | 27,6 (20,7 – 32,6) |
| anti-Faktor VIIIc | 9,7 (8,1 – 10,9) | 10 (8,1 – 26,8) |
| anti-Fibrinogen | 7,3 (5,6 – 8,7) | 7,6 (5,6 – 11,6) |
| LIBS-1 | 10,7 (8,4 – 13,9) | 9,6 (8,2 – 15,9) |
| PMI-1 | 5,7 (5,3 – 6,6) | 6,6 (5,2) |
| RIBS | 11,5 (7,9 – 14,7) | 8,3 (7,2) |
| anti-vWF | 10,2 (8,1 – 11,9) | 10,4 (9,9 – 16,9) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

*Die mittlere Immunofluoreszenzintensität von anti-CD62P ist in Prozent-positiven angegeben. Die Werte sind als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

xx Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Gengruppen (b-neg./b-pos.), $p < 0,05$.

Table 16: Ausgangscharakteristika der Thrombozytenrezeptoren in Abhängigkeit von der Allelausprägung des thrombozytären Polymorphismus HPA-2 (Ko).

| | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) vor Medikamentengabe * | |
|-------------------|---|-------------------------------|
| | HPA-2b-negativ n=29 (78,4%) | HPA-2b-positiv n=8 (21,6%) |
| anti-CD41 | 96,7 (88,7 – 122,9) | 113,8 (104,6 – 130,7) |
| anti-CD42b | 79,4 (72,3 – 94,7) | 100,1 (80 – 116,3) |
| anti-CD61 | 41,8 (39,4 – 54,2) | 50,6 (47,5 – 59,8) |
| anti-CD62P * | 5,4 ± 6,9 | 3,7 ± 4,2 |
| c7E3 | 25,5 (22,1 – 29,9) | 28,4 (26,2 – 29,9) |
| anti-Faktor VIIIc | 10,1 (8,7 – 18,3) | 8,3 (7,1 – 10,7) |
| anti-Fibrinogen | 6,8 (5,6 – 9,1) | 7,8 (7,2 – 10,6) |
| LIBS-1 | 10,8 (8,4 – 14,4) | 9,6 (8,0 – 11,4) |
| PMI-1 | 5,5 (5,2 – 6,0) | 7,9 (5,7) |
| RIBS | 11,7 (8,9 – 14,9) | 7,2 (6,5) |
| anti-vWF | 10,2 (9,6 – 13,1) | 4,9(3,4 – 5,8) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

*Die mittlere Immunofluoreszenzintensität von anti-CD62P ist in Prozent-positiven angegeben. Die Werte sind als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

xx Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Gengruppen (b-neg./b-pos.), p<0,05.

Tabelle 17: Ausgangscharakteristika der Thrombozytenrezeptoren in Abhängigkeit von der Allelausprägung des thrombozytären Polymorphismus HPA-3 (Bak).

| | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) vor Medikamentengabe * | |
|-------------------|---|--------------------------------|
| | HPA-3b-negativ n=11 (29,7%) | HPA-3b-positiv n=26 (70,3%) |
| anti-CD41 | 95,4 (87,7 – 126,5) | 105,5 (94,7 – 119,8) |
| anti-CD42b | 90,0 (76,1 – 103,7) | 83,3 (68,0 – 103,8) |
| anti-CD61 | 40,5 (34,2 – 52,8) | 47,3 (41,5 – 58,7) |
| anti-CD62P * | 1,9 ± 2,2 | 6,2 ± 7,1 |
| c7E3 | 26,3 (23,4 – 29,9) | 26,3 (21,9 – 30,0) |
| anti-Faktor VIIIc | 10,4 (8,9 – 13,8) | 9,3 (7,9 – 10,7) |
| anti-Fibrinogen | 7,1 (5,4 – 8,7) | 7,6 (5,9 – 9,9) |
| LIBS-1 | 10,9 (7,9 – 13,8) | 9,8 (8,4 – 13,9) |
| PMI-1 | 5,7 (5,4) | 5,7 (5,3 – 7,6) |
| RIBS | 15,1 (12,2) | 9,4 (6,9 – 12,7) |
| anti-vWF | 10,0 (8,4 – 12,9) | 10,2 (9,6 – 10,9) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

*Die mittlere Immunofluoreszenzintensität von anti-CD62P ist in Prozent-positiven angegeben. Die Werte sind als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

xx Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Gengruppen (b-neg./b-pos.), $p < 0,05$.

4.2.3 Glykoprotein Ib-Oberflächenexpression und Rezeptor-interaktion

Zur Beurteilung der Glykoprotein Ib-Oberflächenexpression benutzten wir den monoklonalen Antikörper anti-CD42b (89, 154, 226).

Während des Beobachtungszeitraumes blieb die mittlere Intensität der anti-CD42b-Immunofluoreszenz, unabhängig von der Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (Pl^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak), in der Studien- und Kontrollgruppe unverändert (vgl. 4.1.7) (Tab. 18, Tab. 19, Tab. 20).

Table 18: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-CD42b im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1(*Pl^A*)-Polymorphismus.

| anti-CD42b | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|------------------------|--|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabegruppe (n = 18) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 15) | HPA-1b-positiv (n = 4) | HPA-1b-negativ (n = 14) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamenten-gabe | 79,3 (63,2 – 88,9) | 79,3 (67,4) | 96,4 (70,6 – 108,9) | 94,7 (76,7 – 113,2) |
| nach Medikamenten-gabe | 91,3 (71,6 – 114,8) | 99,5 (88,5) | | |
| nach 12 Stunden | 83,6 (66,3 – 111,8) | 112 (100,4 – 122) | 79 (70,7 – 96,7) | 93,8 (87,4 – 130,4) |
| nach 24 Stunden | 73,4 (58,5 – 85,4) | 78,1 (66,8 – 104,8) | 97,8 (84,7 – 100,2) | 98,5 (89,4 – 132,2) |
| nach 48 Stunden | 87,4 (71,4 – 95,7) | 83,2 (67,9 – 119,4) | 95 (77,8 – 110,6) | 92,4 (81,3 – 154,1) |
| nach 72 Stunden | 76,8 (60,5 – 84,7) | 67,1 (57,2) | 95,6 (76,1 – 104,2) | 98 (88,3 – 151,4) |
| nach 96 Stunden | 69,3 (62 – 105,7) | 62,2 (49,1) | 86,1 (63,9 – 124,2) | 129,8 (105,3) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Table 19: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-CD42b im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-2 (*Ko*)-Polymorphismus.

| anti-CD42b | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|------------------------|--|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabegruppe (n = 18) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 16) | HPA-2b-positiv (n = 3) | HPA-2b-negativ (n = 13) | HPA-2b-positiv (n = 5) |
| vor Medikamenten-gabe | 67,6 (76,1 – 77,3) | 91,1 (58,2) | 90 (75,9 – 107,9) | 102 (87,2 – 116) |
| nach Medikamenten-gabe | 91,9 (73,1 – 109,1) | 139,6 (77,5) | | |
| nach 12 Stunden | 89,5 (69,5 – 114,9) | 109 (101,4) | 85,4 (72,2 – 96,5) | 79,6 (78,4) |
| nach 24 Stunden | 72,7 (60,2 – 83,7) | 101,8 (71,5) | 99,1 (89,4 – 101,9) | 87,4 (56,6 – 98,6) |
| nach 48 Stunden | 82,8 (71,4 – 95,5) | 87,4 (66,7) | 97,2 (86,9 – 111,4) | 71,3 (47,8 – 104) |
| nach 72 Stunden | 75,9 (58,8 – 86,8) | | 101,6 (88,3 – 111) | 83,5 (67,1 – 90,7) |
| nach 96 Stunden | 64,8 (60,7 – 90,8) | | 117 (79,6 – 154,5) | 63,3 (57,2 – 97,5) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Table 20: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-CD42b im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-3 (Bak)-Polymorphismus.

| anti-CD42b | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|-----------------------|--|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabengruppe (n = 18) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 4) | HPA-3b-positiv (n = 15) | HPA-3b-negativ (n = 7) | HPA-3b-positiv (n = 11) |
| vor Medikamentengabe | 79,3 (75,2) | 77,3 (60,5 – 89,4) | 92,4 (76,2 – 101,5) | 100 (76,4 – 116) |
| nach Medikamentengabe | 104 (95,9) | 84,9 (59,9 – 105,9) | | |
| nach 12 Stunden | 82,2 (50,9) | 107,5 (72,8 – 116) | 92,4 (67,8 – 95,3) | 81,9 (75,8 – 110) |
| nach 24 Stunden | 67,4 (39,8) | 78,2 (70,8 – 85,4) | 97,8 (87,6 – 100,5) | 96,9 (81,1 – 107) |
| nach 48 Stunden | 81,9 (65,7) | 87,4 (71,4 – 95,7) | 98,4 (86,4 – 113) | 87,7 (71 – 109,7) |
| nach 72 Stunden | 81,6 (67,1) | 75,9 (58 – 84,7) | 96,7 (88,4 – 106,3) | 83,6 (74 – 107,5) |
| nach 96 Stunden | 62 (49,1) | 64,3 (62,2 – 105,7) | 104,3 (84,3 – 118) | 86 (62,9 – 154,5) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Die monoklonalen Antikörper anti-vWF und anti-Faktor VIIIc dienen zur quantitativen Bestimmung der von-Willebrand-Faktor- und Faktor VIIIc-Bindung an den Glykoprotein Ib-Rezeptor (226, 249).

Es kam zu keiner wesentlichen Veränderung der relativen mittleren Intensität der anti-vWF-Immunofluoreszenz und anti-Faktor VIIIc-Immunofluoreszenz innerhalb des Beobachtungszeitraumes in der Heparin-gabengruppe (vgl. 4.1.8). Ebenso konnten zwischen den beiden Gengruppen (b-neg./b-pos.) der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (PI^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak) keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Tab. 21, Tab. 22, Tab. 23, Tab. 24, Tab. 25, Tab. 26). Eine Abciximabgruppe ist nicht vorhanden.

Tabelle 21: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-vWF im zeitlichen Verlauf vor und nach Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1 (Pl^A)-Polymorphismus.

| anti-vWF | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|---------------------------|--|---------------------------|
| | Heparin-gruppe (n = 18) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 14) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamen- tengabe | 10,2 (8,1 – 11,9) | 10,4 (9,9 – 16,6) |
| nach 12 Stunden | 10,8 (7,6 – 14) | 14,2 (11,9 – 17,9) |
| nach 24 Stunden | 10,7 (7,6 – 13) | 12,4 (10,6 – 19,5) |
| nach 48 Stunden | 9,9 (7,9 – 11,3) | 10,9 (9,7 – 16,1) |
| nach 72 Stunden | 10,2 (8 – 10,6) | 9,3 (6,2 – 17,2) |
| nach 96 Stunden | 9,7 (9,5 – 11,3) | 8,5 (5,9) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Tabelle 22: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-vWF im zeitlichen Verlauf vor und nach Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-2 (Ko)-Polymorphismus.

| anti-vWF | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|---------------------------|--|---------------------------|
| | Heparin-gruppe (n = 18) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 13) | HPA-2b-positiv (n = 5) |
| vor Medikamen- tengabe | 10,2 (9,6 – 13,1) | 10,2 (6,6 – 10,9) |
| nach 12 Stunden | 13,6 (11 – 16,9) | 9,5 (6,7 – 10,5) |
| nach 24 Stunden | 10,5 (9,9 – 13,9) | 11,1 (8 – 13,9) |
| nach 48 Stunden | 10,4 (9,4 – 11,5) | 8,4 (6,8 – 19,5) |
| nach 72 Stunden | 10 (8 – 10,4) | 10,2 (7,6 – 10,6) |
| nach 96 Stunden | 9,6 (8,1 – 11,5) | 10,2 (9,5) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Tabelle 23: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-vWF im zeitlichen Verlauf vor und nach Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-3 (Bak)-Polymorphismus.

| anti-vWF | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|---------------------------|--|----------------------------|
| | Heparin-gruppe (n = 18) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 7) | HPA-3b-positiv (n = 11) |
| vor Medikamen- tengabe | 10 (8,4 – 12,9) | 10,2 (9,6 – 10,9) |
| nach 12 Stunden | 13,6 (11 – 16) | 10,8 (9,3 – 14,3) |
| nach 24 Stunden | 10,8 (10,1 – 13) | 10,7 (8,7 – 14,7) |
| nach 48 Stunden | 9,7 (8,4 – 11,7) | 10,1 (7,6 – 12,7) |
| nach 72 Stunden | 9,9 (8,2 – 19,4) | 10,1 (7,1 – 10,5) |
| nach 96 Stunden | 9,5 (8,8) | 10 (8,6 – 11,3) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Tabelle 24: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-Faktor VIIIc im zeitlichen Verlauf vor und nach Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1(Pl^A)-Polymorphismus.

| anti-Faktor VIIIc | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|---------------------------|--|---------------------------|
| | Heparin-gruppe (n = 18) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 14) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamen- tengabe | 9,7 (8,1 – 10,9) | 10 (8,1 – 26,8) |
| nach 12 Stunden | 9,2 (8,2 – 12,4) | 11,3 (8,7 – 20,8) |
| nach 24 Stunden | 10 (9 – 11,8) | 10,4 (7,5 – 14,7) |
| nach 48 Stunden | 10 (8,1 – 10,8) | 9,3 (6,7 – 14,4) |
| nach 72 Stunden | 9,3 (8 – 10,3) | 8 (6,6) |
| nach 96 Stunden | 9,4 (8,1 – 11,5) | 14,7 (8,2) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Tabelle 25: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-Faktor VIIIIC im zeitlichen Verlauf vor und nach Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-2 (Ko)-Polymorphismus.

| anti-Faktor VIIIIC | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|---------------------------|--|---------------------------|
| | Heparin-gruppe (n = 18) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 13) | HPA-2b-positiv (n = 5) |
| vor Medikamen- tengabe | 10,1 (8,7 – 18,3) | 8,3 (7,1 – 10,7) |
| nach 12 Stunden | 10,4 (8,7 – 14,7) | 8,5 (7,5 – 12,5) |
| nach 24 Stunden | 9,8 (8,3 – 11,8) | 10,2 (8,5 – 15,2) |
| nach 48 Stunden | 10,1 (7,7 – 11,8) | 9,9 (7,7 – 10,5) |
| nach 72 Stunden | 8,8 (7,5 – 10,3) | 9,3 (8,4 – 9,8) |
| nach 96 Stunden | 9,3 (8,1 – 12,5) | 9,6 (8,1 – 15,1) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Tabelle 26: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-Faktor VIIIIC im zeitlichen Verlauf vor und nach Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-3 (Bak)-Polymorphismus.

| anti-Faktor VIIIIC | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|---------------------------|--|----------------------------|
| | Heparin-gruppe (n = 18) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 7) | HPA-3b-positiv (n = 11) |
| vor Medikamen- tengabe | 10,4 (8,9 – 13,8) | 9,3 (7,9 – 10,7) |
| nach 12 Stunden | 10,5 (8,6 – 13,8) | 9,2 (7,9 – 13,6) |
| nach 24 Stunden | 9,2 (8,8 – 10,1) | 11 (7,8 – 13,2) |
| nach 48 Stunden | 10,8 (9,4 – 12,1) | 9,7 (7,7 – 10,4) |
| nach 72 Stunden | 8,4 (6,7 – 11,9) | 9,2 (8 – 10,3) |
| nach 96 Stunden | 9,1 (6,8 – 14) | 9,5 (8,2 – 11,6) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

4.2.4 Oberflächenexpression von Glykoprotein IIIa

Um die Oberflächenexpression von Glykoprotein IIIa auf zirkulierenden Thrombozyten bestimmen zu können, verwendeten wir den monoklonalen Antikörper anti-CD61 (90, 133, 154).

Während des Beobachtungszeitraumes war in beiden Gruppen die relative mittlere Intensität der anti-CD61-Immunofluoreszenz bei HPA-1b (PI^{A2})-negativen Patienten im Vergleich zu HPA-1b (PI^{A2})-positiven Patienten signifikant erhöht ($p < 0,05$) (Tab. 27).

In der Studiengruppe kam es nach Abciximabinfusion bei den HPA-1b (PI^{A2})-negativen Patienten zu einem signifikanten Anstieg der anti-CD61-Bindung gegenüber dem Ausgangsniveau, während die anti-CD61-Bindung bei den HPA-1b (PI^{A2})-positiven Patienten unverändert blieb (vgl. 4.1.4) (Tab. 27). In der Kontrollgruppe zeigten sich innerhalb der Gengruppen (b-neg./b-pos.) keine signifikanten Veränderungen hinsichtlich der mittleren Intensität der anti-CD61-Immunofluoreszenz (vgl. 4.1.4) (Tab. 27).

Die Allelausprägung des HPA-2 (Ko)- und HPA-3 (Bak)-Polymorphismus zeigte keinen Einfluß auf die Oberflächenexpression von Glykoprotein IIIa (anti-CD61-Bindung) in der Studien- und Kontrollgruppe (Tab. 28, Tab. 29).

Tabelle 27: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-CD61 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1 (PI^A)-Polymorphismus.

| anti-CD61 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|-----------------------|--|---------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabengruppe (n = 18) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 15) | HPA-1b-positiv (n = 4) | HPA-1b-negativ (n = 14) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamentengabe | 45,5 (41,2 – 58,9) | 35,4 (25,7) | 50,8 (46,3 – 57,1) | 31 (25,5 – 38,2) |
| nach Medikamentengabe | 46,5 (40,2 – 54,8) | 30,5 (27) | | |
| nach 12 Stunden | 54,9 (44,9 – 58,3) | 29,9 (23,2 – 35,1) | 48,6 (45,6 – 58,7) | 33,6 (16,3 – 39,4) |
| nach 24 Stunden | 53,2 (43,6 – 56,4) | 31,8 (25,2 – 37,8) | 49,6 (45,1 – 54,6) | 33,3 (27,8 – 35,8) |
| nach 48 Stunden | 52,4 (45,1 – 65,9) | 35,2 (26,2 – 52,2) | 55,4 (47,1 – 60,7) | 32,8 (27,3 – 35,5) |
| nach 72 Stunden | 54,9 (42,6 – 69,5) | 28,4 (24,4) | 59 (46,9 – 65,9) | 46,6(34,6) |
| nach 96 Stunden | 52,9 (47,2 – 85,1) | 31,9 (30,6) | 53,2 (44,9 – 67,2) | |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

xx Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Gengruppen (b-neg./b-pos.), $p < 0,05$.

Table 28: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-CD61 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-2 (Ko)-Polymorphismus.

| anti-CD61 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|-----------------------|--|---------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabengruppe (n = 18) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 16) | HPA-2b-positiv (n = 3) | HPA-2b-negativ (n = 13) | HPA-2b-positiv (n = 5) |
| vor Medikamentengabe | 41,8 (40,6 – 56,9) | 47,3 (45) | 43 (33,3 – 53,2) | 50,8 (49,3 – 58,3) |
| nach Medikamentengabe | 41 (30,6 – 46,5) | 62,6 (52,5) | | |
| nach 12 Stunden | 45,9 (33,1 – 57,6) | 52,8 (35,9) | 44,2 (35,9 – 49,2) | 58,7 (49,2 – 67,8) |
| nach 24 Stunden | 44 (35,3 – 54,7) | 65,2 (39,1) | 44,2 (36,7 – 49,1) | 50,9 (50 – 55,2) |
| nach 48 Stunden | 47,8 (37,8 – 64,7) | 56,7 (56,6) | 49,7 (34,6 – 59) | 56,9 (45,3 – 64,7) |
| nach 72 Stunden | 45,3 (34,3 – 68,1) | 59,2 (49,9) | 59 (46,6 – 65,4) | 48,9 (45,9 – 65,9) |
| nach 96 Stunden | 47,3 (37,9 – 84,9) | | 53,2 (41,7 – 64,2) | 46,9 (46) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Table 29: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-CD61 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-3 (Bak)-Polymorphismus.

| anti-CD61 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|-----------------------|--|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabengruppe (n = 18) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 4) | HPA-3b-positiv (n = 15) | HPA-3b-negativ (n = 7) | HPA-3b-positiv (n = 11) |
| vor Medikamentengabe | 40,5 (39,3) | 46,2 (41,6 – 59,6) | 45 (28,6 – 54,1) | 48,1 (40,3 – 58,7) |
| nach Medikamentengabe | 42,4 (33,1 – 56,8) | 46,4 (30,9 – 52,6) | | |
| nach 12 Stunden | 44,3(24,6 – 57,8) | 49,4 (38,5 – 57,8) | 45,6 (29,7 – 49,4) | 48,5 (39,7 – 65,2) |
| nach 24 Stunden | 47,8 (28,7 – 52,8) | 44,3 (39,1 – 56,4) | 44,2 (35,8 – 49,6) | 49,8 (42 – 55) |
| nach 48 Stunden | 56,9 (29,9 – 68,7) | 49,4 (38,5 – 58,1) | 57,7 (34,2 – 61,1) | 47,1 (41,1 – 54,1) |
| nach 72 Stunden | 62,2 (24,4) | 47,6 (38,8 – 68,2) | 60 (46,8 – 68,7) | 48,9 (46,3 – 64,4) |
| nach 96 Stunden | 64,2 (37,6) | 47,3 (38,2 – 84,6) | 57,6 (41,5) | 48,8 (43,2 – 66,1) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

4.2.5 Verfügbarkeit der Fibrinogenbindungsstellen und Fibrinogenbindung an zirkulierende Thrombozyten

Wir evaluierten die Verfügbarkeit der Fibrinogenbindungsstellen unter Abciximabbehandlung mittels anti-CD41, einem monoklonalen Antikörper, der an den GPIIb-IIIa-Rezeptorkomplex bindet, unabhängig davon, ob er sich in einem ruhenden oder aktivierten Funktionszustand befindet (90, 133, 154).

Während der Abciximabinfusion sank die mittlere Intensität der anti-CD41-Bindung, unabhängig von der Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (PI^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak), unter den Ausgangswert und stieg danach langsam wieder an (vgl. 4.1.4) (Tab. 30, Tab. 31, Tab. 32).

In der Kontrollgruppe blieb die anti-CD41-Bindung innerhalb des Beobachtungszeitraumes weitgehend unverändert (vgl. 4.1.4). HPA-1b (PI^{A2})-positive Patienten zeigten jedoch im Vergleich zu HPA-1b (PI^{A2})-negativen Patienten eine signifikant erhöhte mittlere Intensität der anti-CD41-Immunofluoreszenz im Verlauf der Heparin-gabe ($p < 0,05$). Die Allelausprägung des HPA-2 (Ko)- und HPA-3 (Bak)-Polymorphismus zeigte keinen Einfluß auf anti-CD41-Bindung unter Heparintherapie innerhalb des Beobachtungszeitraumes (Tab. 30, Tab. 31, Tab. 32).

Tabelle 30: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-CD41 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1 (PI^A)-Polymorphismus.

| anti-CD41 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|----------------------------|--|---------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabengruppe (n = 18) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 15) | HPA-1b-positiv (n = 4) | HPA-1b-negativ (n = 14) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamen- tengabe | 95,9 (88,7–108,7) | 93,1 (82,5) | 115,8 (90–126,6) | 125 (102,9–151) |
| nach Medikamen- tengabe | 18,7 (17,7–29,3) | 29,3 (14,5) | | |
| nach 12 Stunden | 37,4 (33,3–42,5) | 30,9 (25,9–36,2) | 108,4 (85,3–118) | 129,6 (96,6–146) |
| nach 24 Stunden | 42,7 (36,3–58,8) | 45,2 (29,6–52,8) | 110,3 (87,7–116) | 128 (96,6–140,8) |
| nach 48 Stunden | 57,4 (51,5–71,5) | 69,4 (51,2–74,7) | 116,9 (89–123,8) | 120,1 (96–141,6) |
| nach 72 Stunden | 66,9 (58,1–78,1) | 60,3 (57,6) | 114 (104,3–119) | 125,8 (118) |
| nach 96 Stunden | 74,2 (65,7–98,7) | 72,6 (70,1) | 117,6 (97–126,2) | |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

xx Es besteht ein signifikanter Unterschied zwischen den Gengruppen (b-neg./b-pos.), $p < 0,05$.

Table 31: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-CD41 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-2 (Ko)-Polymorphismus.

| anti-CD41 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|-----------------------|--|---------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabengruppe (n = 18) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 16) | HPA-2b-positiv (n = 3) | HPA-2b-negativ (n = 13) | HPA-2b-positiv (n = 5) |
| vor Medikamentengabe | 94,1 (85,1–100,1) | 115,3 (103,6) | 121,4 (95,3–126,8) | 112,2 (93,7–128,7) |
| nach Medikamentengabe | 18,9 (16,6–32,9) | 20,5 (18,2) | | |
| nach 12 Stunden | 36,3 (30,9–40) | 41 (25,8) | 111,2 (83,6–124,5) | 109,6 (99,5–122,4) |
| nach 24 Stunden | 42,2 (36,3–50,8) | 58,8 (25,6) | 113,3 (88,3–125,6) | 102,4 (73,7–124,4) |
| nach 48 Stunden | 57,4 (49,7–70,3) | 74,1 (72) | 116,9 (92,8–123,8) | 106,9 (72,9–134,5) |
| nach 72 Stunden | 60,9 (57,7–75,7) | 87,9 (71,8) | 118 (110,6–125,3) | 112,2 (82,9–118,3) |
| nach 96 Stunden | 72,6 (66,3–91,9) | | 121,9 (88,7–150,2) | 117,6 (97) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Table 32: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-CD41 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-3 (Bak)-Polymorphismus.

| anti-CD41 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|-----------------------|--|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabengruppe (n = 18) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 4) | HPA-3b-positiv (n = 15) | HPA-3b-negativ (n = 7) | HPA-3b-positiv (n = 11) |
| vor Medikamentengabe | 88,8 (88,6) | 99,2 (86,2–111,4) | 124,5 (84,8–127) | 117 (104,4–126,7) |
| nach Medikamentengabe | 28,7 (21,2–47,1) | 18,2 (15,9–27,8) | | |
| nach 12 Stunden | 29,5 (22,8–36,6) | 37,4 (33,3–42,5) | 113,7 (88,9–123,1) | 111,2 (80,8–125) |
| nach 24 Stunden | 41,4 (37,5–43,9) | 42,8 (34,9–58,8) | 110,3 (86,5–121,4) | 113,3 (92–128,5) |
| nach 48 Stunden | 54,3 (45,5) | 64,1 (52,4–71,2) | 116,9 (89,3–123,8) | 117 (90,7–129,2) |
| nach 72 Stunden | 70,8 (61,9–77,2) | 60,6 (56,4–79,6) | 116,4 (74,8–123) | 114,8 (106,3–122) |
| nach 96 Stunden | 85,1 (74,2) | 70,1 (65,7–78,9) | 126,2 (104,1) | 117,6 (85–143,5) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Zur Bestimmung der Fibrinogenbindung an zirkulierende Thrombozyten verwendeten wir den monoklonalen Antikörper anti-Fibrinogen (67, 78).

Während des Beobachtungszeitraumes ergab sich keine wesentliche Veränderung der mittleren Intensität der anti-Fibrinogen-Immunofluoreszenz in der Studien- und Kontrollgruppe (vgl. 4.1.8). Ebenso zeigten sich zwischen den beiden Gengruppen (b-neg./b-pos.) der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (Pl^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak) keine signifikanten Unterschiede (Tab. 33, Tab. 34, Tab. 35).

Tabelle 33: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-Fibrinogen im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1 (Pl^A)-Polymorphismus.

| anti-Fibrinogen | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|-----------------------|--|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabegruppe (n = 18) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 15) | HPA-1b-positiv (n = 4) | HPA-1b-negativ (n = 14) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamentengabe | 6,3 (5,6-8) | 8,5 (5,7) | 8,7 (6,5-9,6) | 7,6 (5,7-11,5) |
| nach Medikamentengabe | 7 (6-8,3) | 7,2 (5) | | |
| nach 12 Stunden | 6,6 (5,6-7,7) | 6,5 (5,9-7,1) | 7,9 (6,5-11,) | 7,2 (5,5-10,7) |
| nach 24 Stunden | 7,5 (5,5-8) | 7,3 (5,8-8,5) | 6,9 (5,6-8,8) | 8,5 (5,5-10,2) |
| nach 48 Stunden | 6,3 (5,7-7,4) | 7,2 (6,9-9) | 7,2 (5,8-10,5) | 5,3 (5-5,6) |
| nach 72 Stunden | 6,4 (6,2-8,3) | 7,3 (6,3) | 6,8 (5,3-7,4) | 6,3 (5,1) |
| nach 96 Stunden | 8,2 (6,4-12,7) | 7,4 (5,6) | 6,7 (5,5-7,5) | 10,6 (7,3) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Table 34: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-Fibrinogen im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-2 (Ko)-Polymorphismus.

| anti-Fibrinogen | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|----------------------------|--|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabegruppe (n = 18) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 16) | HPA-2b-positiv (n = 3) | HPA-2b-negativ (n = 13) | HPA-2b-positiv (n = 5) |
| vor Medikamen- tengabe | 6,2 (5,6-8,3) | 7,3 (5,5) | 8,3 (5,4-9,6) | 8,1 (7,3-12,7) |
| nach Medikamen- tengabe | 7 (6-8) | 10,5 (6) | | |
| nach 12 Stunden | 6,6 (5,7-7,1) | 7,3 (6) | 8,3 (6,4-10,6) | 6,4 (5,7) |
| nach 24 Stunden | 6,9 (5,4-8) | 7,7 (7,6) | 7,3 (5,2-10,5) | 7,1 (6,2-8) |
| nach 48 Stunden | 6,9 (5,8-7,3) | 7,5 (5,3) | 5,8 (5,3-9,3) | 7,4 (6,3-11) |
| nach 72 Stunden | 6,5 (6,2-9,1) | 6,9 (6,3) | 6,7 (5,7-8,9) | 6,2 (5,1-8,4) |
| nach 96 Stunden | 8,2 (6,4-16,3) | | 7,2 (5,8-9,1) | 6,7 (5,5) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Table 35: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von anti-Fibrinogen im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-3 (Bak)-Polymorphismus.

| anti-Fibrinogen | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|----------------------------|--|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabegruppe (n = 18) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 4) | HPA-3b-positiv (n = 15) | HPA-3b-negativ (n = 7) | HPA-3b-positiv (n = 11) |
| vor Medikamen- tengabe | 5,6 (5,1) | 6,8 (5,8-9,7) | 7,6 (6,6-9,5) | 8,7 (5,9-10,3) |
| nach Medikamen- tengabe | 7,5 (6-15) | 7 (6-8) | | |
| nach 12 Stunden | 6,5 (5,7-6,8) | 6,6 (5,7-7,7) | 9,1 (5,8-12,8) | 7,2 (6,2-9,7) |
| nach 24 Stunden | 6,1 (5,1-7,7) | 7,6 (6,4-8,8) | 7,9 (5,6-13,7) | 6,9 (5,1-9,6) |
| nach 48 Stunden | 6,8 (6,1) | 7,2 (5,7-8,5) | 5,9 (5,3-10,9) | 6,9 (5,6-8,1) |
| nach 72 Stunden | 6,3 (6,2-6,5) | 7,3 (6,3-9,6) | 5,1 (5-10,3) | 7,1 (6,2-7,9) |
| nach 96 Stunden | 26,6 (16,3) | 6,9 (6,1-8,3) | 5,9 (5,3) | 7,2 (6,3-7,8) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

4.2.6 Glykoprotein IIb-IIIa-Rezeptorblockade durch Abciximab

Zur Beurteilung der Glykoprotein IIb-IIIa-Rezeptorblockade durch Abciximab während und nach Medikamentengabe verwendeten wir FITC-c7E3, eine fluoreszenzmarkierte Form von Abciximab.

In der Studiengruppe sank die mittlere Intensität der FITC-c7E3-Immunofluoreszenz während der Abciximabinfusion signifikant unter den Ausgangswert und stieg anschließend langsam an, während in der Kontrollgruppe die FITC-c7E3-Bindung innerhalb des Beobachtungszeitraumes weitgehend unverändert blieb (vgl. 4.1.3). Diese Ergebnisse zeigten sich unabhängig von der Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (Pl^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak) (Tab. 36, Tab. 37, Tab. 38).

Table 36: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von FITC-c7E3 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1 (Pl^A)-Polymorphismus.

| FITC-c7E3 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|-----------------------|--|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabegruppe (n = 18) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 15) | HPA-1b-positiv (n = 4) | HPA-1b-negativ (n = 14) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamentengabe | 25,1 (23,1-29,3) | 20,5 (20,1) | 28,3 (23,6-29,8) | 30,9 (26,2-34,7) |
| nach Medikamentengabe | 5,3 (4,5-13,8) | 7,6 (4,4) | | |
| nach 12 Stunden | 9,9 (8-11,1) | 7 (5,8-8) | 26,5 (20,7-27,9) | 31,4 (24,5-36,1) |
| nach 24 Stunden | 10,3 (9-15,5) | 11,5 (6,1-13,7) | 24,6 (18,6-28,5) | 31,1 (25,3-31,5) |
| nach 48 Stunden | 14,6 (12,4-17,5) | 18,1 (12,5-20,2) | 25,9 (18,3-29,6) | 30,9 (24,3-31,5) |
| nach 72 Stunden | 17,3 (14,2-21,3) | 15,8 (13,5) | 28,8 (26,5-29,7) | 30,8 (30,2) |
| nach 96 Stunden | 17,7 (14,7-24,7) | 18,3 (16,4) | 28,8 (22,3-31,5) | |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Table 37: Immunofluorescence (relative mean intensity) of FITC-c7E3 in the time course before and after Abciximab- or Heparin administration and in dependence on the Allele expression of HPA-2 (Ko)-Polymorphism.

| FITC-c7E3 | Immunofluorescence (relative mean intensity) | | | |
|-----------------------|--|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparingruppe (n = 18) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 16) | HPA-2b-positiv (n = 3) | HPA-2b-negativ (n = 13) | HPA-2b-positiv (n = 5) |
| vor Medikamentengabe | 24 (20,9-26,3) | 28,5 (20,9) | 28,3 (23-30,2) | 28,3 (26,2-30,9) |
| nach Medikamentengabe | 6,7 (4,4-11,6) | 5,3 (5) | | |
| nach 12 Stunden | 8,9 (7,4-10,5) | 11,1 (5,5) | 26,5 (20,7-30,2) | 27,5 (25,8-29,8) |
| nach 24 Stunden | 10,3 (9,2-13) | 15,5 (4,9) | 26,6 (20,5-30,7) | 27 (16,9-30,3) |
| nach 48 Stunden | 14,6 (11,9-17,8) | 19 (17,2) | 26,1 (21,1-30,8) | 27,2 (17,9-32,1) |
| nach 72 Stunden | 16,3 (13,5-19,5) | 19,1 (16,3) | 29,7 (29,1-30,5) | 27,5 (21,1-29,4) |
| nach 96 Stunden | 18,3 (15,6-22,7) | | 29,3 (19,7-36,1) | 29,4 (23,8) |

The values are shown as median and as first and third quartile.

Table 38: Immunofluorescence (relative mean intensity) of FITC-c7E3 in the time course before and after Abciximab- or Heparin administration and in dependence on the Allele expression of HPA-3 (Bak)-Polymorphism.

| FITC-c7E3 | Immunofluorescence (relative mean intensity) | | | |
|-----------------------|--|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparingruppe (n = 18) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 4) | HPA-3b-positiv (n = 15) | HPA-3b-negativ (n = 7) | HPA-3b-positiv (n = 11) |
| vor Medikamentengabe | 23,4 (22,8) | 25,1 (20,9-29,3) | 28,4 (24,8-30,1) | 28,3 (24,1-31,5) |
| nach Medikamentengabe | 14,1 (6,9-21,9) | 5 (4,4-8,2) | | |
| nach 12 Stunden | 6,5 (5,4-8,7) | 9,9 (8-11,1) | 24,4 (19,4-28,8) | 27,6 (21,9-30,5) |
| nach 24 Stunden | 10 (9,2-10,9) | 11,5 (8,5-15,5) | 23,4 (13,1-30,6) | 28 (20,6-30,8) |
| nach 48 Stunden | 11,9 (10,8) | 16,6 (13,2-17,9) | 25,6 (13,4-29,5) | 27,2 (22,3-31,1) |
| nach 72 Stunden | 17,3 (14,1-20,5) | 16,3 (13,9-20,7) | 29,7 (13,3-30,2) | 29,4 (27,8-30,8) |
| nach 96 Stunden | 19,6 (19,6) | 17 (14,7-20,6) | 25,2 (12,7) | 29,9 (24,9-35,4) |

The values are shown as median and as first and third quartile.

4.2.7 Oberflächenexpression von P-Selektin

Der monoklonale Antikörper anti-CD62P bindet an das Glykoprotein P-Selektin, das nach irreversibler Degranulation von α -Granula, auf der aktivierten Thrombozytenoberfläche exponiert wird (74, 89, 90, 154, 226).

Während der Abciximabinfusion stieg die anti-CD62P-Bindung deutlich über das Ausgangsniveau und sank nach 96 Stunden wieder auf den Ausgangswert ab. Unter Heparin-gabe blieb die P-Selektin-Oberflächenexpression während des Beobachtungszeitraumes unverändert (vgl. 4.1.6). Sowohl in der Studiengruppe als auch in der Kontrollgruppe bestanden zwischen den beiden Gengruppen (b-neg./b-pos.) der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (Pl^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak) keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Quantität und des Verlaufes der anti-CD62P-Bindung (Tab. 39, Tab. 40, Tab. 41).

Tabelle 39: Immunofluoreszenz (Prozent-positive) von anti-CD62P im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1 (Pl^A)-Polymorphismus.

| anti-CD62P | Immunofluoreszenz (Prozent-positive) | | | |
|-----------------------|--------------------------------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabengruppe (n = 18) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 15) | HPA-1b-positiv (n = 4) | HPA-1b-negativ (n = 14) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamentengabe | 5,4 ± 3,7 | 11,9 ± 2,5 | 2,4 ± 2,6 | 8,6 ± 16 |
| nach Medikamentengabe | 11,4 ± 15,1 | 3,6 ± 2,8 | | |
| nach 12 Stunden | 13,1 ± 16,6 | 23 ± 37,4 | 5,7 ± 6,4 | 7,1 ± 7,2 |
| nach 24 Stunden | 12,1 ± 13,9 | 25,8 ± 37,8 | 2,3 ± 1,9 | 4,7 ± 7,2 |
| nach 48 Stunden | 14 ± 15,7 | 34,5 ± 42,3 | 2,8 ± 3,2 | 0,5 ± 0,3 |
| nach 72 Stunden | 5,9 ± 3,2 | 12,3 ± 13,7 | 3,2 ± 3,5 | 1,9 ± 1,5 |
| nach 96 Stunden | 6,2 ± 3,5 | 5,9 ± 6,1 | 2,7 ± 2,9 | 2,6 ± 1,2 |

Die Werte sind als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

Table 40: Immunofluoreszenz (Prozent-positive) von anti-CD62P im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-2 (Ko)-Polymorphismus.

| anti-CD62P | Immunofluoreszenz (Prozent-positive) | | | |
|-----------------------|--------------------------------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabengruppe (n = 18) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 16) | HPA-2b-positiv (n = 3) | HPA-2b-negativ (n = 13) | HPA-2b-positiv (n = 5) |
| vor Medikamentengabe | 5,9 ± 1,9 | 7,7 ± 4,5 | 4,9 ± 9,1 | 1,3 ± 0,8 |
| nach Medikamentengabe | 9,6 ± 2,2 | 12,3 ± 13,4 | | |
| nach 12 Stunden | 16,8 ± 3,1 | 8,2 ± 4,2 | 6,6 ± 6,8 | 5,2 ± 5,5 |
| nach 24 Stunden | 16,2 ± 1,5 | 10 ± 6,7 | 2,7 ± 4,1 | 4,8 ± 2,5 |
| nach 48 Stunden | 17,1 ± 2,5 | 23 ± 5,4 | 1,5 ± 1,2 | 5 ± 4,7 |
| nach 72 Stunden | 5,4 ± 2,9 | 17,5 ± 13,3 | 2,4 ± 1,8 | 4,3 ± 5,6 |
| nach 96 Stunden | 6,2 ± 2 | 5,3 ± 0,6 | 2,1 ± 1,8 | 4,6 ± 4,3 |

Die Werte sind als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

Table 41: Immunofluoreszenz (Prozent-positive) von anti-CD62P im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. Heparin-gabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-3 (Bak)-Polymorphismus.

| anti-CD62P | Immunofluoreszenz (Prozent-positive) | | | |
|-----------------------|--------------------------------------|----------------------------|------------------------------|----------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparin-gabengruppe (n = 18) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 4) | HPA-3b-positiv (n = 15) | HPA-3b-negativ (n = 7) | HPA-3b-positiv (n = 11) |
| vor Medikamentengabe | 2,2 ± 1,8 | 7,3 ± 4,0 | 1,9 ± 2,6 | 4,9 ± 9,5 |
| nach Medikamentengabe | 3,5 ± 2,9 | 11,4 ± 15,0 | | |
| nach 12 Stunden | 31,4 ± 34,8 | 10,7 ± 15,5 | 5,9 ± 7,4 | 6,1 ± 6,2 |
| nach 24 Stunden | 24,2 ± 38,8 | 12,6 ± 13,8 | 1,4 ± 0,9 | 3,9 ± 4,6 |
| nach 48 Stunden | 29,6 ± 45,6 | 15,2 ± 15,4 | 1,1 ± 0,6 | 3,5 ± 3,7 |
| nach 72 Stunden | 6,7 ± 1,5 | 7,6 ± 7,9 | 1,4 ± 1,4 | 4,3 ± 5,6 |
| nach 96 Stunden | 13,6 ± 1,2 | 4,7 ± 2,7 | 1 ± 0,9 | 3,6 ± 2,9 |

Die Werte sind als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt.

4.2.8 Expression von ligandeninduzierten Bindungsstellen und rezeptorinduzierten Bindungsstellen

Zur Charakterisierung des Funktionszustandes von Glykoprotein IIb-IIIa verwendeten wir die spezifischen Antikörper LIBS-1 und PMI-1, die ausschließlich an den ligandenbesetzten Fibrinogenrezeptor binden (74, 78).

Um das an die Thrombozytenmembran gebundene und in seiner Konformation veränderte Fibrinogen (Expression von rezeptorinduzierten Bindungsstellen) bestimmen zu können, benutzten wir den monoklonalen Antikörper RIBS (74, 78).

Unter Abciximabgabe stieg die relative mittlere Intensität der LIBS-1-, PMI-1- und RIBS-Immunofluoreszenz signifikant gegenüber dem Ausgangsniveau an und blieb während des Beobachtungszeitraumes deutlich erhöht. In der Kontrollgruppe zeigten sich keine signifikanten Veränderungen hinsichtlich der LIBS-1-Bindung (vgl. 4.1.5). Für PMI-1 und RIBS ist keine HeparinGruppe vorhanden.

Die Ergebnisse der Studien- und Kontrollgruppe waren unabhängig von der Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (PI^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak) (Tab. 42, Tab. 43, Tab. 44, Tab. 45, Tab. 46, Tab. 47, Tab. 48, Tab. 49, Tab. 50).

Tabelle 42: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von LIBS-1 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximab- bzw. HeparinGabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1(PI^A)-Polymorphismus.

| LIBS-1 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | | | |
|-----------------------|--|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | HeparinGruppe (n = 18) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 15) | HPA-1b-positiv (n = 4) | HPA-1b-negativ (n = 14) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamentengabe | 11,7 (9,9-14,9) | 15,8 (9,4) | 9,5 (7,5-11,7) | 9,2 (7,6-12,9) |
| nach Medikamentengabe | 14,8 (11,9-16,7) | 12,2 (10,6) | | |
| nach 12 Stunden | 14,7 (12,4-21,5) | 12,1 (9,8-14,2) | 10,2 (7,9-11,5) | 10,5 (9,4-11,5) |
| nach 24 Stunden | 13,9 (12,4-15,5) | 13,7 (12,1-15) | 9,3 (8,6-11,9) | 8,5 (8,2-12,3) |
| nach 48 Stunden | 15,9 (11,6-24,2) | 13,1 (10,1) | 9,9 (8-11,5) | 9,2 (7,9-9,8) |
| nach 72 Stunden | 13,8 (12,8-18,2) | 15,1 (9,7-19,9) | 8,5 (7,7-10,8) | 11,1 (7,5) |
| nach 96 Stunden | 13,7 (11,3-20,5) | 10,7 (9,7) | 8,8 (7,3-10,5) | 12,6 (11) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Table 43: Immunofluorescence (relative average intensity) of LIBS-1 in the time course before and after Abciximab- or Heparin administration and in dependence on the Allele expression of HPA-2 (Ko)-Polymorphism.

| LIBS-1 | Immunofluorescence (relative average intensity) | | | |
|-----------------------|---|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparingruppe (n = 18) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 16) | HPA-2b-positiv (n = 3) | HPA-2b-negativ (n = 13) | HPA-2b-positiv (n = 5) |
| vor Medikamentengabe | 11,9 (9,7-15) | 11,5 (9,3) | 9,6 (7,6-13,6) | 9,5 (7,5-10,3) |
| nach Medikamentengabe | 14,6 (11,4-17,9) | 14,1 (12) | | |
| nach 12 Stunden | 14,6 (12,5-17,8) | 9,4 (9,1) | 10,5 (9-11,6) | 8,8 (6,9-10,8) |
| nach 24 Stunden | 13,4 (11,9-15,2) | 15,3 (14,2) | 8,7 (8,4-11,9) | 10 (9-12,1) |
| nach 48 Stunden | 14,9 (10,7-18,6) | | 9,3 (8,2-11) | 9,9 (8-13,2) |
| nach 72 Stunden | 13,7 (11,4-18,1) | 18,7 (13,7) | 8,5 (7,5-11,5) | 10,8 (7,9-11,4) |
| nach 96 Stunden | 12,3 (10,9-23,8) | | 9,4 (7,2-12,2) | 8 (7,4) |

The values are shown as median and as first and third quartile.

Table 44: Immunofluorescence (relative average intensity) of LIBS-1 in the time course before and after Abciximab- or Heparin administration and in dependence on the Allele expression of HPA-3 (Bak)-Polymorphism.

| LIBS-1 | Immunofluorescence (relative average intensity) | | | |
|-----------------------|---|----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | | Heparingruppe (n = 18) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 4) | HPA-3b-positiv (n = 15) | HPA-3b-negativ (n = 7) | HPA-3b-positiv (n = 11) |
| vor Medikamentengabe | 15,1 (12,2) | 11,4 (9,3-14,4) | 9 (7,3-11,3) | 9,6 (7,5-13,9) |
| nach Medikamentengabe | 18,1 (16,6-24,8) | 12,4 (11-15,1) | | |
| nach 12 Stunden | 13,1 (12,1-24,4) | 14,7 (11,7-18,7) | 10,9 (9,6-11,5) | 9,2 (7,5-11,6) |
| nach 24 Stunden | 12,1 (10,4-13,5) | 14,2 (12,9-15,5) | 8,5 (8,1-10,8) | 9,7 (8,6-12,9) |
| nach 48 Stunden | 10,1 (9,1) | 15 (12,8-18,4) | 9,2 (7,8-9,9) | 10,5 (8,7-11,4) |
| nach 72 Stunden | 13,1 (11,4-16,7) | 13,8 (12,8-18,4) | 8,1 (6,9-11,8) | 9,3 (8-11,3) |
| nach 96 Stunden | 27 (11,9) | 12,3 (10,7-18,8) | 6,7 (6,5) | 9,4 (7,9-11,3) |

The values are shown as median and as first and third quartile.

Tabelle 45: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von PMI-1 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximabgabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1 (Pl^A)-Polymorphismus.

| PMI-1 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|-----------------------|--|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 15) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamentengabe | 5,7 (5,3-6,6) | 6,6 (5,2) |
| nach Medikamentengabe | 7,2 (6,3-8,9) | 3,9 (2) |
| nach 12 Stunden | 8,3 (6,6-10,7) | 7,1 (6,7) |
| nach 24 Stunden | 7,1 (5,7-10,1) | 7,9 (5,8) |
| nach 48 Stunden | 7,4 (6,4-9,7) | 8,4 (7,2) |
| nach 72 Stunden | 7,9 (5,7-14,6) | 8,3 (7,4) |
| nach 96 Stunden | 6,7 (5,5-10,6) | 16,4 (14,7) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Tabelle 46: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von PMI-1 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximabgabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-2 (Ko)-Polymorphismus.

| PMI-1 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|-----------------------|--|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 16) | HPA-2b-positiv (n = 3) |
| vor Medikamentengabe | 5,5 (5,2-6) | 7,9 (5,7) |
| nach Medikamentengabe | 7 (5,6-8,4) | 11,5 (7,8) |
| nach 12 Stunden | 7,9 (6,6-9,4) | 8,3 (7,1) |
| nach 24 Stunden | 7,3 (5,7-8,7) | 7,1 (5,8) |
| nach 48 Stunden | 7,6 (6,4-9,3) | 9,2 (6,4) |
| nach 72 Stunden | 7,9 (5,7-9,6) | 11,2 (7,7) |
| nach 96 Stunden | 8,1 (6,1-13,2) | |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Tabelle 47: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von PMI-1 im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximabgabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-3 (Bak)-Polymorphismus.

| PMI-1 | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|-----------------------|--|----------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 4) | HPA-3b-positiv (n = 15) |
| vor Medikamentengabe | 5,7 (5,4) | 5,7 (5,3-6,8) |
| nach Medikamentengabe | 6,7 (3,1-9,2) | 7,2 (5,9-7,6) |
| nach 12 Stunden | 6,7 (6,5-7,9) | 8,3 (6,9-8,5) |
| nach 24 Stunden | 5,9 (5,3-7,8) | 7,6 (6,6-11,2) |
| nach 48 Stunden | 6,5 (5,4) | 7,7 (6,4-10,6) |
| nach 72 Stunden | 7,4 (7-8,5) | 8,3 (5,7-11,2) |
| nach 96 Stunden | 13,4 (6,5) | 7,4 (5,4-15,2) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Tabelle 48: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von RIBS im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximabgabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-1 (Pl^A)-Polymorphismus.

| RIBS | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|-----------------------|--|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | |
| | HPA-1b-negativ (n = 15) | HPA-1b-positiv (n = 4) |
| vor Medikamentengabe | 11,5 (7,9-14,7) | 8,3 (7,2) |
| nach Medikamentengabe | 13,7 (11-16,6) | 14,3 (10,6) |
| nach 12 Stunden | 14,1 (11,8-18,7) | 11,7 (6,8) |
| nach 24 Stunden | 13,6 (11,4-15,5) | 13,1 (11,7) |
| nach 48 Stunden | 15,9 (11,6-24,2) | 10,1 (8,6) |
| nach 72 Stunden | 13,7 (12,1-17,6) | 10,2 (9,2) |
| nach 96 Stunden | 13,7 (11,3-20,5) | 18,9 (10,7) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Tabelle 49: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von RIBS im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximabgabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-2 (Ko)-Polymorphismus.

| RIBS | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|-----------------------|--|---------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | |
| | HPA-2b-negativ (n = 16) | HPA-2b-positiv (n = 3) |
| vor Medikamentengabe | 11,7 (8,9-14,9) | 7,2 (6,5) |
| nach Medikamentengabe | 14,8 (11,2-17,9) | 8,9 (5,9) |
| nach 12 Stunden | 14,1 (12,4-18,7) | 8,4 (6,8) |
| nach 24 Stunden | 13,1 (11,7-14,7) | 14,1 (8,3) |
| nach 48 Stunden | 14,9 (10,6-21,4) | 13,4 (8,6) |
| nach 72 Stunden | 13,5 (11,2-17,6) | 11,2 (8,7) |
| nach 96 Stunden | 13 (11,2-25,4) | |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

Tabelle 50: Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) von RIBS im zeitlichen Verlauf vor und nach Abciximabgabe und in Abhängigkeit von der Allelausprägung des HPA-3 (Bak)-Polymorphismus.

| RIBS | Immunofluoreszenz (relative mittlere Intensität) | |
|-----------------------|--|----------------------------|
| | Abciximabgruppe (n = 19) | |
| | HPA-3b-negativ (n = 4) | HPA-3b-positiv (n = 15) |
| vor Medikamentengabe | 15,1 (12,2) | 9,4 (6,9-12,7) |
| nach Medikamentengabe | 18,1 (16,6-24,8) | 12,2 (10,1-14,9) |
| nach 12 Stunden | 13,1 (12,1-24,5) | 12,7 (10,5-16,5) |
| nach 24 Stunden | 12,1 (10,4-13,5) | 13,8 (12,2-15,9) |
| nach 48 Stunden | 10,1 (9,1) | 15 (11,6-18,4) |
| nach 72 Stunden | 13,1 (11,4-16,7) | 13,5 (9,2-16,9) |
| nach 96 Stunden | 27 (11,9) | 13 (11-19,2) |

Die Werte sind als Median und als erstes und drittes Quartil dargestellt.

5. Diskussion

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Bei Patienten mit koronarer Stentimplantation führt die intravenöse Gabe des Fibrinogenrezeptorantagonisten Abciximab zu signifikanten Änderungen des Funktions- und Konformationszustandes der thrombozytären Membranglykoproteine:

a) Die Abciximabbolusgabe und -infusion bewirken eine schnelle Blockade des GPIIb-IIIa-Rezeptors auf zirkulierenden Thrombozyten.

b) Nach Ende der Abciximabinfusion steigt die GPIIb-IIIa-Rezeptorverfügbarkeit wieder langsam an, erreicht jedoch während des 96-stündigen Beobachtungszeitraumes nicht mehr das Ausgangsniveau.

c) Unter Abciximabgabe kommt es zur Expression ligandeninduzierter Bindungsstellen (LIBS-1) auf zirkulierenden Thrombozyten, die während des gesamten Beobachtungszeitraumes nachgewiesen werden können.

d) Die Abciximabanwendung geht mit einer P-Selektin-Freisetzung aus den α -Granula einher, die 48 Stunden nach Infusionsbeginn Höchstwerte erreicht.

e) Die Abciximabgabe führt nach 48 Stunden zu einer vermehrten GPIIIa-Oberflächenexpression, die bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes bestehen bleibt.

2. Unter der Therapie mit dem Fibrinogenrezeptorantagonisten Abciximab kommt es zu einem Abfall der Thrombozytenzahl im peripheren Blut. Der Thrombozytenzahlabfall läßt sich mit der gesteigerten Expression von LIBS-1 auf der Thrombozytenoberfläche invers korrelieren.

3. Es kann kein Zusammenhang zwischen der Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (PI^A), HPA-2 (Ko) bzw. HPA-3 (Bak) und dem veränderten Funktions- und Konformationszustand der Thrombozytenmembranglykoproteine sowie der Effizienz der Fibrinogenrezeptorblockade unter Abciximabtherapie festgestellt werden.

Im Folgenden möchte ich auf diese Ergebnisse näher eingehen und ihre übergreifende Bedeutung aufzeigen.

5.1 GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten als adjuvante, anti-thrombozytäre Therapiestrategie bei koronarer Stentimplantation

Groß angelegte, randomisierte, prospektive Studien mit Glykoprotein IIb-IIIa-Antagonisten in der interventionellen Kardiologie zeigten in den letzten Jahren, daß die periinterventionelle GPIIb-IIIa-Rezeptorblockade zur Verminderung ischämischer Komplikationen nach Koronarangioplastie führt. Mit Hilfe der EPIC-Studie (232), die 2099 Hochrisikopatienten für eine Koronarintervention einschloß, und der EPILOG-Studie (233), die 2792 Patienten mit normalem PTCA-Risiko umfaßte, konnte festgestellt werden, daß durch eine Abciximabbolusinjektion vor PTCA und eine anschließende 12-stündige Abciximabinfusion die Rate der peri- und postinterventionellen kardialen Ereignisse signifikant verringert wird. Ähnliche Ergebnisse konnten mit anderen synthetischen Antagonisten wie Eptifibatide (Integrelin, zyklisches Heptapeptid) in der IMPACT-II-Studie (235) und in der ESPRIT-Studie (48) oder Aggrastat (Tirofiban, nicht-peptidischer Antagonist) in der RESTORE-Studie (237) erzielt werden. Jedoch zeigte sich hier nur ein Trend zugunsten einer niedrigeren kardialen Komplikationsrate.

Einen interventionellen Ansatz zur Reduktion kardialer Ereignisse nach PTCA stellt die koronare Stentimplantation (207, 208) dar. Indikation für die Stentimplantation sind eine unbefriedigende Gefäßdilatation nach PTCA (Reststenose >50%), plötzlicher Gefäßverschluß sowie der angiographische Nachweis einer größeren Dissektion. Trotz der Effektivität einer Stentimplantation, die durch die ISAR-Studie belegt werden konnte (207), kommt es nicht selten zu schwerwiegenden Komplikationen. Die metallische Oberfläche der Stents, die potentiell thrombogen ist und die bei Stentimplantation entstehenden Gefäßendothelverletzungen können innerhalb der ersten beiden Wochen nach Intervention zur Entwicklung einer subakuten Stentthrombose beitragen, die letztlich zum akuten Myokardinfarkt und zum Tod führen kann (241).

Bei Betrachtung dieser Studienergebnisse drängt sich die wichtige klinische Frage nach der Wirksamkeit der Kombination einer GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonistentherapie mit der Stentimplantation auf.

Untersuchungen zur kombinierten antithrombozytären Therapie mit Aspirin und Tiklopidin bzw. Clopidogrel nach Stentimplantation zeigten, daß hierdurch postinterventionelle kardiale Ereignisse weiter verringert werden können (13, 15, 22, 86, 123, 131, 161, 166, 203). Der maximale durch Tiklopidin oder Clopidogrel vermittelte Hemmeffekt der Thrombozytenaktivierung tritt jedoch erst nach Tagen der Erstanwendung ein (13, 22, 72, 92). Somit ist die Wirksamkeit dieser kombinierten antithrombozytären Therapie für Hochrisikopatienten mit Myokardinfarkt oder instabiler Angina nicht optimal.

Mit der vorliegenden Arbeit konnten wir nachweisen, daß die Anwendung von Abciximab zusätzlich zu Aspirin und Tiklopidin bzw. Clopidogrel bei Patienten mit koronarer Stentimplantation zu einer sofortigen Fibrinogenrezeptorblockade führt, die im Beobachtungszeitraum von 96 Stunden allmählich wieder abnimmt. Die Rezeptorverfügbarkeit für Fibrinogen erreicht während dieser Zeit nicht wieder das Ausgangsniveau.

Daraus folgerten wir, daß GPIIb-IIIa-Antagonisten das “Tiklopidinfenster” der antithrombozytären Therapie schließen können und auf diese Weise zur weiteren Reduktion kardialer Ereignisse nach Stentimplantation beitragen. Diese Vermutung wird durch die Ergebnisse der kürzlich durchgeführten, multizentrischen, randomisierten EPISTENT-Studie untermauert (136, 242). In der Verlaufsuntersuchung von 2399 Patienten zeigte sich nach 30 Tagen, daß das Auftreten von Ereignissen im Sinne des primären Endpunktes (Tod, Myokardinfarkt, Re-Angioplastie) durch eine Kombination von Stentimplantation und Abciximabanwendung im Vergleich zur alleinigen Stentimplantation um 57% reduziert wird. Ebenso bestätigten Subanalysen der EPIC-Studie, der EPILOG-Studie (195, 233) und der CAPTURE-Studie (231, 245) eine signifikante Reduktion kardialer Ereignisse unter einer Kombination von Stentimplantation und Abciximabanwendung (168).

5.2 Überwachung der pharmakodynamischen Wirksamkeit der GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonistentherapie mittels durchflußzytometrischer Messungen

Neben ihrer Bedeutung für die interventionelle Kardiologie, finden GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten auch Anwendung bei der Behandlung der instabilen Angina. Phase-III-Studien mit Abciximab (217), Integrelin (PURSUIT-Studie) (210), Tirofiban (PRISM-Studie, PRISM-PLUS-Studie) (238) und Lamifiban (PARAGON-Studie) (239) zeigten einen günstigen Einfluß von Fibrinogenrezeptorantagonisten auf den Verlauf der instabilen Angina. Darüber hinaus wurden oral wirksame GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten wie Xemilofiban (112, 218) entwickelt, die sich jedoch in der Langzeitanwendung nicht bewährt haben (116).

Bei einer Therapie mit Fibrinogenrezeptorantagonisten muß jedoch berücksichtigt werden, daß es auf Grund einer steilen Dosis-Wirkungs-Beziehung schon bei kleinen Veränderungen der effektiven Plasmakonzentration des Inhibitors zu großen Veränderungen der Thrombozytenfunktion kommt. Zusätzlich beeinflussen intraindividuelle Variablen bezüglich der Medikamentenmetabolisierung und -ausscheidung, intraindividuell unterschiedliche Thrombozytenzahlen im peripheren Blut, intraindividuell unterschiedliche

thrombozytäre Oberflächenrezeptorenanzahl sowie intraindividuelle Variationen der intrinsischen Thrombozytenrezeptorfunktion und andere unbekanntere Faktoren die Pharmakodynamik der GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten (33). Aus diesen Gründen, die besonders bei der antithrombozytären Langzeittherapie von Bedeutung sind, ist es wünschenswert, die pharmakodynamische Wirksamkeit der GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonistherapie bei jedem einzelnen Patienten kontinuierlich überwachen zu können und auf diese Weise eine individuelle Dosisanpassung zu ermöglichen, die einen optimalen antithrombogenen Effekt zu Beginn und während der Therapie (Fibrinogenrezeptorblockade durch GPIIb-IIIa-Antagonisten >80%) sicherstellt und gleichzeitig das potentielle Blutungsrisiko beschränkt (Fibrinogenrezeptorblockade durch GPIIb-IIIa-Antagonisten <90%) (33).

Der Grad der GPIIb-IIIa-Rezeptorblockade wird zur Zeit anhand der ADP-induzierten Aggregation im Aggregometer überprüft. Diese Bestimmung eignet sich jedoch nicht als Routinemethode, da sie nur in Speziallabors durchgeführt werden kann. Darüber hinaus wurden Tests entwickelt, die den Thrombozytenrezeptorstatus durch Einsatz von radioaktivmarkierten Antikörpern in plättchenreichem Plasma (PRP) analysieren. Bei der Herstellung des PRP kommt es zur artifiziellen Plättchenaktivierung und Eliminierung von Thrombozytensubpopulationen, wodurch es zu einer Verfälschung des Testergebnisses kommt (96). Coller et al. entwickelten einen „bedside“-Test zur raschen und einfachen Thrombozytenfunktionsdiagnostik, der auf Agglutination der Thrombozyten mit fibrinogenbedeckten Perlen mittels GPIIb-IIIa-Rezeptor basiert (32, 222). Diese Methode wird jedoch dadurch beschränkt, daß die Durchführung nicht standardisiert ist und die Meßergebnisse semiquantitativ sind. Andere Autoren überwachen die Fibrinogenrezeptorantagonistherapie durch Messung der Thrombozytenmikroaggregatbildung im Coulter Counter (189) oder durch Bestimmung der aktivierten Gerinnungszeit mittels Hemostatus Test (28).

In der vorliegenden Arbeit benutzten wir plättchenspezifische, monoklonale Antikörper und die fluoreszeinkonjugierte Form von c7E3, um den Grad der Fibrinogenrezeptorblockade unter Abciximabtherapie bestimmen zu können:

1. Mit Hilfe von anti-CD41 bestimmten wir den GPIIb-IIIa-Rezeptoranteil, der noch zur Fibrinogenbindung zur Verfügung stand.
2. Mit Hilfe von fluoreszeinkonjugiertem c7E3 bestimmten wir den Anteil des GPIIb-IIIa-Rezeptors, der nicht von Abciximab besetzt war.
3. Mit Hilfe von anti-CD61 bestimmten wir die Zahl der auf der Thrombozytenoberfläche exprimierten GPIIIa-Rezeptoren.

Zudem konnten wir mittels durchflußzytometrischer Messungen auch das Verteilungsmuster der Abciximabbindung in der Thrombozytenpopulation beschreiben. Nach Abciximabbehandlung kam es innerhalb des 96-stündigen Beobachtungszeitraumes zu keiner Formveränderung des Immunofluoreszenz-histogramms von anti-CD41 oder fluoreszeinkonjugiertem c7E3. Daraus folgerten wir, daß alle zirkulierenden Thrombozyten während des Beobachtungsintervalls nachweisbare Mengen von Abciximab gebunden hatten.

Die von uns durchflußzytometrisch ermittelten Werte stimmen mit der allmählichen „Abciximab-Equilibrierung“ von den Thrombozyten überein und stehen wahrscheinlich mit der Wiederherstellung der Plättchenfunktion sowie mit dem Langzeiteffekt, den Abciximab hinsichtlich der Vorbeugung ischämischer Komplikationen nach Koronarangioplastie zeigt, in Zusammenhang.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, daß die Durchflußzytometrie eine zuverlässige und einfache Methode zur Therapieüberprüfung der GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten darstellt.

Neuere Studien bestätigen darüber hinaus die Durchflußzytometrie als geeignete Methode zur Durchführung eines sorgfältigen, pharmakologischen Monitorings (96). Darüber hinaus ermöglicht diese Methode eine Differenzierung zwischen abciximabbesetzten Rezeptoren und Rezeptoren, die von anderen synthetischen Rezeptorantagonisten blockiert sind (191), und dient damit auch zur Überwachung von Patienten, die von Abciximab auf einen niedermolekularen (peptidischen bzw. nicht-peptidischen) GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten umgestellt werden.

Peptidische sowie nicht-peptidische Fibrinogenrezeptorantagonisten sind kleine Moleküle mit hoher Bindungsspezifität und niedriger Bindungsaffinität für den GPIIb-IIIa-Rezeptor, deren antithrombozytäre Wirksamkeit konzentrationsabhängig ist (228, 229). Die Stöchiometrie (Verhältnis der Zahl der Rezeptorantagonistenmoleküle zur Zahl der GPIIb-IIIa-Rezeptoren) beträgt mehrere Hundert Moleküle pro GPIIb-IIIa-Rezeptorkomplex (228, 229). Bei einer langen Plasmahalbwertszeit ($\leq 2,5$ Stunden) besitzen diese Substanzen nur eine kurze Wirkdauer am Fibrinogenrezeptor (120). Im Gegensatz dazu ist Abciximab, das neben dem GPIIb-IIIa-Rezeptor auch den Vitronektinrezeptor ($\alpha_V\beta_3$) sowie den MAC-1-Rezeptor bindet (72, 120, 121), ein hochaffiner Antikörper, der eine langanhaltende Fibrinogenrezeptorblockade bewirkt (120, 228).

Im Vergleich zu Abciximab, das noch Tage nach der Anwendung auf der Thrombozytenoberfläche nachgewiesen werden kann (121), zeigen niedermolekulare Substanzen mit einer kurzanhaltenden, thrombozytenaggregationshemmenden Wirkung ($\cong 4$ Stunden) eine verminderte Effizienz der Fibrinogenrezeptorblockade (121, 228). Ein Langzeiteffekt der peptidischen und nicht-

peptidischen Fibrinogenrezeptorantagonisten kann nicht gezeigt werden (228). Vorteilhaft erweisen sich jedoch die pharmakokinetischen und pharmakodynamischen Eigenschaften der niedermolekularen Substanzen hinsichtlich des Sicherheitsprofils. Bei auftretenden Blutungskomplikationen kommt es nach Absetzen der niedermolekularen Fibrinogenrezeptorantagonisten zur Wiederherstellung der Thrombozytenfunktion innerhalb von Stunden (121, 228).

5.3 GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten-induzierte Thrombozytopenie

Patienten, die eine Abciximabtherapie erhalten, leiden vermehrt an hämorrhagischen Komplikationen und haben einen erhöhten Bedarf an Bluttransfusionen (17, 108, 231, 232, 235). Unter Abciximabanwendung konnten leichte und schwere Thrombozytopenien ($<20.000/\mu\text{l}$) beobachtet werden, die ursächlich zu dem erhöhten Blutungsrisiko beitragen (26, 105, 111).

Beim Studium der in den letzten Jahren über dieses Thema veröffentlichten Publikationen zeigt sich, daß abciximabinduzierte Thrombozytopenien ($<100.000/\mu\text{l}$) bei 4%–8% der Patienten 2 bis 31 Stunden nach Abciximabgabe auftreten (73, 118, 141, 229). Besonders schwere Thrombozytopenien (<20.000 Blutplättchen/ μl), die in bis zu 0,7% der Fälle auftreten, stellen ein erhöhtes Blutungsrisiko, insbesondere der Einstichstelle der arteriellen Schleuse und selten des Zentralnervensystems, dar und sind für die Patienten potentiell lebensbedrohlich (201). Die Entwicklung einer Thrombozytopenie ist derzeit nicht voraussehbar. Blutungskomplikationen werden mit Plättchentransfusionen behandelt, die innerhalb von 24 Stunden zum Anstieg der Thrombozytenzahl führen. Unabhängig davon beobachtet man bei allen Patienten innerhalb von 12 Tagen nach Absetzen der Abciximabmedikation eine Erholung der Thrombozytenzahl auf Werte $>100.000/\mu\text{l}$ (107).

Wichtigste Differentialdiagnose der GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten-induzierten Thrombozytopenie ist die Pseudothrombozytopenie in EDTA-Blut durch Bildung von Plättchenaggregaten, die im Zusammenhang mit der Abciximabgabe beschrieben wurde (26, 160, 201, 225). Zum Ausschluß der Pseudothrombozytopenie wird die Bestimmung der Thrombozytenzahl in Zitratblut wiederholt (6). Da Abciximab häufig in Kombination mit Heparin verabreicht wird, ist zudem auch eine heparininduzierte Thrombozytopenie differentialdiagnostisch zu berücksichtigen (38, 88). Die Unterscheidung zwischen abciximabinduzierter und heparininduzierter Thrombozytopenie ist ausschlaggebend für das weitere Vorgehen. Bei GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten-induzierter Thrombozytopenie verhindern Plättchentransfusionen größere Blutungskomplikationen. Im Gegensatz dazu sind sie bei

heparininduzierter Thrombozytopenie kontraindiziert, da sie zu thrombotischen Komplikationen führen (38).

Das Blutungsrisiko bei abciximabinduzierter Thrombozytopenie kann, wie die EPILOG-Studie zeigt, durch Reduktion der begleitenden Heparintherapie (70 IE/kg Körpergewicht an Stelle von 100 IE/kg Körpergewicht) und frühzeitiges Ziehen der arteriellen Schleuse erheblich gesenkt werden. Das erhöhte Risiko für eine Zentralnervensystemblutung bleibt hierdurch aber unbeeinflusst (233).

Die Entwicklung einer Thrombozytopenie stellt somit einen schwerwiegenden Nebeneffekt der Abciximabtherapie dar. Die Erforschung des pathophysiologischen Mechanismus ist daher von höchster klinischer Bedeutung.

In der vorliegenden Arbeit konnten wir zeigen, daß die Abciximabgabe bei Patienten mit koronarer Stentimplantation zu einer vermehrten LIBS-1-Oberflächenexpression führt (Abb. 21, Abb. 22), die gleichzeitig mit einem Abfall der Thrombozytenzahl im peripheren Blut einher geht (Abb. 28, Abb. 29). Wir konnten eine inverse Korrelation zwischen vermehrter LIBS-1-Oberflächenexpression und verminderter Thrombozytenzahl herstellen (Abb. 30), die uns einen pathophysiologischen Zusammenhang dieser beiden Parameter vermuten ließ.

Die abciximabinduzierte, komplexe Konformationsänderung und LIBS-Oberflächenexpression von Glykoprotein IIb-IIIa führt zur Exposition kryptischer Bestandteile des Fibrinogenrezeptors, die möglicherweise eine Autoimmunantwort auslösen (Immunthrombozytopenie vom Autoimmuntyp) oder ein Antigen für bereits vorbestehende Antikörper darstellen (Immunthrombozytopenie vom Immunkomplextyp) (27, 104, 141).

Bednar et al. konnten mittels durchflußzytometrischer Messungen zeigen, daß im Plasma einzelner gesunder Patienten bereits vorbestehende Antikörper vorhanden sind, die konformationsabhängige Epitope des GPIIb-IIIa (z.B. LIBS) erkennen (7). Diese Antikörper binden an die abciximabinduzierten Neoantigene (z.B. LIBS). Nachfolgend kommt es zur Komplementaktivierung und zur Zerstörung zirkulierender Thrombozyten (73).

Als weiterer möglicher, ursächlicher Mechanismus der Thrombozytopenie wird die intrinsische Aktivität der GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten diskutiert (182).

Peter et al. konnten in wegweisenden Arbeiten zeigen, daß Abciximab durch Bindung an den ruhenden, nicht aktivierten GPIIb-IIIa-Komplex eine Konformationsänderung des Rezeptors bewirkt. Es kommt zur Induktion eines hochaffinen, proaggregatorischen Funktionszustandes des Fibrinogenrezeptors (181). Darüber hinaus führt die Ligandenbindung an GPIIb-IIIa zu einer Reihe

von intrazellulären Signaltransduktionskaskaden, die eine Reorganisation des Zytoskeletts, eine fokale Rezeptoranreicherung („Clustering“), eine Erhöhung des intrazellulären Ca^{++} -Spiegels und pH-Wertes, eine Hydrolyse der Membranlipide und die Aktivierung der intrazellulären Tyrosinkinase sowie der Proteinkinase C bedingen (82, 187, 215, 216). Die integrinvermittelte Signaltransduktion bewirkt zudem eine weitere Thrombozytenaktivierung mit einer gesteigerten P-Selektinfreisetzung aus den α -Granula (146, 182, 206).

Dissoziiert nun das c7E3-Molekül, befindet sich der Glykoprotein IIB-IIIa-Komplex in einem unblockierten, aktivierten Zustand, der die Fibrinogenbindung ermöglicht (181). Nachfolgend kommt es zur Bildung von abciximabinduzierten Plättchenaggregaten und zur Entwicklung einer Thrombozytopenie (181). Der beschriebene proaggregatorische Effekt konnte jedoch nur bei geringer Abciximabkonzentration beobachtet werden (181, 146).

Darüber hinaus wird eine proatherogene Wirkung von Abciximab diskutiert. Durch die unter Abciximabgabe gesteigerte Freisetzung des „platelet derived growth factor“ (PDGF) und des „transforming growth factor β “ aus den α -Granula kommt es zur Proliferation glatter Muskelzellen und Intimabildung (206).

Neben der vermehrten LIBS-1-Oberflächenexpression konnten wir in dieser Arbeit auch eine gesteigerte P-Selektinfreisetzung aus den α -Granula und eine vermehrte GPIIIa-Oberflächenexpression durch Freisetzung aus den intrazellulären Speichern (Anstieg der anti-CD61-Immunofluoreszenzintensität) beschreiben, was die Vermutung der Thrombozytenaktivierung und Induktion eines hochaffinen, proaggregatorischen Funktionszustandes durch die Abciximabtherapie mit nachfolgender Thrombozytopenie weiter untermauert.

5.4 Polymorphismen der thrombozytären Glykoproteine und Pharmakogenetik

Plättchenmembranglykoproteine sind hochgradig polymorph (169, 174) und an der Entwicklung der Posttransfusionspurpura und der neonatalen alloimmunologischen thrombozytopenischen Purpura (150) beteiligt.

Mehrere, aktuelle Studien identifizierten einen Polymorphismus des GPIIIa (HPA-1b, $\text{Pl}^{\text{A}2}$) als Risikofaktor für die Entstehung koronarer Erkrankungen und die Entwicklung eines Myokardinfarkts (25, 53, 54, 83, 250, 254). So zeigten Goldschmidt-Clermont et al., daß die Prävalenz des HPA-1b ($\text{Pl}^{\text{A}2}$)-Allels bei Patienten mit instabiler Angina und Myokardinfarkt doppelt so hoch (39%) war wie in der Kontrollgruppe (20%) (83). Die Studienergebnisse

sind jedoch nicht einheitlich, zumal einige Publikationen einen Zusammenhang zwischen dem HPA-1b (PI^{A2})-Polymorphismus und dem instabilen ischämischen Koronarsyndrom verneinen (19, 41, 54, 56, 95, 106, 192, 200, 204, 223). Eine mögliche Ursache für die widersprüchlichen Ergebnisse liegt in der Verwendung eines antithrombozytären Therapieschemas in einigen, jedoch nicht in allen Studien, welches eine unterschiedliche Wirksamkeit bei den verschiedenen HPA-1 (PI^A)-Genotypen zeigt (83).

Darüber hinaus konnten neuere Untersuchungen einen Einfluß des HPA-1 (PI^A)-Polymorphismus auf die Restenoserate nach koronarer Stentimplantation belegen (109, 110, 143). Kastrati et al. zeigten, daß HPA-1b (PI^{A2})-positive Patienten 6 Monate nach Durchführung einer erfolgreichen Stentimplantation eine signifikant höhere Restenoserate im Stentbereich verglichen mit HPA-1b (PI^{A2})-negativen Patienten aufweisen (47% versus 38%, P=0.009) (109, 110).

Die mögliche Assoziation zwischen dem HPA-1b (PI^{A2})-Phänotyp und dem akuten Koronarsyndrom bzw. der erhöhten Restenoserate nach koronarer Stentimplantation werteten wir als einen Hinweis darauf, daß der polymorphismusbedingte Austausch einer einzigen Aminosäure im entsprechenden thrombozytären Glykoprotein, der nach Kunicki et al. die Bildung multipler Neoantigene innerhalb des Rezeptors induziert (127), den Funktionszustand thrombozytärer Membranrezeptoren bei Patienten mit koronarer Stentimplantation beeinflusst.

Die kürzlich durchgeführte Framingham Offspring Studie zeigte einen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein des HPA-1b (PI^{A2})-Allels und einer erhöhten Epinephrin- bzw. ADP-induzierten in vitro Thrombozytenaggregabilität (47). Die von Michelson et al. (158) und Goodall et al. (85) durchgeführten in vitro Studien bestätigten die „Hyperreaktivität“ HPA-1b (PI^{A2})-positiver Thrombozyten. Verglichen mit (PI^{A1}, PI^{A1})-Thrombozyten zeigten (PI^{A2})-positive Thrombozyten eine vermehrte Fibrinogenbindung im ruhenden und aktivierten Zustand (85, 158) sowie eine verstärkte Degranulation und P-Selektin-Oberflächenexpression bei Stimulation mit ADP (158). Darüber hinaus konnten Vijayan et al. nachweisen, daß HPA-1b (PI^{A2})-positive Thrombozyten, im Vergleich zu HPA-1b (PI^{A2})-negativen Thrombozyten, eine verstärkte Adhäsion an immobilisiertes Fibrinogen zeigen und nachfolgend durch polymorphismusbedingte Unterschiede der Signaltransduktionskaskade eine verstärkte Formveränderung, eine erhöhte F-Aktin-Filamentbildung und eine Zunahme der Tyrosinphosphorylierung erfahren. Thromben, die aus HPA-1b (PI^{A2})-positiven Blutplättchen bestehen, unterliegen einer signifikant stärkeren Retraktion, ein Vorgang, der ebenfalls von der transmembranen Signaltransduktion abhängig ist, und zeigen eine erhöhte Resistenz gegenüber der Thrombolyse (246). Diese Ergebnisse untermauerten weiter unsere Vermutung, daß der HPA-1 (PI^A)-Polymorphismus die Rezeptorfunktion und die intrazelluläre Signaltransduktion beeinflusst.

Die Ergebnisse der in vitro Studien hinsichtlich der funktionellen Rolle der thrombozytären Polymorphismen sind jedoch nicht einheitlich. Einige Studien sehen keinen Zusammenhang zwischen dem HPA-1b (PI^{A2})-Polymorphismus und dem Funktionszustand der Thrombozytenrezeptoren (12, 37, 152) bzw. beschreiben eine Hypoaggregabilität der HPA-1b (PI^{A2})-positiven Thrombozyten (3, 129). Zusätzlich fanden Senti et al. eine signifikant niedrigere Plasmafibrinogenkonzentration bei Patienten, die Träger des HPA-1b (PI^{A2})-Allels sind, verglichen mit der Kontrollgruppe (212).

Eine Ursache für diese kontroversen Studienergebnisse besteht sicherlich in der hohen Variabilität der Methoden für Thrombozytenfunktionsdiagnostik (21).

In der vorliegenden Arbeit konnten wir folgende polymorphismus-spezifische Unterschiede hinsichtlich der Oberflächenexpression und des Funktionszustandes der thrombozytären Membranrezeptoren bei Patienten mit koronarer Stentimplantation vor Gabe der Studienmedikation feststellen:

1. HPA-1b (PI^{A2})-positive Patienten zeigten im Vergleich zu HPA-1b (PI^{A2})-negativen Patienten eine signifikant verringerte Glykoprotein IIIa-Oberflächenexpression (anti-CD61-Bindung) (Tab. 15).
2. Bei HPA-2b (Ko^b)-positiven Patienten bestand im Vergleich zu HPA-2b (Ko^b)-negativen Patienten eine signifikant erhöhte Oberflächenexpression von Glykoprotein Ib (anti-CD42b-Bindung) (Tab. 16) sowie eine verstärkte Glykoprotein IIIa-Oberflächenexpression (anti-CD61-Bindung) (Tab. 16).
3. Die P-Selektin-Freisetzung (anti-CD62P-Bindung) sowie die Expression von rezeptorinduzierten Bindungsstellen auf zirkulierenden Thrombozyten waren bei Vorhandensein des HPA-3b-Allels signifikant erhöht (Tab. 17).

In dieser Arbeit konnten wir die von Michelson et al. (185) und Goodall et al. (85) beschriebene „Hyperreaktivität“ (PI^{A2})-positiver Thrombozyten nicht bestätigen.

Weiter vermuteten wir, daß die thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (PI^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak) möglicherweise die Wirksamkeit der adjuvanten, antithrombozytären Therapie bei Patienten mit koronarer Stentimplantation beeinflussen.

Goldschmidt-Clermont et al. konnten nachweisen, daß der antiaggregatorische Effekt von Acetylsalicylsäure bei HPA-1b (PI^{A2})-positiven Thrombozyten im Vergleich zu HPA-1b (PI^{A2})-negativen Thrombozyten signifikant stärker ausgeprägt ist. Bei Acetylsalicylsäurekonzentrationen von 0.1 µM bis 10 µM wurde die Epinephrin-induzierte Aggregation HPA-1b (PI^{A2})-positiver Thrombozyten um ≥ 50% gehemmt; demgegenüber wurde die Aggregation HPA-1b (PI^{A2})-negativer Thrombozyten nur um < 10% gehemmt (83). Als ursächlicher Mechanismus wird eine verminderte antiaggregatorische Wirkung der Thromboxansynthesehemmung durch Acetylsalicylsäure bei HPA-1b (PI^{A2})-

negativen Thrombozyten diskutiert. In vitro Studien von Michelson et al. und Andrioli et al. bestätigten die erhöhte „Acetylsalicylsäuresensitivität“ HPA-1b (PI^{A2})-positiver Thrombozyten (3, 158). Das durch die erhöhte Fibrinogenbindungsaffinität und Hyperaggregabilität HPA-1b (PI^{A2})-positiver Thrombozyten bedingte Risiko für die Entstehung koronarer Erkrankungen wird somit durch den stark ausgeprägten, antiaggregatorischen Effekt von Acetylsalicylsäure bei HPA-1b (PI^{A2})-positiven Thrombozyten limitiert (83).

Demgegenüber zeigt sich die antiaggregatorische Wirkung von Clopidogrel unabhängig von der Allelausprägung des HPA-1 (PI^A)-Polymorphismus. HPA-1b (PI^{A2})-negative Patienten (60% bis 70% der Patienten) scheinen somit von einer antithrombozytären Therapie mit Clopidogrel anstelle von Aspirin zu profitieren (83).

Die Interaktion der GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten mit dem thrombozytären Fibrinogenrezeptor ist abhängig von der spezifischen Konformation des GPIIb-IIIa-Komplexes. Phillips et al. zeigten, daß die Bindung von Integrelin an den Fibrinogenrezeptor unter Calciumchelatabildung signifikant verringert ist (185). Hieraus schlossen wir, daß die thrombozytären Polymorphismen durch Änderung der antigenen Struktur des GPIIb-IIIa-Rezeptors (127) möglicherweise die Abciximab-Fibrinogenrezeptorinteraktion beeinflussen. So konnten Michelson et al. durch eine in vitro Studie nachweisen, daß bei Zugabe von Abciximab die Epinephrin-induzierte Aggregation von (PI^{A1,A2})-Thrombozyten im Vergleich zu (PI^{A1,A1})-Thrombozyten signifikant stärker gehemmt wird (158).

In der vorliegenden Arbeit verwendeten wir plättchenspezifische monoklonale Antikörper und die fluoreszeinkonjugierte Form von c7E3, um den Funktions- und Konformationszustand der Thrombozytenmembranglykoproteine sowie die Fibrinogenrezeptorblockade unter Abciximabgabe in Abhängigkeit von der Allelausprägung der thrombozytären Polymorphismen HPA-1 (PI^A), HPA-2 (Ko) und HPA-3 (Bak) beurteilen zu können.

Während des Beobachtungszeitraumes zeigten HPA-1b (PI^{A2})-positive Patienten im Vergleich zu HPA-1b (PI^{A2})-negativen Patienten sowohl unter Abciximabgabe als auch unter Heparinabgabe eine signifikant verringerte Glykoprotein IIIa-Oberflächenexpression (anti-CD61-Bindung) (Tab. 27). In der Studiengruppe blieb nach Abciximabinfusion die Glykoprotein IIIa-Oberflächenexpression (anti-CD61-Bindung) bei den HPA-1b (PI^{A2})-positiven Patienten unverändert, während es bei den HPA-1b (PI^{A2})-negativen Patienten zu einem signifikanten Anstieg der Glykoprotein IIIa-Oberflächenexpression (anti-CD61-Bindung) gegenüber dem Ausgangsniveau kam (Tab. 27).

Hinsichtlich des Funktions- und Konformationszustandes der Thrombozytenmembranglykoproteine sowie der Fibrinogenrezeptorblockade unter Abciximabgabe konnten wir in dieser Arbeit keine polymorphismusspezifischen Unterschiede feststellen und bestätigten somit die von Michelson beschriebene

erhöhte „Abciximabsensitivität“ HPA-1b (P1^{A2})-positiver Thrombozyten (158) nicht.

5.5 Studienbeschränkungen

1. Die Erforschung der Thrombozytenfunktion unterliegt natürlicherweise auch Beschränkungen, die im Folgenden aufgeführt werden:

a) Es besteht ein potentiell Risiko, Thrombozyten bei der Gewinnung oder Verarbeitung der Blutproben zu aktivieren (154). Um fehlerhafte Ergebnisse möglichst zu vermeiden, erfolgte die Blutabnahme und die Verarbeitung der Proben nach einem standardisierten Protokoll. Die Blutzellen wurden bei Abnahme sofort mit Hilfe von CyfixII fixiert, um auf diese Weise ihren in vivo Funktionszustand reproduzieren zu können (45, 75, 197, 198). Außerdem wurden die Proben innerhalb kürzester Zeit verarbeitet und analysiert.

b) Die durchflußzytometrische Messung erlaubt nur die Beurteilung des Aktivierungszustandes noch zirkulierender Thrombozyten; über bereits sequestrierte Thrombozyten kann keine Aussage gemacht werden. Aus diesem Grund ist es möglich, daß wir die Aktivierung der Thrombozyten zu niedrig bewertet haben, was besonders bei den drei Patienten mit schwerer Thrombozytopenie der Fall gewesen sein könnte.

c) Kürzlich fanden Kereiakes et al., daß bei hoher Thrombozytenzahl im plättchenreichem Plasma (>350 K/ μ L) die gemessene Hemmung der Plättchenaggregation durch Abciximab vermindert ist (119). Somit bleibt zu diskutieren, ob unterschiedliche Thrombozytenzahlen die durchflußzytometrisch ermittelten Meßwerte in der Abciximabgruppe unserer Studie signifikant beeinflußt haben.

d) Die Patienten der Studien- und Kontrollgruppe waren hinsichtlich demographischer (Tab. 4) und angiographischer Daten (Tab. 5) vergleichbar und die Patientenzahl beider Gruppen war groß genug, um die Auswirkung von zwei verschiedenen Therapieplänen auf die Thrombozytenfunktion untersuchen zu können.

Trotz der beschriebenen Beschränkungen stellt die Durchflußzytometrie heute eine der geeignetsten Methoden zur Beschreibung des ex vivo Funktionszustandes thrombozytärer Membranglykoproteine dar (61, 62, 65, 173, 211, 243).

2. Der endgültige Beweis, daß die vermehrte LIBS-1-Oberflächenexpression, die unter Abciximabgabe auftrat, pathophysiologische Konsequenzen wie die Thrombozytopenie für die behandelten Patienten zur Folge hat, konnte in der vorliegenden Arbeit nicht erbracht werden .

McQueney und seine Kollegen fanden, daß GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten unterschiedliche Neoepitope auf dem Fibrinogenrezeptor induzieren und nur bestimmte GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten zu einer LIBS-Oberflächenexpression führen (151).

Vergleichende Studien mit verschiedenen GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten könnten somit klärend dazu beitragen, ob die vermehrte LIBS-1-Induktion und die Thrombozytopenie unter Rezeptorantagonistengabe assoziiert sind.

3. HPA-1b (PI^{A2})-positive Thrombozyten zeigen verglichen mit HPA-1b (PI^{A2})-negativen Thrombozyten eine vermehrte Fibrinogenbindung im ruhenden und aktivierten Zustand (85, 158) sowie eine verstärkte Degranulation und P-Selektin-Oberflächenexpression bei Stimulation mit ADP (158). Darüber hinaus besitzen Acetylsalicylsäure und Abciximab eine signifikant erhöhte antiaggregatorische Wirkung bei HPA-1b (PI^{A2})-positiven Thrombozyten im Vergleich zu HPA-1b (PI^{A2})-negativen Thrombozyten (3, 83, 158).

Dies verleitete uns zu der Vermutung, daß Plättchenmembranglykoproteinpolymorphismen den GPIIb-IIIa-Rezeptorfunktionszustand unter Abciximabgabe und die Effizienz der GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonistentherapie bei Patienten mit koronarer Stentimplantation beeinflussen könnten.

In der vorliegenden Studie stellten wir jedoch keine polymorphismuspezifisch Änderung der Thrombozytenfunktion und der Fibrinogenrezeptorblockade unter Abciximabtherapie fest. Zur Klärung eines möglichen Zusammenhangs zwischen thrombozytären Polymorphismen und Plättchenfunktion bedarf jedoch sicherlich Studien mit deutlich größerem Patientenkollektiv.

5.6 Therapeutischer Ausblick

Die Entdeckung, daß Abciximab zur LIBS-1-Oberflächenexpression und Induktion proaggregatorischer Effekte mit nachfolgender Thrombozytopenie führt (181), mag für die zukünftige Entwicklung neuer GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten von großer Bedeutung sein. Peter et al. konnten nachweisen, daß die GPIIb-IIIa-Antagonisten Abciximab, Flavoridin und Fradafiban, die an den ruhenden Fibrinogenrezeptor binden und durch die intrinsische Aktivität zur LIBS-Induktion und Verstärkung wesentlicher Aktivierungsschritte der Blut-

plättchen führen, den GPIIb-IIIa-Rezeptor nahe der Fibrinogenbindungstasche blockieren. Demgegenüber binden die monoklonalen Antikörper 2G12 und P2, die bei der Fibrinogenrezeptorblockade keine Konformationsänderung des Rezeptors bedingen, an Epitope, die außerhalb der Fibrinogenbindungstasche liegen (181).

Honda et al. zeigten, daß GPIIb-IIIa-Antagonisten in zwei Gruppen eingeteilt werden können. Rezeptorantagonisten der Gruppe I führen zur LIBS-Induktion auf der β_3 -Untereinheit des Fibrinogenrezeptors, während Rezeptorantagonisten der Gruppe II keine LIBS-Konformation der β_3 -Untereinheit bewirken (100). Die β_3 -LIBS-Oberflächenexpression induziert via transmembraner Signaltransduktion einen intrazellulären Ca^{++} -Anstieg und die Thromboxansynthese (164). Thromboxan A_2 wirkt vasokonstriktorisch und fördert die Aktivierung und Aggregation der Thrombozyten. Obgleich die LIBS-Induktion auf der β_3 -Untereinheit und die nachfolgende Stimulation der Thromboxansynthese nur bei sehr hohen Konzentrationen von Gruppe I-Antagonisten beobachtet wird, kann eine ungünstige Nebenwirkung dieser Substanzen nicht ausgeschlossen werden.

Diese Erkenntnisse tragen möglicherweise wegweisend zur Entwicklung neuer Verbindungen mit geringerer LIBS-induzierender Aktivität und höherem Sicherheitsprofil bei. Darüber hinaus ist sicherlich der klinische Einsatz aktivierungsabhängiger GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten, die wie der monoklonale Antikörper PAC-1 nicht an den ruhenden Fibrinogenrezeptor binden und somit keine intrinsische Aktivität besitzen (213, 227), von großem Interesse.

Neben der antiaggregatorischen Wirkung hat Abciximab auch wünschenswerte biologische Effekte auf die Gefäßwandzellen (Endothelzellen und glatte Muskelzellen) (34). Dieser Nebeneffekt wird durch die Abciximab-Vitronektinrezeptor ($\alpha_v\beta_3$)-Interaktion vermittelt. Die β_3 -Untereinheit des Rezeptors ist identisch mit GPIIIa und die α_v -Untereinheit entspricht weitgehend GPIIb (46). Der Vitronektinrezeptor wird auf Thrombozyten, Endothelzellen, glatten Muskelzellen und anderen Zelltypen exprimiert und ist an Mechanismen der Angiogenese, Apoptose und Proliferation beteiligt (34). Im Tiermodell verhindert die Blockade des $\alpha_v\beta_3$ -Rezeptors die intimale Hyperplasie nach Gefäßverletzung (31). Die Intimahyperplasie spielt bei der Entwicklung einer Restenose - ein komplexes Phänomen, das meist innerhalb von sechs Monaten nach Koronarintervention auftritt - eine wesentliche Rolle. Analog zu den am Tiermodell gewonnenen Ergebnissen belegte die EPIC-Studie eine signifikante Reduktion der klinischen Restenosen innerhalb von sechs Monaten nach PTCA durch Abciximabtherapie (232). Dies konnte jedoch durch die Nachfolgestudie EPILOG nicht bestätigt werden (233). Ein Grund dafür mag darin liegen, daß es in beiden Studien nur zur kurzfristigen Abciximabanwendung kam. Dies führte zwar zu einer signifikanten Reduktion akuter kardialer Ereignisse; die Rate der Restenosen, deren Entwicklung sich über einen längeren Zeitabschnitt (mehrere

Monate) erstreckt, blieb von der Abciximabtherapie jedoch weitgehend unbeeinflusst.

Somit stellt sich die interessante Frage, ob eine Langzeitanwendung von oralen GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten nach PTCA und Stentimplantation die intimale Hyperplasie und die Entwicklung einer Restenose verhindern kann. Aktuelle Untersuchungen scheinen diese Vermutung zu bestätigen. In der ORBIT-Studie kam es unter 28-tägiger Therapie mit Xemilofiban (20 mg) während der 90-tägigen Beobachtungsperiode zu einer signifikanten Reduktion klinischer Folgeereignisse (Tod, Myokardinfarkt, dringliche Revaskularisation, Apoplex), verglichen mit der Placebogruppe (113). Die jüngsten Ergebnisse der EXCITE-Studie lassen jedoch erkennen, daß der chronische Einsatz von GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten hinsichtlich der Nebenwirkungsrate (insbesondere erhöhtes Blutungsrisiko) nicht unproblematisch ist. Es bleibt nachfolgenden Studien vorbehalten, die noch bestehenden Fragen bezüglich der optimalen Dosierung, der optimalen Therapiedauer und –überwachung von oralen GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten, sowie Fragen hinsichtlich des idealen pharmakodynamischen Anwendungsschemas zu beantworten, um bestmögliche klinische Therapieergebnisse bei guter Toleranz zu erreichen (115).

Darüber hinaus wird eine zukünftige klinische Herausforderung darin bestehen, durch Kombination von antithrombozytären Substanzen, die verschiedene Mechanismen der Thrombozytenaktivierung beeinflussen, die Thrombusbildung effizienter zu hemmen. So könnte in Zukunft der kombinierte Einsatz von oralen GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten, Acetylsalicylsäure und Clopidogrel bei besonders gefährdeten Patienten eine sinnvolle anti-thrombotische Therapie bei koronarer Herzkrankheit darstellen. Inwieweit durch den Synergismus die Dosierung der einzelnen antithrombozytären Substanzen herabgesetzt werden kann und dadurch ein höheres Sicherheitsprofil der Behandlung erreicht werden kann, ist durch klinische Untersuchungen zu zeigen (72).

Eine neue vielversprechende Strategie zur Optimierung der antithrombozytären Therapie wird jedoch sicherlich auch darin liegen, therapeutische Entscheidungen nicht nur auf Grund traditioneller Beurteilungskriterien zu treffen, sondern auch genomische Informationen der Patienten zu berücksichtigen. Zukünftigen Studien ist es vorbehalten, eine Gruppe von thrombozytären Polymorphismen zu identifizieren, die die individuelle Charakterisierung des genomischen Risikos für die Entstehung koronarer Erkrankungen und thromboembolischer Komplikationen sowie die individuelle Therapieplanung ermöglichen (83).

6. Zusammenfassung

Thrombozytäre Membranrezeptoren spielen eine zentrale Rolle bei der Thrombozytenaggregation und sind ursächlich an der Entstehung ischämischer Komplikationen nach PTCA und koronarer Stentimplantation beteiligt. Durch den Einsatz von GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten konnte eine signifikante Reduktion der postinterventionellen akuten Ereignisrate verzeichnet werden. Als gravierender Nachteil dieser Therapie erweist sich jedoch in seltenen Fällen das Auftreten einer schweren Thrombozytopenie, die mit einem erhöhten Blutungsrisiko einhergeht.

Im Rahmen dieser Dissertation wurde die Thrombozytenfunktion bei Patienten mit symptomatischer ischämischer Herzkrankheit, die eine PTCA mit Stentimplantation erhielten und mit dem GPIIb-IIIa-Rezeptorantagonisten Abciximab (n=20 Patienten) bzw. mit Heparin (n=23 Patienten) behandelt wurden, vergleichend untersucht. Mittels immunologischer, durchflußzytometrischer Verfahren konnten Veränderungen der thrombozytären Membranrezeptoren und das Maß der GPIIb-IIIa-Rezeptorblockade im Verlauf der Abciximab- bzw. Heparintherapie bestimmt werden.

Unter Abciximabtherapie kam es zu einer signifikanten Reduktion des GPIIb-IIIa-Rezeptoranteils, der noch für die Fibrinogenbindung zur Verfügung steht (signifikanter Abfall der relativen mittleren Intensität von c7E3 bzw. von anti-CD41 unter den Ausgangswert innerhalb von 12 Stunden). Gleichzeitig führte die Abciximabgabe zur Thrombozytenaktivierung mit einer vermehrten LIBS-1-Oberflächenexpression, einer gesteigerten P-Selektin-Freisetzung aus den α -Granula und einer vermehrten GPIIIa-Rezeptoroberflächenexpression (signifikanter Anstieg der mittleren Intensität von anti-CD61 gegenüber dem Ausgangsniveau innerhalb von 48 Stunden). Es gelang uns eine inverse Korrelation zwischen vermehrter LIBS-1-Oberflächenexpression und verminderter Thrombozytenzahl herzustellen. Unter Heparintherapie konnten wir keine signifikanten Veränderungen der thrombozytären Membranrezeptoren nachweisen.

Die hier vorliegenden experimentellen Ergebnisse geben keinen Hinweis auf polymorphismusspezifischen Unterschiede hinsichtlich der Thrombozytenfunktion und der Fibrinogenrezeptorblockade unter Abciximabtherapie.

Der in dieser Arbeit durchgeführte Vergleich zweier verschiedener, medikamentöser, peri- und postinterventionell angewandter Therapiemethoden zeigte, daß eine antithrombozytäre Therapie mit Abciximab, im Gegensatz zur herkömmlichen Antikoagulation mit Heparin, zu einer raschen GPIIb-IIIa-

Rezeptorblockade führt. Damit wird es möglich das „Tiklopidinfenster“ der antithrombozytären Therapie zu schließen und kardiale Ereignisse nach Stentimplantation weiter zu reduzieren. Dies könnte vor allem Hochrisikopatienten (z.B. Patienten mit akutem Myokardinfarkt) zugute kommen.

Die unter Abciximabtherapie beobachteten Veränderungen des Funktionszustandes der Glykoproteine und der adhäsiven Eigenschaften der Thrombozyten bedingen möglicherweise die nachfolgende Entwicklung einer Thrombozytopenie. Im Hinblick auf ein wünschenswert höheres pharmakologisches Sicherheitsprofil, ist es sicherlich interessant, weiter an der Entwicklung neuer Verbindungen mit geringerer LIBS-induzierender Aktivität zu arbeiten.

7. Anhang

7.1 Abkürzungsverzeichnis

| | |
|------------------|--|
| AA | Arachidonsäure |
| Abb. | Abbildung |
| ADP | Adenosindiphosphat |
| Ala | Alanin |
| Asp | Asparaginsäure |
| ASRA | allelspezifische Restriktionsenzymanalyse |
| ASS | Azetylsalizylsäure |
| ATP | Adenosintriphosphat |
| Ca ⁺⁺ | Kalzium |
| CABG | coronary artery bypass graft |
| CAPTURE | chimeric 7E3 antiplatelet therapy in unstable angina refractory to standard treatment |
| CLASSICS | clopidogrel aspirin stent international cooperative study |
| CD | cell determent |
| Col | Kollagen |
| DNS | Desoxyribonukleinsäure |
| DTS | dense tubular system |
| EDTA | ethylene diamine tetraacetic acid |
| EPIC | evaluation of IIb-IIIa platelet receptor antagonist 7E3 in preventing ischemic complications |
| EPILOG | evaluation of PTCA to improve long term outcome by c7E3 GPIIb-IIIa receptor blockade |
| EPISTENT | evaluation of platelet IIb/IIIa inhibitor for stenting |
| ERASER | evaluation of ReoPro and stenting to eliminate restenosis |
| Fa. | Firma |
| FACS | fluorescent activated cell sorter |
| Fg | Fibrinogen |
| FITC | Fluorescein-Isothiocyanat |
| Fn | Fibronektin |
| GP | Glykoprotein |
| Gln | Glutamin |
| Gly | Glycin |
| HPA | human platelet antigen |
| IE | Internationale Einheiten |
| Ig | Immunglobulin |
| Ile | Isoleucin |
| IMPACT | integrelin to manage platelet aggregation to combat thrombosis |
| ISAR | intracoronary stenting and antithrombotic regimen |
| i.v. | intravenös |
| KQAGDV | Lysin-Glutamin-Alanin-Glycin-Asparaginsäure-Valin |
| KGD | Lysin-Glycin-Asparaginsäure |
| LAD | left anterior descending coronary artery |
| Lam | Laminin |
| LCx | left circumflex coronary artery |
| Leu | Leucin |

| | |
|------------------|---|
| LIBS | ligandeninduzierte Bindungsstellen |
| Lys | Lysin |
| Met | Methionin |
| Mg ⁺⁺ | Magnesium |
| NAITP | neonatale alloimmunologische thrombozytopenische Purpura |
| neg. | negativ |
| ORBIT | oral glycoprotein IIb-IIIa receptor blockade to inhibit thrombosis |
| PARAGON | platelet IIb-IIIa antagonist for the reduction of acute coronary syndrome events in a global organization network |
| PBS | phosphate-buffered saline |
| PCR | polymerase chain reaction |
| PDGF | platelet derived growth factor |
| PE | Phytoerythrin |
| PFA | Paraformaldehyd |
| p.o. | per os; oral |
| pos. | positiv |
| PRISM | platelet receptor inhibition for ischemic syndrome management |
| PRISM PLUS | platelet receptor inhibition for ischemic syndrome management plus |
| Pro | Prolin |
| PRP | platelet rich plasma |
| PTCA | perkutane transluminale Koronarangioplastie |
| PTP | Posttransfusionspurpura |
| PTT | partielle Thromboplastinzeit |
| PURSUIT | platelet IIb-IIIa underpriming the receptor for suppression of unstable ischemia |
| RAPPORT | ReoPro in acute myocardial infarction and primary PTCA organization and randomized trial |
| RCA | right coronary artery |
| RESTORE | randomized efficacy study of tirofiban for outcomes and restenosis |
| RGD | Arginin-Glycin-Asparaginsäure |
| RIBS | rezeptorinduzierte Bindungsstellen |
| SCCS | surface connecting system |
| SD | standard deviation; Standardabweichung |
| Ser | Serotonin |
| Tab. | Tabelle |
| TARGET | do tirofiban and abciximab for revascularisation give equivalent outcomes trial? |
| Thr | Threonin |
| TIMI | thrombolysis in myocardial infarction |
| TxA ₂ | Thromboxan A ₂ |
| UV | ultraviolett |
| Val | Valin |
| VNTR | variable number of tandem repeats |
| vs | versus |
| vWF | von-Willebrand-Faktor |

7.2 Literaturverzeichnis

1. Abrams CS, Shattil SJ. Immunological detection of activated platelets in clinical disorders. *Thromb Haemost* 1991; 65: 467-473.
2. Adgey AA. An overview of the results of clinical trials with glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. *Am Heart J* 1998; 135: 43-55.
3. Andrioli G, Minuz P, Solero P, Pincelli S, Ortolani R, Lussignoli S, Bellavite P. Defective platelet response to arachidonic acid and thromboxane A₂ in subjects with P1^{A2} polymorphism of β_3 subunit. *Br J Haematol* 2000;110:911-918.
4. Aster RH. The immunologic thrombocytopenias. In: Kunicki TJ, George JN (eds.). *Platelet Immunobiology*. Philadelphia, JB Lippincott 1989: 387-435.
5. Barry OP, Pratico D, Lawson JA, Fitzgerald GA. Transcellular activation of platelets and endothelial cells by bioactive lipids in platelet microparticles. *J Clin Invest* 1997; 99: 2118-2127.
6. Bartels PC, Schoorl M, Lombarts AJ. Screening for EDTA-dependent deviations in platelet counts and abnormalities in platelet distribution histograms in pseudo-thrombocytopenia. *Scand J Clin Lab Invest* 1997; 57: 629-636.
7. Bednar B, Cook JJ, Holahan MA, Cunningham ME, Jumes PA, Bednar RA, Hartman GD, Gould RJ. Fibrinogen receptor antagonist-induced thrombocytopenia in chimpanzee and rhesus monkey associated with preexisting drug-dependent antibodies to platelet glycoprotein IIb/IIIa. *Blood* 1999; 94:587-599.
8. Belisario MA, Tafuri S, Di Domenico C, Della Morte R, Squillacioti C, Lucisano A, Staiano N. Immobilised echistatin promotes platelet adhesion and protein tyrosine phosphorylation. *Biochim Biophys Acta* 2000; 1497: 227-236.
9. Benchimol D, Bonnet J, Benchimol H, Drouillet F, Duplace C, Couffinhal T, Desgranges C, Bricaud H. Biological risk factors for restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Int J Cardiol* 1993; 38: 7-18.
10. Bennett JS, Shattil SJ, Power JW, Gartner TK. Interaction of fibrinogen with its platelet receptor. *J Biol Chem* 1988; 255: 12948-12953.
11. Bennett JS. Structural biology of glycoprotein IIb-IIIa. *Trends Cardiovasc Med* 1996; 6: 31-36.
12. Bennett JS, Vilaire G, Catella-Lawson F, Rut AR, Fitzgerald GA. The P1^{A2} alloantigen does not alter the affinity of GPIIb-IIIa for fibrinogen or RGD-containing peptides [abstract]. *Blood* 1997; 90: 154a.
13. Berger PB. Clopidogrel instead of ticlopidine after coronary stent placement: is the switch justified? *Am Heart J*. 2000; 140: 354-358.

14. Berkowitz SD, Harrington RA, Rund MM, Tcheng JE. Acute profound thrombocytopenia after c7E3 Fab (abciximab) therapy. *Circulation* 1997; 95: 809-813.
15. Bertrand ME, Rupprecht HJ, Urban P, Gershlick AH, Investigators et. Double-blind study of the safety of clopidogrel with and without a loading dose in combination with aspirin compared with ticlopidine in combination with aspirin after coronary stenting :the clopidogrel aspirin stent international cooperative study (CLASSICS). *Circulation* 2000; 102: 624-629.
16. Bhattacharya S, Jordan R, Machin S, Senior R, Mackie I, Smith CR, Schaible TF, Weisman HF, Lahiri A. Blockade of the platelet GPIIb/IIIa receptor by a murine monoclonal antibody Fab fragment (7E3). Potent dose-dependent inhibition of platelet function. *Cardiovasc Drugs Ther* 1995; 9: 665-675.
17. Blankenship JC. Bleeding complications of glycoprotein IIb-IIIa receptor inhibitors. *Am Heart J* 1999; 138: 287-296.
18. Bottiger C, Kastrati A, Koch W, Mehilli J, von Beckerath N, Dirschinger J, Gawaz M, Schomig A. Polymorphism of platelet glycoprotein IIb and risk of thrombosis and restenosis after coronary stent placement. *Am J Cardiol* 1999; 84: 987-991.
19. Bottiger C, Kastrati A, Koch W, Mehilli J, Seidl H, Schomig K, von Beckerath N, Schomig A. HPA-1 and HPA-3 polymorphisms of the platelet fibrinogen receptor and coronary artery disease and myocardial infarction. *Thromb Haemost* 2000; 83: 559-562.
20. Bray PF. Platelet glycoprotein polymorphisms as risk factors for thrombosis. *Curr Opin Hematol* 2000;7:284-289.
21. Byzova TV, Plow EF. The PI^{A2} allele and cardiovascular disease: the pro³³ and con. *J Clin Invest* 2000; 105: 697-698.
22. Calver AL, Blows LJ, Harmer S, Dawkins KD, Gray HH, Morgan JH, Simpson IA. Clopidogrel for prevention of major cardiac events after coronary stent implantation: 30-day and 6-month results in patients with smaller stents. *Am Heart J* 2000; 140: 483-491.
23. Calvete JJ. Platelet integrin GPIIb/IIIa: structure-function correlations. An update and lessons from other integrins. *Proc Soc Exp Biol Med* 1999; 222: 29-38.
24. Campbell B, Chuhuran CM, Lefer DJ, Lefer AM. Cardioprotective effects of abciximab (ReoPro) in an isolated perfused rat heart model of ischemia and reperfusion. *Methods Find Exp Clin Pharmacol* 1999; 21:529-534.
25. Carter AM, Ossei-Gerning N, Wilson IJ, Grant PJ. Association of the platelet PI^A polymorphism of glycoprotein IIb/IIIa and the fibrinogen B β 448 polymorphism with myocardial infarction and extent of coronary artery disease. *Circulation* 1997; 96: 1424-1431.

26. Christopoulos CG, Machin SJ. A new type of pseudothrombocytopenia: EDTA-mediated agglutination of platelets bearing Fab fragments of a chimeric antibody. *Br J Haematol* 1994; 87: 650-652.
27. Cines DB. Glycoprotein IIb/IIIa antagonists: potential induction and detection of drug-dependent antiplatelet antibodies. *Am Heart J* 1998; 135: S152-S159.
28. Coiffic A, Cazes E, Janvier G, Forestier F, Lanza F, Nurden A, Nurden P. Inhibition of platelet aggregation by abciximab but not by aspirin can be detected by a new point-of-care test, the hemostatus. *Thromb Res* 1999; 95: 83-91.
29. Collier BS, Peerschke EI, Scudder LE, Sullivan CA. A murine monoclonal antibody that completely blocks the binding of fibrinogen to platelets produces a thrombastenic-like state in normal platelets and binds to glycoproteins IIb and/or IIIa. *J Clin. Invest* 1983; 72: 325-338.
30. Collier BS. Platelets in cardiovascular thrombosis and thrombolysis. In: Fozzard HA, Haber E, Jennings RB, Katz AM, Morgan HE (eds.). *The heart and cardiovascular system: scientific foundations*. 2nd ed. Vol. 1. New York, Raven Press 1991: 219-273.
31. Collier BS. Platelet GPIIa/IIIb antagonist: the first anti-integrin receptor therapeutics. *J Clin Invest* 1997; 99: 1467-1471.
32. Collier BS, Lang D, Scudder LE. A rapid and simple platelet function assay to assess GPIIb/IIIa receptor blockade. *Circulation* 1997; 95: 860-867.
33. Collier BS. Monitoring platelet GPIIb/IIIa antagonist therapy. *Circulation* 1998; 97: 5-9.
34. Collier BS. Potential non-glycoprotein IIb/IIIa effects of abciximab. *Am Heart J* 1999; 138: 1-5.
35. Colman RW, Cook JJ, Niewiarowski S. Mechanisms of platelet aggregation. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.). *Haemostasis and Thrombosis: Basic principles and clinical practice*. 2nd ed. Philadelphia, JB Lippincott 1987: 508-523.
36. Colman RW, Marder VJ, Salzman EW, Hirsh J. Overview of hemostasis. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.). *Haemostasis and Thrombosis: Basic principles and clinical practice*. 2nd ed. Philadelphia, JB Lippincott 1987: 3-18.
37. Corral J, Gonzalez-Conejero R, Rivera J, Iniesta JA, Lozano ML, Vicente V. HPA-1 genotype in arterial thrombosis - role of HPA-1b polymorphism in platelet function. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1997;8:284-290.
38. Davidson SJ, Turner N, Clague JR, Oldershaw PJ, Burman. The importance of differentiating ReoPro (c7E3 abciximab) induced thrombocytopenia from heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost* 1999; 82: 1560-1561.
39. de Gaetano G, Cerletti C, Evangelista V. Recent advances in platelet-polymorphonuclear leukocyte interaction. *Haemostasis* 1999; 29: 41-49.

40. Du X, Plow EF, Frelinger AL, O'Toole TE, Loftus JC, Ginsberg MH. Ligands "activate" integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (platelet GPIIb/IIIa). *Cell* 1991; 65: 409-416.
41. Durante-Mangoni E, Davies GJ, Ahmed N, Ruggiero G, Tuddenham EG. Coronary thrombosis and the platelet glycoprotein IIIa gene PI^{A2} polymorphism. *Thromb Haemost* 1998; 80: 218-219.
42. Ellis SG, Bates ER, Schaible T, Weisman HF, Pitt B, Topol EJ. Prospects for the use of antagonists to the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor to prevent post-angioplasty restenosis and thrombosis. *J Am Coll Cardiol* 1991; 17: Suppl B: 89B-95B.
43. Esmon CT, Fukudome K, Mather T, Bode W, Regan LM, Stearns-Kurosawa DJ, Kurosawa S. Inflammation, sepsis, and coagulation. *Haematologica* 1999; 84: 254-259.
44. Faraday N, Goldschmidt-Clermont P, Dise K, Bray PF. Quantitation of soluble fibrinogen binding to platelets by fluorescence-activated flow cytometry. *J Lab Clin Med* 1994; 123: 728-740.
45. Fateh-Moghadam S, Bocksch W, Ruf A, Dickfeld T, Scharl M, Pogatsa-Murray G, Hetzer R, Fleck E, Gawaz M. Changes in surface expression of platelet membrane glycoproteins and progression of heart transplant vasculopathy. *Circulation* 2000; 102: 890-897.
46. Felding-Habermann B, Cheresh DA. Vitronectin and its receptors. *Curr Opin Cell Biol* 1993; 5: 864-868.
47. Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, O'Donnell CJ, Lipinska I, Schmitz C, Sutherland PA, Silbershatz H, D'Agostino RB, Muller JE, Myers RH, Levy D, Tofler GH. Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa PI^{A2} polymorphism: the Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 1142-1147.
48. Ferguson JJ. What have we learned from ESPRIT? What will we learn from TARGET? *J Invasive Cardiol* 2000; 12: 317-319.
49. Fitzgerald DJ. Fibrinogen receptor and platelet signalling. *Blood Coagul Fibrinolysis* 1999; 10: Suppl I: 77-79.
50. Freedman JE, Adelman B. Pharmacology of heparin and oral anticoagulation. In: Loscalzo J, Schafer AI (eds.). *Thrombosis and haemorrhage*. Boston, Blackwell Scientific 1994: 1155-1171.
51. Furman MI, Frelinger AL, Michelson AD. Antithrombotic therapy in the cardiac catheterization laboratory: focus on antiplatelet agents. *Curr Cardiol Rep* 2000; 2: 386-394.
52. Gan ZR, Gould RJ, Jacobs JW, Friedman PA, Polokoff MA. Echistatin. A potent platelet aggregation inhibitor from the venom of the viper, *Echis carinatus*. *J Biol Chem* 1988; 263: 19827-19832.

53. Garcia-Ribes M, Gonzalez-Lamuno D, Hernandez-Estefania R, Colman T, Pocovi M, Delgado-Rodriguez M, Garcia-Fuentes M, Revuelta JM. Polymorphism of the platelet glycoprotein IIIa gene in patients with coronary stenosis. *Thromb Haemost* 1998; 79: 1126-1129.
54. Gardemann A, Humme J, Stricker J, Nguyen QD, Katz N, Philipp M, Tillmanns H, Hehrlein FW, Rau M, Haberbosch W. Association of the platelet glycoprotein IIIa PI^{A1/A2} gene polymorphism to coronary artery disease but not to nonfatal myocardial infarction in low risk patients. *Thromb Haemost* 1998; 80: 214-217.
55. Garden RJM, Hynes RO. Interaction of fibronectin with its receptor on platelets. *Cell* 1985; 42: 439-448.
56. Garg UC, Arnett DK, Folsom AR. Lack of association between platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor PI^A polymorphism and coronary artery disease or carotid intima-media thickness. *Thromb Res* 1998; 89: 85-89.
57. Gawaz MP, Loftus JC, Bajjt ML, Fromovic MM, Plow EF, Ginsberg MH. Ligand bridging mediates integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (platelet GPIIb-IIIa) dependent homotypic and heterotypic cell-cell interactions. *J Clin Invest* 1991; 88: 1128-1134.
58. Gawaz MP, Ward RA. Effects of hemodialysis on platelet-derived thrombospondin. *Kidney intern* 1991; 40: 257-265.
59. Gawaz MP, Dobos G, Späth M, Mujais SK. Platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa function is impaired in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1994; 5: 36-46.
60. Gawaz MP, Mujais SK, Schmidt B, Gurland HJ. Platelet leukocyte aggregation during hemodialysis. *Kidney international* 1994; 46: 489-495.
61. Gawaz M, Fateh-Moghadam S, Pilz G, Gurland HJ, Werdan K. Platelet activation and interaction with leucocytes in patients with sepsis or multiple organ failure. *Eur J Clin Invest* 1995; 23: 843-851.
62. Gawaz M, Fateh-Moghadam S, Pilz G, Gurland HJ, Werdan K. Severity of multiple organ failure but not of sepsis correlates with irreversible platelet degranulation. *Infection* 1995; 23: 16-27.
63. Gawaz M, Mujais SK. Platelet membrane glycoprotein abnormalities in uremia. *J Nephrol* 1995; 8: 12-19.
64. Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, Schiessler A, Schömig A. Platelet function in acute myocardial infarction treated with direct angioplasty. *Circulation* 1996; 93: 229-237.
65. Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, May A, Schömig A. Platelet activation and coronary stent implantation. Effect of thrombotic therapy. *Circulation* 1996; 94: 279-285.
66. Gawaz M, Ott I, Reininger AJ, Heinzmann U, Neumann FJ. Agglutination of isolated platelet membranes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 621-627.

67. Gawaz M, Neumann FJ, Ott I, May A, Rüdiger S, Schömig A. Role of activation-dependent platelet membrane glycoproteins in development of subacute occlusive coronary stent thrombosis. *Coron Art Dis* 1997; 8: 121-128.
68. Gawaz M. Thrombozyten und primäre Hämostase. In: Gawaz M (Ed.). *Das Blutplättchen*. Stuttgart-New York, Georg Thieme Verlag 1999: 4-24.
69. Gawaz M. Thrombozyten und sekundäre Hämostase. In: Gawaz M (Ed.). *Das Blutplättchen*. Stuttgart-New York, Georg Thieme Verlag 1999: 25-29.
70. Gawaz M. Thrombozytäre Membranglykoproteine. In: Gawaz M (Ed.). *Das Blutplättchen*. Stuttgart-New York, Georg Thieme Verlag 1999: 30-41.
71. Gawaz M. Funktionsdiagnostik. In: Gawaz M (Ed.). *Das Blutplättchen*. Stuttgart-New York, Georg Thieme Verlag 1999: 42-53.
72. Gawaz M. Antithrombozytäre Substanzen. In: Gawaz M (Ed.). *Das Blutplättchen*. Stuttgart-New York, Georg Thieme Verlag 1999: 54-79.
73. Gawaz M. Medikamenteninduzierte Thrombozytopenie. In: Gawaz M (Ed.). *Das Blutplättchen*. Stuttgart-New York, Georg Thieme Verlag 1999: 80-84.
74. Gawaz M, Neumann FJ, Schömig A. Evaluation of platelet function in coronary heart disease. Consequences of diagnosis and therapy. *Circulation* 1999; 1: 5-12.
75. Gawaz M, Ruf A, Pogatsa-Murray G, Dickfeld T, Rudiger S, Taubitz W, Fischer J, Müller I, Meier D, Patscheke H, Schömig A. Incomplete inhibition of platelet aggregation and glycoprotein IIb-IIIa receptor blockade by abciximab: importance of internal pool of glycoprotein IIb-IIIa receptors. *Thromb Haemost* 2000; 83: 915-922.
76. George JN, Pickett EB, Saucerman S, McEver RP, Kunicki TJ, Kieffer N, Newman PJ. Platelet surface glycoproteins: studies on resting and activated platelets and platelet membrane microparticles in normal subjects, and observations in patients during adult respiratory distress syndrome and cardiac surgery. *J Clin Invest* 1986; 78: 340-348.
77. Ginsberg MH, Loftus JC, Plow EF. Cytoadhesins, integrins and platelets. *Thromb Haemost* 1988; 59: 1-6.
78. Ginsberg MH, Frelinger AL, Lam SCT, Forsyth J, McMillan R, Plow EF, Shattil SJ. Analysis of platelet aggregation disorders based on flow cytometric analysis of platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa with conformation specific monoclonal antibodies. *Blood* 1990; 76: 2017-2023.
79. Ginsberg MH, Du X, Plow EF. Inside-out integrin signaling. *Curr Opin Cell Biol* 1992; 4: 766-771.
80. Ginsberg MH, Du X, O'Toole TE, Loftus JC, Plow EF. Platelet integrins. *Thromb Haemost* 1993; 70: 87-93.

81. Ginsberg MH. Integrins: dynamic regulation of ligand binding. *Biochem Soc Trans* 1995; 23: 439-436.
82. Ginsberg MH, Loftus JC. Platelet integrins. *Thromb Haemost* 1995; 74: 352-359.
83. Goldschmidt-Clermont PJ, Roos CM, Cooke GE. Platelet PI^{A2} polymorphism and thromboembolic events: from inherited risk to pharmacogenetics. *J Thromb Thrombolysis* 1999; 8: 89-103.
84. Gonzalez-Conejero R, Lozano ML, Rivera J, Corral J, Iniesta JA, Moraleda JM, Vicente V. Polymorphisms of platelet membrane glycoprotein Ib associated with arterial thrombotic disease. *Blood* 1998; 92: 2771-2776.
85. Goodall AH, Curzen N, Panesar M, Hurd C, Knight CJ, Ouwehand WH, Fox KM. Increased binding of fibrinogen to glycoprotein IIIa-proline33 (HPA-1b, PI^{A2}, Z^w^b) positive platelets in patients with cardiovascular disease. *Eur Heart J* 1999; 20: 742-747.
86. Goods CM, al-Shaibi KF, Liu MW, Yadav JS, Marthur A, Jain SP, Dean LS, Iyer SS, Parks JM, Roubin GS. Comparison of aspirin alone versus aspirin plus ticlopidine after coronary artery stenting. *Am J Cardiol* 1996; 78: 1042-1044.
87. Green FR, Watkins H. Genetic association studies in coronary disease: the cause of GPIIb-IIIa polymorphisms. *Eur Heart J* 1999; 20: 706-708.
88. Griffiths E, Dzik WH. Assays for heparin-induced thrombocytopenia. *Transfus Med* 1997; 7: 1-11.
89. Gutensohn K, Beythien C, Bau J, Meinertz T, Kuehnl P. Flow cytometric analysis of coronary stent-induced alterations of platelet antigens in an in vitro model. *Thromb Res* 1997; 86: 49-56.
90. Hagberg LA, Lyberg T. Blood platelet activation evaluated by flow cytometry: optimised methods for clinical studies. *Platelets* 2000; 11: 137-150.
91. Harker LA. Platelets and vascular thrombosis. *N Engl J Med* 1987; 330: 1006-1007.
92. Harker LA, Gent M. Antiplatelet agents in the management of thrombotic disorders. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.). *Haemostasis and Thrombosis: Basic principles and clinical practice*. 2nd ed. Philadelphia, JB Lippincott 1987: 1506-1513.
93. Hawinger J. Adhesive interactions of blood cells and the vascular wall. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.). *Haemostasis and Thrombosis: Basic principles and clinical practice*. 2nd ed. Philadelphia, JB Lippincott 1987: 762-769.
94. Heijnen HF, Schiel AE, Fijnheer R, Geuze HJ, Sixma JJ. Activated platelets release two types of membrane vesicles: microvesicles by surface shedding and exosomes derived from exocytosis of multivesicular bodies and α -granules. *Blood* 1999; 94: 3791-3799.

95. Herrmann SM, Poirier O, Marques-Vidal P. The Leu33/Pro polymorphism (PI^{A1}/PI^{A2}) of the glycoprotein IIIa (GPIIIa) receptor is not related to myocardial infarction in the ECTIM study. *Thromb Haemost* 1997; 77: 1179-1181.
96. Hezard N, Metz D, Nazeyrollas P, Nguyen P, Simon G, Daliphard S, Droulle C, Elaerts J, Potron G. Free and total platelet glycoprotein IIb/IIIa measurement in whole blood by quantitative flow cytometry during and after infusion of c7E3 Fab in patients undergoing PTCA. *Thromb Haemost* 1999; 81: 869-873.
97. Holme PA, Solum NO, Brosstad F, Pedersen T, Kveine M. Microvesicles bind soluble fibrinogen, adhere to immobilized fibrinogen and coaggregate with platelets. *Thromb Haemost* 1998; 79: 389-394.
98. Holmsen H, Day HJ, Stormoken H. The blood platelet release reaction. *Scand J Haematol* 1969; 8: 1-6.
99. Holmsen H. Platelet secretion and energy metabolism. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.). *Haemostasis and Thrombosis: Basic principles and clinical practice*. 2nd ed. Philadelphia, JB Lippincott 1987: 524-545.
100. Honda S, Tomiyama Y, Aoki T, Shiraga M, Kurata Y, Seki J, Matsuzawa Y. Association between ligand-induced conformational changes of integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ and $\alpha_{IIb}\beta_3$ -mediated intracellular Ca²⁺ signaling. *Blood* 1998; 92: 3675-3683.
101. Hu DD, White CA, Panzer-Knodle S, Page JD, Nicholson N, Smith JW. A new model of dual interacting ligand binding sites on integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$. *J Biol Chem* 1999; 274: 4633-4639.
102. Hynes RO. Integrins: versality, modulation, and signalling in cell adhesion. *Cell* 1992; 69: 11-25.
103. Inoue K, Ozaki Y, Satoh K, Wu Y, Yatomi Y, Shin Y, Morita T. Signal transduction pathways mediated by glycoprotein Ia/IIa in human platelets: comparison with those of glycoprotein VI. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 256: 114-120.
104. Jennings LK, White MM. Expression of ligand-induced binding sites on glycoprotein IIb/IIIa complexes and the effect of various inhibitors. *Am Heart J* 1998; 135: S179-S183.
105. Joseph T, Marco J, Gregorini L. Acute profound thrombocytopenia after abciximab therapy during coronary angioplasty. *Clin Cardiol* 1998; 21: 851-852.
106. Joven J, Simo JM, Vilella E, Camps J, Masana L, de Febrer G, Camprubi M, Richart C, Bardaji A, Casao E, Pocovi M, Civeira F. Lipoprotein(a) and the significance of the association between platelet glycoprotein IIIa polymorphisms and the risk of premature myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1998; 140: 155-159.
107. Jubelirer SJ, Koenig BA, Bates MC. Acute profound thrombocytopenia following c7E3 Fab (Abciximab) therapy: case reports, review of the literature and implications for therapy. *Am J Hematol* 1999; 61: 205-208.

108. Juran NB. Minimizing bleeding complications of percutaneous coronary intervention and glycoprotein IIb-IIIa antiplatelet therapy. *Am Heart J* 1999; 138: 297-306.
109. Kastrati A, Schömig A, Seyfarth M, Koch W, Elezi S, Bottiger C, Mehilli J, Schömig K, von Beckerath N. PI^A polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risk of restenosis after coronary stent placement. *Circulation* 1999; 99: 1005-1010.
110. Kastrati A, Dirschinger J, Schömig A. Genetic risk factors and restenosis after percutaneous coronary interventions. *Herz* 2000; 25: 34-46.
111. Kereiakes DJ, Essell JH, Abbottsmith CW, Broderick TM, Runyon JP. Abciximab-associated profound thrombocytopenia: therapy with immunoglobulin and platelet transfusion. *Am J Cardiol* 1996; 78: 1161-1166.
112. Kereiakes DJ, Kleiman N, Ferguson JJ, Runyon JP, Broderick TM, Higby NA, Martin LH, Hantsbarger G, McDonald S, Anders RJ. Sustained platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade with oral xemilofiban in 170 patients after coronary stent deployment. *Circulation* 1997; 96: 1117-1121.
113. Kereiakes DJ, Kleiman NS, Ferguson JJ. Safety and efficacy of prolonged platelet GPIIb/IIIa blockade with xemilofiban: final results of the ORBIT trial [abstract]. *Circulation* 1997; 96: I-385.
114. Kereiakes DJ, Kleiman NS, Ferguson JJ, Masud AR, Broderick TM, Abbottsmith CW, Runyon JP, Anderson LC, Anders RJ, Dreiling RJ, Hantsbarger GL, Bryzinski B, Topol EJ. Pharmacodynamic efficacy, clinical safety, and outcomes after prolonged platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade with oral xemilofiban: results of a multicenter, placebo-controlled, randomized trial. *Circulation* 1998; 98: 1268-1278.
115. Kereiakes DJ. Oral blockade of the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor: fact or fancy? *Am Heart J* 1999; 138: 39-46.
116. Kereiakes DJ. Oral platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors. *Coron Artery Dis* 1999; 10: 581-594.
117. Kereiakes DJ, Broderick TM, Roth EM, Whang D, Shimshak T, Runyon JP, Hattemer C, Schneider J, Lacock P, Mueller M, Abbottsmith CW. Time course, magnitude, and consistency of platelet inhibition by abciximab, tirofiban, or eptifibatide in patients with unstable angina pectoris undergoing percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol* 1999; 84: 391-395.
118. Kereiakes DJ, Berkowitz SD, Lincoff AM, Tcheng JE, Wolski K, Achenbach R, Melsheimer R, Anderson K, Califf RM, Topol EJ. Clinical correlates and course of thrombocytopenia during percutaneous coronary intervention in the era of abciximab platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade. *Am Heart J* 2000; 140: 74-80.

119. Kereiakes DJ, Broderick TM, Roth EM, Whang D, Mueller M, Lacock P, Anderson LC, Howard W, Blanck C, Schneider J, Abbottsmith CA. High platelet count in platelet-rich plasma reduces measured platelet inhibition by abciximab but not tirofiban nor eptifibatide glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonists. *J Thromb Thrombolysis* 2000; 9: 149-155.
120. Kereiakes DJ, Runyon JP, Broderick TM, Shimshak TM. IIB's are not IIB's. *Am J Cardiol* 2000; 85: 23C-31C.
121. Kleiman NS. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of glycoprotein IIb-IIIa inhibitors. *Am Heart J* 1999; 138: S263-S275.
122. Knight CG, Morton LF, Onley DJ, Peachey AR, Ichinohe T, Okuma M, Farndale RW, Barnes MJ. Collagen-platelet interaction: Gly-Pro-Hyp is uniquely specific for platelet GPVI and mediates platelet activation by collagen. *Cardiovasc Res* 1999; 41: 450-457.
123. Kolansky DM, Klugherz BD, Curran SC, Herrmann HC, Magness K, Wilensky RL, Hirshfeld JW Jr. Combination therapy with clopidogrel and aspirin after coronary stenting. *Catheter Cardiovasc Interv* 2000; 50: 276-279.
124. Kuijpers RWAM, Faber NM, Cuypers HTM, Ouwehand H, von dem Borne AEGKr. The N-terminal globular domain of human platelet glycoprotein I β has a methionine 145/threonine 145 amino acid polymorphism which is associated with the HPA-2 (Ko) alloantigens. *J Clin Invest* 1992; 89: 381-384.
125. Kunicki TJ, Furihata K, Bull B, Nugent DJ. The immunogenicity of platelet membrane glycoproteins. *Transfus Med Rev* 1987; 1: 21-33.
126. Kunicki TJ, Newman PJ. The molecular immunology of human platelet proteins. *Blood* 1992; 80: 1386-1404.
127. Kunicki TJ. The PI^A alloantigen system is a sensitive indicator of the structural integrity of the amino-terminal domain of the human integrin β_3 subunit. *Blood Cells Mol* 1995; 21: 131-141.
128. Kunicki TJ, Kritzik M, Annis DS, Nugent DJ. Hereditary variation in platelet integrin $\alpha_2\beta_1$ density is associated with two silent polymorphisms in the α_2 gene coding sequence. *Blood* 1997; 89: 1939-1943.
129. Lasne D, Krenn M, Pingault V, Arnaud E, Fiessinger JN, Aiach M, Rendu F. Interdonor variability of platelet response to thrombin receptor activation: influence of PI^{A2} polymorphism. *Br J Haematol* 1997;99:801-807.
130. Lechler E. Hämorrhagische Diathesen. In: Classen M (Ed.), Diehl V, Kahlsiek K. *Innere Medizin. München-Wien-Baltimore, Verlag Urban & Schwarzenberg* 1993: 251-276.
131. Leon MB, Baim DS, Gordon P. Clinical and angiographic results from the stent anticoagulation regimen study (STARS) [abstract]. *Circulation* 1996; 94: I-685.

132. Leung L, Nachman R. Molecular mechanisms of platelet aggregation. *Ann Rev Med* 1986; 37: 179-186.
133. Leytin V, Shapiro H, Novikov I, Radnay J. Flow cytometric analysis of the platelet surface area and surface density of glycoprotein IIb-IIIa of unactivated human platelets of various sizes. *Biochem Biophys Res Commun* 1996; 226: 94-100.
134. Libby P, Schwartz D, Brogi E, Tanaka H, Clinton SK. A cascade model for restenosis. a special case of atherosclerosis progression [abstract]. *Circulation* 1992; 86: III 47-III 52.
135. Lincoff AM, Popma JJ, Ellis SG, Hacker JA, Topol EJ. Abrupt vessel closure complicating coronary angioplasty: clinical, angiographic and therapeutic profile. *J Am Coll Cardiol* 1992; 19: 926-935.
136. Lincoff AM, Califf RM, Moliterno DJ, Ellis SG, Ducas J, Kramer JH, Kleiman NS, Cohen EA, Booth JE, Sapp SK, Cabot CF, Topol EJ. Complementary clinical benefits of coronary-artery stenting and blockade of platelet glycoprotein IIb/IIIa receptors. Evaluation of platelet IIb/IIIa inhibition in Stenting Investigators. *N Engl J Med* 1999; 341: 319-327.
137. Liu Q, Frojmovic MM. The fibrinogen RIBS-I epitope (γ 373-385) appears proximate to the γ 408-411 adhesive domain but is not involved in interaction between receptor-bound or surface-adsorbed fibrinogen and platelet GPIIb-IIIa. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1429: 217-229.
138. Lopez JA, Ludwig EH, McCarthy BY. Polymorphism of human glycoprotein I β α results from a variable number of tandem repeats of a 13 amino-acid sequence in the mucin-like macroglycopeptide region. Structure/function implications. *J Biol Chem* 1992; 267: 10055-10061.
139. Lyman S, Aster RH, Visentin GP, Newman PJ. Polymorphism of human platelet membrane glycoprotein IIb associated with the Bak^a/Bak^b alloantigen system. *Blood* 1990; 75: 2343-2348.
140. Mackie IJ, Neal CR. The platelet. Platelet-vessel wall interaction. The Bloomsbury series in clinical science. Berlin-Heidelberg, Springer Verlag 1988: 1-24.
141. Madan M, Berkowitz SD. Understanding thrombocytopenia and antigenicity with glycoprotein IIb-IIIa inhibitors. *Am Heart J* 1999; 138: 317-326.
142. Madan M, Tchong JE. Coronary intervention and glycoprotein IIb/IIIa integrin blockade. *Coron Artery Dis* 1999; 10: 553-560.
143. Mamotte CD, van Bockxmeer FM, Taylor RR. PI^{A1/A2} polymorphism of glycoprotein IIIa and risk of coronary artery disease and restenosis following coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1998; 82: 13-16.
144. Marian AJ, Brugada R, Kleiman NS. Platelet glycoprotein IIIa PI^A polymorphism and myocardial infarction. *N Engl J Med* 1996; 335: 1071-1072.

145. Mathew TP, Adgey AA. Clinical trials of IIb/IIIa receptor blockers in patients undergoing angioplasty. *Semin Interv Cardiol* 1999; 4: 67-75.
146. Matzdorff AC, Kühnel G, Kemkes-Matthes B, Pralle H, Voss R, Fareed J. Effect of glycoprotein IIb/IIIa inhibitors on CD62P expression, platelet aggregates, and microparticles in vitro. *J Lab Clin Med* 2000; 135: 247-255.
147. Maugeri N, Evangelista V, Celardo A, Dell'Elba G, Martelli N, Piccardoni P, Gaetano G, Cerletti C. Polymorphnuclear leukocyte-platelet interaction. Role of P-Selectin in thromboxane B₂ and leukotriene C₄ cooperative synthesis. *Thromb Haemost* 1994; 72: 450-456.
148. McEver RP. The clinical significance of platelet membrane glycoproteins. *Hematol Oncol Clin N Am* 1990; 4: 87-103.
149. McEver RP. Role of selectins in leucocyte adhesion to platelets and endothelium. *Ann New York Acad Sci* 1994; 714: 185-189.
150. McFarland JG, Aster RH. Alloimmune thrombocytopenias. In: Rossi EC, Simon TL, Moss (eds). *Principles of Transfusion Medicine*. Baltimore, Williams and Wilkins 1991: 255-263.
151. McQueney PA, Bollag DM, Hartman GD, Gould RJ, Bednar B. Characterizaion of ligand induced binding sites on GPIIb/IIIa upon binding of GPIIb/IIIa antagonists using monoclonal antibodies [abstract]. *Circulation* 1996; 94: I-99.
152. Meiklejohn DJ, Urbaniak SJ, Greaves M. Platelet glycoprotein IIIa polymorphism HPA-1b (PI^{A2}): no association with platelet fibrinogen binding. *Br J Haematol* 1999;105:664-666.
153. Merten M, Pakala R, Thiagarajan P, Benedict CR. Platelet microparticles promote platelet interaction with subendothelial matrix in a glycoprotein IIb/IIIa-dependent mechanism. *Circulation* 1999; 99: 2577-2582.
154. Metcalfe P, Williamson LM, Reutelingsperger CP, Swann I, Ouwehand WH, Goodall AH. Activation during preparation of therapeutic platelets affects deterioration during storage: a comparative flow cytometric study of different production methods. *Br J Haematol* 1997; 98: 86-95.
155. Metha JL, Nicolini FA Connelly WH, Nichols WW. Platelet-leucocyte-endothel interactions in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1992; 69: Suppl B: 8B-13B.
156. Michelson AD. Flow cytometry: a clinical test of platelet function. *Blood* 1996; 87: 4925-4936.
157. Michelson AD, Barnard MR, Krueger LA, Frelinger AL, Furman MI. Evaluation of platelet function by flow cytometry. *Methods* 2000; 21:259-270.

158. Michelson AD, Furman MI, Goldschmidt-Clermont P, Mascelli MA, Hendrix C, Coleman L, Hamlington J, Barnard MR, Kickler T, Christie DJ, Kundu S, Bray PF. Platelet GPIIIa PI^A polymorphisms display different sensitivities to agonists. *Circulation* 2000;101:1013-1018.
159. Miller JL. Studies published on clopidogrel-aspirin for coronary stent placement. *Am J Health Syst Pharm* 2000; 57: 101-102.
160. Moll S, Poepping I, Hauck S, Gulba D, Dietz R. Images in cardiovascular medicine: pseudothrombocytopenia after abciximab (ReoPro) treatment. *Circulation* 1999; 100: 1460.
161. Moore SA, Steinhubl SR. Clopidogrel and coronary stenting: what is the next question? *J Thromb Thrombolysis* 2000; 10: 121-126.
162. Moroi M, Jung SM, Yoshida N. Genetic polymorphism of platelet glycoprotein Ib. *Blood* 1984; 64: 622-629.
163. Mousa SA, Khurana S, Forsythe MS. Comparative in vitro efficacy of different platelet glycoprotein IIb/IIIa antagonists on platelet-clot strength induced by tissue factor with use of thromboelastography: differentiation among glycoprotein IIb/IIIa antagonists. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 1162-1167.
164. Murphy NP, Pratico D, Fitzgerald DJ. Functional relevance of the expression of ligand-induced binding sites in the response to platelet GPIIb/IIIa antagonists in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 1998; 286: 945-951.
165. Neumann FJ, Gawaz M, Ott I, May A, Mössmer G, Schömig A. Prospective evaluation of hemostatic predictors of subacute stent thrombosis after coronary Palmaz-Schatz stenting. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 15-21.
166. Neumann FJ, Gawaz M, Dickfeld T, Wehinger A, Walter H, Blasini R, Schömig A. Antiplatelet effect of ticlopidine after coronary stenting. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 1515-1519.
167. Neumann FJ, Gawaz M, Schömig A. Glykoproteine der Thrombozytenmembran als Angriffspunkte für pharmakologische Interventionen in der Therapie der koronaren Herzkrankheit. *Dtsch. Med. Wschr.* 1997; 122: 1224-1230.
168. Neumann FJ, Schömig A. Glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade with coronary stent placement. *Semin Interv Cardiol* 1998; 3: 81-90.
169. Newman PJ. Platelet GPIIb-IIIa: molecular variations and alloantigens. *Thromb Haemost* 1991; 66: 111-118.
170. Newman PJ. Nomenclature of human platelet alloantigens: A problem with the HPA system? *Blood* 1994; 83: 1447-1451.

171. Niiya K, Hodson E, Bader R, Byers-Ward V, Koziol JA, Plow EF, Ruggeri ZM. Increased surface expression of the membrane glycoprotein GPIIb/IIIa complex induced by platelet activation. Relationship to the binding of fibrinogen and platelet aggregation. *Blood* 1987; 70: 475.
172. Nurden AT. Human platelet membrane glycoproteins. In: Bloom A, Forbes CD (eds.). *Haemostasis and Thrombosis*. 3rd ed., Churchill Livingstone 1994: 115-165.
173. Nurden AT, Macchi L, Bihour C, Durrieu C, Besse P, Nurden P. Markers of platelet activation in coronary heart disease patients [abstract]. *Eur J Clin Invest* 1994; 24: Suppl. I: I-42 – I-45.
174. Nurden AT. Polymorphisms of human platelet membrane glycoproteins: structure and clinical significance. *Thromb Haemost* 1995; 74: 345-351.
175. Nurden AT. Polymorphisms of platelet receptors as risk factors in coronary thrombosis. *Europ Heart J* 1996; 17: 1293-1294.
176. Nurden AT. Platelet glycoprotein IIIa polymorphism and coronary thrombosis. *Lancet* 1997; 350: 1189-1191.
177. Nurden P, Poujol C, Durrieu-Jais C, Winckler J, Combrie R, Macchi L, Bihour C, Wagner C, Jordan R, Nurden AT. Labeling of the internal pool of GPIIb-IIIa in platelets by c7E3 Fab fragments (abciximab): flow and endocytic mechanisms contribute to the transport. *Blood* 1999; 93: 1622-1633.
178. Osborn SV, Hampton KK, Smillie D, Channer KS, Daly ME. Platelet glycoprotein IIIa gene polymorphism and myocardial infarction. *Lancet* 1996; 348: 1309-1310.
179. Packham MA, Mustava JF. Platelet adhesion. In: *Progress in Haemostasis and Thrombosis*. Vol. 7. New York, Grune and Stratton 1984: 211-288.
180. Parise LV. Integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ signalling in platelet adhesion and aggregation. *Curr Opin Cell Biol* 1999; 11: 597-601.
181. Peter K, Schwarz M, Ylänne J, Kohler B, Moser M, Nordt T, Salbach P, Kübler W, Bode C. Induction of fibrinogen binding and platelet aggregation as a potential intrinsic property of various glycoprotein IIb/IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$) inhibitors. *Blood* 1998; 92: 3240-3249.
182. Peter K, Straub A, Kohler B, Volkmann M, Schwarz M, Kubler W, Bode C. Platelet activation as a potential mechanism of GPIIb/IIIa inhibitor-induced thrombocytopenia. *Am J Cardiol* 1999; 84: 519-524.
183. Peterson JA, Visentin GP, Newman PJ, Aster RH. A recombinant soluble form of the integrin $\alpha_{IIb}\beta_3$ (GPIIb-IIIa) assumes an active, ligand-binding conformation and is recognized by GPIIb-IIIa-specific monoclonal, allo-, auto-, and drug-dependent platelet antibodies. *Blood* 1998; 92: 2053-2063.
184. Phillips DR, Charo IF, Parise LV, Fitzgerald LA. The platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex. *Blood* 1988; 71: 831-843.

185. Phillips DR, Teng W, Arfsten A. Effect of Ca^{2+} on GPIIb-IIIa interactions with integrelin: Enhanced GPIIb-IIIa binding and inhibition of platelet aggregation by reductions in the concentration of ionized calcium in plasma anticoagulated with citrate. *Circulation* 1997; 96: 1488-1494.
186. Plow EF, Ginsberg MH. Cellular adhesion: GPIIb/IIIa as a prototypic adhesion receptor. In: Collier BS (Ed.). *Progress in Haemostasis and Thrombosis*. Philadelphia, Saunders WB Co 1989: 117-156.
187. Plow EF, D' Souza SE, Ginsberg MH. Consequences of the interaction of platelet membrane glycoprotein GPIIb/IIIa ($\alpha_{IIb}\beta_3$) and its ligands. *J Lab Clin Med* 1992; 120: 198-204.
188. Plow EF, D' Souza SE, Ginsberg MH. Ligand binding to GPII/IIIa: a status report. *Semin Thromb Hemost* 1992; 18: 324-329.
189. Poullis M. A quick simple method of determining platelet aggregability following glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibitor administration. *Cardiology* 1999; 91: 156-160.
190. Pytela R, Pierschbacher MD, Ginsberger MH, Plow EF, Ruolshiti E. Platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa: Member of a family of arg-gly-asp specific adhesion receptors. *Science* 1986; 231: 1559-1562.
191. Quinn M, Deering A, Stewart M, Cox D, Foley B, Fitzgerald D. Quantifying GPIIb/IIIa receptor binding using 2 monoclonal antibodies: discriminating abciximab and small molecular weight antagonists. *Circulation* 1999; 17: 2231-2238.
192. Ridker PM, Hennekens CH, Schmitz C. Pl^{A1}/Pl^{A2} polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and risks of myocardial infarction, stroke and venous thrombosis. *Lancet* 1997; 349: 385-388.
193. Ridker PM, Stampfer MJ. Assessment of genetic markers for coronary thrombosis: promise and precaution. *Lancet* 1999; 353: 687-688.
194. Rinder HM. Platelet function testing by flow cytometry. *Clin Lab Sci* 1998; 11:365-372.
195. Roe MT, Moliterno DJ. The EPILOG trial. Abciximab prevents ischemic complications during angioplasty. Evaluation in PTCA to improve long-term outcome with abciximab GPIIb/IIIa blockade. *Cleve Clin J Med* 1998; 65: 267-272.
196. Rosing J, van Rijn JL, Bevers EM, van Dieijen G, Comfurius P, Zwaal RF. The role of activated human platelets in prothrombin and factor X activation. *Blood* 1985; 65: 319-332.
197. Ruf A, Patscheke H. Flow cytometric detection of activated platelets: comparison of determining shape change, fibrinogen binding, and P-selectin expression. *Semin Thromb Hemost* 1995; 21: 146-151.

198. Ruf A, Pick M, Deutsch V, Patscheke H, Goldfarb A, Rachmilewitz EA, Guillin MC, Eldor A. The procoagulant activity of red cells from patients with β -thalassaemia major correlates with in vivo platelet activation. *Brit J Haematol* 1997; 98: 51-56.
199. Ruggeri ZM. New insights into mechanisms of platelet adhesion and aggregation. *Sem Hematol* 1994; 31: 229-239.
200. Samani NJ, Lodwick D. Glycoprotein IIIa polymorphism and risk of myocardial infarction. *Cardiovasc Res* 1997; 33: 693-697.
201. Sane DC, Damaraju LV, Topol EJ, Cabot CF, Mascelli MA, Harrington RA, Simoons ML, Califf RM. Occurrence and clinical significance of pseudothrombocytopenia during abciximab therapy. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36: 75-83.
202. Santoso S, Amrhein J, Hofmann HA, Sachs UJ, Walka MM, Kroll H, Kiefel V. A point mutation Thr (799) Met on the α_2 integrin leads to the formation of new human platelet alloantigen Sit^a and affects collagen-induced aggregation. *Blood* 1999; 94: 4103-4111.
203. Sasaki Y, Ishii I, Giddings JC, Yamamoto J. Protective effects of ticlopidine and aspirin, administered alone and in combination, on thrombus formation in rat cerebral vessels. *Haemostasis* 1996; 26: 150-156.
204. Scaglione L, Bergerone S, Gaschino G. Lack of relationship between the P1^{A1}/P1^{A2} polymorphism of platelet glycoprotein IIIa and premature myocardial infarction. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 385-388.
205. Scharf RE, Tomer A, Mrzecz UM, Teirstein PS, Ruggeri ZM, Harker L. Activation of platelets in blood perfusing angioplasty-damaged coronary arteries; flow cytometric detection. *Atheroscl Thromb* 1992; 12: 1475-1487.
206. Schneider DJ, Taatjes DJ, Sobel BE. Paradoxical inhibition of fibrinogen binding and potentiation of α -granule release by specific types of inhibitors of glycoprotein IIb-IIIa. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 437-446.
207. Schömig A, Kastrati A, Mudra H, Blasini R, Schülen H, Klauss V, Richardt G, Neumann FJ. Four-year experience with Palmaz-Schatz stenting in coronary angioplasty complicated by dissection with threatened or present vessel closure. *Circulation* 1994; 90: 2716-2724.
208. Schömig A, Neumann FJ, Kastrati A, Schühlen H, Blasini R, Hadamitzki M, Walter H, Zitzmann-Roth EM, Richard G, Alt E, Schmitt C, Ulm K. A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary stents. *N Engl J Med* 1996; 334: 1084-1089.
209. Schrör K. *Thrombozyten (Physis Spezial; 67)*. München, Verlag Urban und Vogel 1993: 1-19.
210. Schulman SP, Goldschmidt-Clermont PJ, Topol EJ et al. Effects of integrelin, a platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor antagonist, in unstable angina. *Circulation* 1996; 94: 2083-2089.

211. Schultheiss HP, Tschoepe D, Esser J, Schwippert B, Roesen P, Nieuwenhuis HK, Schmidt-Soltau C, Strauer B. Large platelets continue to circulate in an activated state after myocardial infarction. *Eur J Clin Invest* 1994; 24: 243-247.
212. Senti M, Aubo C, Bosch M, Pavesi M, Pena A, Masia R, Marrugat J. Platelet glycoprotein IIb/IIIa genetic polymorphism is associated with plasma fibrinogen levels in myocardial infarction patients. The REGICOR Investigators. *Clin Biochem* 1998; 31: 647-651.
213. Shattil SJ, Hoxie JA, Cunningham M, Brass LF. Changes in glycoprotein IIb/IIIa complex during platelet activation. *J Biol Chem* 1985, 260: 11107-111015.
214. Shattil SJ, Cunningham M, Hoxie JA. Detection of activated platelets in whole blood using activation-dependent monoclonal antibodies and flow cytometry. *Blood* 1987; 70: 307-315.
215. Shattil SJ, Ginsberg MH, Brugge JS. Adhesive signaling in blood platelets. *Curr Opin Cell Biol* 1994; 6: 695-704.
216. Shattil SJ, Ginsberg MH. Integrin signaling in vascular biology. *J Clin Invest* 1997; 100: 1-5.
217. Simoons ML, deBoer MJ, van den Brand MJB. Randomized trial of a GPIIb/IIIa platelet receptor blocker in refractory unstable angina. *Circulation* 1994; 89: 596-603.
218. Simpfendorfer C, Kottke-Marchant K, Lowrie M, Anders RJ, Burns DM, Miller DP, Cove CS, DeFranco AC, Ellis SG, Moliterno DJ, Raymond RE, Sutton JM, Topol EJ. First chronic platelet glycoprotein IIb/IIIa integrin blockade. A randomized, placebo-controlled pilot study of xemilofiban in unstable angina with percutaneous coronary interventions. *Circulation* 1997; 96: 76-81.
219. Sims PJ, Wiedmer T, Esmon CT, Weiss HJ, Shattil SJ. Assembly of the platelet prothrombinase complex is linked to vesiculation of the platelet plasma membrane: studies in Scott syndrome: an isolated defect in platelet procoagulant activity. *J Biol Chem* 1989; 264: 17049-17057.
220. Simsek S, Bleeker PMM, van der Schoot CE, von dem Borne AEGKr. Association of a variable number of tandem repeats (VNTR) in glycoprotein I β and HPA-2 alloantigens. *Thromb Haemost* 1994; 72: 757-761.
221. Sixma JJ. Interaction of blood platelets with the vessel wall. In: Bloom A, Forbes CD (eds.). *Haemostasis and Thrombosis*. 3rd ed., Churchill Livingstone 1994: 259-285.
222. Smith JW, Steinhubl SR, Lincoff AM, Coleman JC, Lee TT, Hillman RS, Collier BS. Rapid platelet-function assay: an automated and quantitative cartridge-based method. *Circulation* 1999; 99: 620-625.
223. Sperr WR, Huber K, Roden M. Inherited platelet glycoprotein polymorphisms and a risk for coronary heart disease in young central Europeans. *Thromb Res* 1998; 90: 117-123.

224. Srivastara R, Srimal RC. Amplification of platelet response during acute inflammation in rats. *Biochem Pharmacol* 1990; 40: 357-363.
225. Stiegler HM, Fischer Y, Steiner S. Thrombocytopenia and glycoprotein IIb-IIIa receptor antagonists. *Lancet* 1999; 353: 1185.
226. Tarnok A, Mahnke A, Muller M, Zotz RJ. Rapid in vitro biocompatibility assay of endovascular stents by flow cytometry using platelet activation and platelet-leukocyte aggregation. *Cytometry* 1999; 38: 30-39.
227. Taub R, Gould RJ, Garsky VM, Ciccarone TM, Hoxie J, Friedman PA, Shattil SJ. A monoclonal antibody against the platelet fibrinogen receptor contains a sequence that mimics a receptor recognition domain in fibrinogen. *J Biol Chem* 1989; 264: 259-271.
228. Tcheng JE. Differences among the parenteral platelet glycoprotein IIb/IIIa inhibitors and implications for treatment. *Am J Cardiol* 1999; 83: 7E-11E.
229. Tcheng JE. Clinical challenges of platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor inhibitor therapy: Bleeding, reversal, thrombocytopenia, and retreatment. *Am Heart J* 2000; 140: 74-80.
230. Tenaglia AN, Fortin DF, Frid DJ, et al. Long-term outcome following successful reopening of abrupt closure after coronary angioplasty. *Am J Cardiol* 1993; 72: 21-25.
231. The CAPTURE Investigators. Randomized placebo-controlled trial of abciximab before and during coronary intervention in refractory unstable angina: the CAPTURE study. *Lancet* 1997; 349: 1429-1435.
232. The EPIC Investigators. Use of a monoclonal antibody directed against the platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor in high-risk coronary angioplasty. The EPIC investigation. *N Engl J Med* 1994; 330: 956-961.
233. The EPILOG Investigators. Platelet glycoprotein IIb/IIIa receptor blockade and low-dose heparin during percutaneous coronary revascularization. *N Engl J Med* 1997; 336: 1689-1696.
234. The EPISTENT Investigators. Evaluation of platelet IIb/IIIa inhibitor for stenting. Randomised placebo-controlled and balloon-angioplasty-controlled trial to assess safety of coronary stenting with use of platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade. *Lancet* 1998; 352: 87-92.
235. The IMPACT-II Investigators. Randomised placebo-controlled trial of effect of eptifibatid on complications of percutaneous coronary intervention. IMPACT-II. *Lancet* 1997; 349: 1422-1428.
236. The RAPPORT Investigators. Randomized, placebo-controlled trial of platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade with primary angioplasty for acute myocardial infarction. *Circulation* 1998; 98: 734-741.

237. The RESTORE Investigators. Effects of platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade with tirofiban on adverse cardiac events in patients with unstable angina in acute myocardial infarction undergoing coronary angioplasty. *Circulation* 1997; 96: 1445-1453.
238. Theroux P, White H, David D, van de Werf F, Nienaber CA, Charbonnier B, Erhardt L, Gill J, Hillis S, Jennings G, Tan L, Deschenes N, Fitzpatrick V, Sax FL. A heparin-controlled study of MK-383 in unstable angina [abstract]. *Circulation* 1994; 90: Suppl. I: I-231.
239. Theroux P, Kouz S, Roy L et al. Platelet membrane receptor glycoprotein IIb/IIIa antagonism in unstable angina. *Circulation* 1996; 94: 899-905.
240. Tomiyama Y, Take H, Ikeda H, Mitani T, Furubayashi T, Mizutani H, Yamamoto N, Tandon NN, Sekiguchi S, Jamieson GA, Kurata Y, Yonezawa T, Tarui S. Identification of the platelet-specific alloantigen, Nak^a, on platelet membrane glycoprotein IV. *Blood* 1990; 75: 684-687.
241. Topol EJ. Caveats about elective coronary stenting. *N Engl J Med* 1994; 331: 539-541.
242. Topol EJ, Mark DB, Lincoff AM, Cohen E, Burton J, Kleiman N, Talley D, Sapp S, Booth J, Cabot CF, Anderson KM, Califf RM. Outcomes at 1 year and economic implications of platelet glycoprotein IIb/IIIa blockade in patients undergoing coronary stenting: results from a multicentre randomised trial. EPISTENT Investigators. Evaluation of Platelet IIb/IIIa Inhibitor for Stenting. *Lancet* 1999; 354: 2019-2024.
243. Tschoepe D, Schultheiß HP, Kolarov P, Schwippert B, Dannehl K, Nieuwenhuis HK, Kehrel B, Strauer B, Gries FA. Platelet membrane activation markers are predictive for increased risk of acute ischemic events after PTCA. *Circulation* 1993; 88: 37-42.
244. Unkelbach K, Kalb R, Santoso S, Kroll H, Mueller-Eckhardt C, Kiefel V. Genomic RFLP typing of human platelet alloantigens Zw (PI^A), Ko, Bak and Br (HPA-1, 2, 3, 5). *Brit J Haematol* 1995; 89: 169-176.
245. van den Brand M, Laarman GJ, Steg PG, De Scheerder I, Heyndrickx G, Beatt K, Kootstra J, Simoons ML. Assessment of coronary angiograms prior to and after treatment with abciximab, and the outcome of angioplasty in refractory unstable angina patients. Angiographic results from the CAPTURE trial. *Eur Heart J* 1999; 20: 1572-1578.
246. Vijayan KV, Goldschmidt Clermont PJ, Roos C, Bray PF. The PI^{A2} polymorphism of integrin β_3 enhances outside-in signaling and adhesive functions. *J Clin Invest* 2000; 105: 793-802.
247. von dem Borne AEGKr, Ouwehand H. Immunology of platelet disorders. *Baillière's Clin Haematol* 1989; 2: 749-781.
248. Ware JA, Helstad DD. Platelet-endothelium interactions. *N Engl J Med* 1993; 328: 628-635.

249. Warkentin TE, Powling MJ, Hardisty MR. Measurement of fibrinogen binding to platelets in whole blood by flow cytometry: a micromethod for the detection of platelet activation. *Br J Haematol* 1990; 76: 387-394.
250. Weiss EJ, Bray PF, Tayback M, Schulman SP, Kickler TS, Becker LC, Weiss JL, Gerstenblith G, Goldschmidt-Clermont PF. A polymorphism of a platelet glycoprotein receptor as an inherited risk factor for coronary thrombosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 1090-1094.
251. Weiss HJ. Von Willebrand factor and platelet function. In: Ruggeri ZM (Ed.), Fulcher CA, Ware J. *Progress in vascular biology, haemostasis, and thrombosis.* *Annals of NY Acad Sci* 1994; 614: 125-137.
252. White G. Anatomy and structural organization of the platelet. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW (eds.). *Haemostasis and Thrombosis: Basic principles and clinical practice.* 2nd ed. Philadelphia, JB Lippincott 1987: 397-413.
253. Woods VL, Wolff LE, Keller DM. Resting platelets contain a substantially centrally located pool of glycoprotein GPIIb/IIIa complex which may be accessible to some but not other extracellular proteins. *J Biol Chem* 1986; 261: 15242.
254. Zotz RB, Winkelmann BR, Nauck M. Polymorphism of platelet membrane glycoprotein IIIa: Human platelet antigen 1b (HPA-1b/PI^{A2}) is an inherited risk factor for premature myocardial infarction in coronary artery disease. *Thromb Haemost* 1998; 79: 731-735.

8. Curriculum Vitae

Name: Petra Margaretha Elias
Nationalität: deutsch
Geburtsdatum: 25.06.1974
Geburtsort: Landshut
Familienstand: ledig
Anschrift: Englbergweg 60, 84036 Landshut

Schulbildung:

1984 - 1993 Hans-Leinberger-Gymnasium, Landshut
Juni 1993 Abitur

Studium:

Okt. 1993 - Sept. 1995 Vorklinischer Unterricht, LMU München
August 1995 Ärztliche Vorprüfung
Okt. 1995 - Sept. 1998 Klinischer Unterricht, LMU München
August 1996 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Oktober 1996 1. Amerikanisches Staatsexamen (USMLE Step 1)
August 1998 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
November 1999 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Famulaturen:

Oktober 1995 Allg. Chirurgie, Klinikum Landshut
März 1996 Gynäkologie u. Geburtshilfe, Kreiskrankenhaus Landshut-
Achdorf
Sept./Okt. 1996 Kardiologie, Hammersmith Hospital, London, G.B.
April 1997 Allgemeinarztpraxis, Dr. Langgärtner, Loiching

Praktisches Jahr:

01.10.1998 - 31.01.1999 Chirurgie, Universitätsspital Zürich, Schweiz
01.02.1999 - 28.03.1999 Innere Medizin, Harvard Medical School, Boston, U.S.A.
29.03.1999 - 23.05.1999 Innere Medizin, Yale University, New Haven, U.S.A.
31.05.1999 - 19.09.1999 Gynäkologie u. Geburtshilfe, Klinikum Großhadern,
München

AIP:

seit 04.02.2000 Gynäkologie u. Geburtshilfe, Klinikum Landshut

Sprachen:

Englisch, Französisch, Italienisch

9. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Privatdozent Dr. med. Meinrad Paul Gawaz für die freundliche Überlassung des faszinierenden Dissertationsthemas, die Vermittlung detaillierter Kenntnisse der Thrombozytenphysiologie und die stets motivierende und zeitintensive Betreuung bei der Durchführung und Abfassung dieser Arbeit. Gerne werde ich mich an die Zeit als Doktorandin zurückerinnern, die wesentlich meine medizinische Ausbildung prägte und mein wissenschaftliches Verständnis förderte und erweiterte.

Frau Dr. med. Gisela Pogatsa-Murray und Frau Kirsten Langenbrink danke ich herzlichst für ihre Unterstützung bei der Durchführung der experimentellen Arbeiten.