

Häufigkeit und Profil der ASS-Resistenz bei
chronischen Hämodialyse-Patienten im Vergleich zu
gesunden Probanden

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Julia Hentrich

geboren am 05.02.1985 in Mühlhausen

Gutachter

1.

2.

3.

Tag der öffentlichen Verteidigung:

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis.....	IX
Zusammenfassung.....	1
1 Einleitung.....	3
1.1 Kurzer Überblick über Geschichte und Prinzipien der Hämodialyse.....	3
1.2 Dialyseverfahren.....	3
1.2.1 Hämodialyse.....	4
1.2.2 Hämofiltration.....	5
1.2.3 Hämodiafiltration.....	5
1.2.4 Peritonealdialyse.....	5
1.3 Einfluss von Urämie und Dialyse auf das Thrombozytenverhalten.....	6
1.4 Die Genese und Morphologie der Thrombozyten.....	7
1.4.1 Thrombozytenaktivierung und Prozesse der Thrombozytenadhäsion.....	8
1.4.2 Sekretion der Thrombozyteninhalte und deren Effekt auf das Mikromilieu.....	10
1.4.3 Die Thrombozytenaggregation.....	12
1.5 Intervention in die Hämostaseologie.....	13
1.5.1 Heparin.....	13
1.5.2 Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II.....	13
1.5.3 Acetylsalicylsäure: Historischer Rückblick und Entwicklung.....	15
1.5.4 Wirkmechanismus der Acetylsalicylsäure.....	16
1.5.5 Pharmakologie der Acetylsalicylsäure.....	17
1.5.6 Pathologie der Acetylsalicylsäure.....	17
2 Hintergründe und Fragestellung.....	20
2.1 PADA.....	20
2.2 PADA-HIT.....	20
2.3 PADA-RASS.....	20

3 Methodik.....	21
3.1 Patienten und Probanden.....	21
3.2 Material und Methoden.....	24
3.2.1 Materialien und Reagenzien.....	24
3.2.2 Entnahme der Blutproben.....	26
3.2.3 PADA-Prinzip.....	26
3.2.4 PADA-HIT-Prinzip.....	30
3.2.5 PADA-RASS-Prinzip.....	32
3.2.6 Durchführung PADA und PADA-HIT.....	35
3.2.7 Durchführung PADA-RASS.....	36
3.2.8 Statistische Auswertung.....	36
4 Ergebnisse.....	38
4.1 PADA.....	38
4.1.1 PADA-Daten der gesunden Probanden.....	38
4.1.2 PADA der gesunden Probanden in Bezug zu ausgewählten Biovariablen.....	39
4.1.2.1 PADA in Bezug zu metrischen Merkmalen.....	39
4.1.2.2 PADA in Bezug zu binären Merkmalen.....	40
4.1.3 PADA-Daten der Dialysepatienten.....	41
4.1.4 PADA der Dialysepatienten in Bezug zu ausgewählten Biovariablen.....	42
4.1.4.1 PADA in Bezug zu metrischen Merkmalen.....	42
4.1.4.2 PADA in Bezug zu binären Merkmalen.....	42
4.1.5 Vergleich der PADA-Werte von gesunden Probanden und Dialysepatienten.....	44
4.1.5.1 Deskriptive Statistik der PADA-Werte.....	44
4.1.5.2 Lineare Regression zur Überprüfung des Einflusses von Alter und Geschlecht auf die PADA-AI.....	46
4.1.5.3 PADA-Werte beider Studienpopulationen in Bezug zu binären Merkmalen....	47

4.2 PADA-HIT.....	50
4.2.1 PADA-HIT der gesunden Probanden.....	50
4.2.1.1 Deskriptive Statistik der Heparin-AI der gesunden Probanden.....	50
4.2.1.2 HIT II-Profil der gesunden Probanden.....	51
4.2.2 HIT II-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu ausgewählten Biovariablen....	52
4.2.2.1 HIT II-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu metrischen Merkmalen....	52
4.2.2.2 HIT II-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu binären Merkmalen.....	52
4.2.3 PADA-HIT der Dialysepatienten.....	54
4.2.3.1 Deskriptive Statistik der Heparin-AI der Dialysepatienten.....	54
4.2.3.2 HIT II-Profil der Dialysepatienten.....	55
4.2.4 HIT II-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu ausgewählten Biovariablen.....	56
4.2.4.1 HIT II-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu metrischen Merkmalen.....	56
4.2.4.2 HIT II-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu binären Merkmalen.....	56
4.2.5 Vergleich HIT II-Profil der gesunden Probanden und Dialysepatienten.....	57
4.2.5.1 Vergleich der Heparin-Adhäsionsindices zwischen den Studienpopulationen.	57
4.2.5.2 Vergleich der Verteilung der Heparin-AI-Werte der beiden Studienkollektive	58
4.2.5.3 HIT II-Häufigkeit im Vergleich der Studienpopulationen.....	58
4.2.5.4 Binär logistische Regression zur Überprüfung des Einflusses von Alter und Geschlecht auf den HIT II-Status.....	59
4.3 PADA-RASS.....	61
4.3.1 PADA-RASS-Profil der gesunden Probanden.....	61
4.3.2 ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu ausgewählten Biovariablen.....	61
4.3.2.1 ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu metrischen Merkmalen.....	61
4.3.2.2 ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu binären Merkmalen.....	63

4.3.3 PADA-RASS-Profil der Dialysepatienten.....	63
4.3.4 ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu ausgewählten Biovariablen	65
4.3.4.1 ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu metrischen Merkmalen	65
4.3.4.2 ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu binären Merkmalen..	66
4.3.5 ASS-Resistenz-Profil im Vergleich beider Studienpopulationen.....	68
4.3.5.1 Verteilung der ASS-Resistenz-Profile.....	68
4.3.5.2 Multinomiale logistische Regression zur Überprüfung des Einflusses von Alter und Geschlecht auf den ASS-Resistenz-Status.....	69
4.3.5.3 ASS-Resistenz-Profil der Studienpopulationen in Bezug zu ausgewählten binären Merkmalen.....	70
4.4 Überprüfung von Einflussfaktoren auf die Messergebnisse des PADA-RASS.....	75
4.4.1 Untersucher.....	75
4.4.2 Partikelchargen.....	75
4.4.3 Zeitpunkt der Messungen.....	75
4.4.3.1 Datum der Blutentnahmen.....	76
5 Diskussion.....	77
5.1 Spezifische Einflussfaktoren dialysepflichtiger Patienten auf den PADA- Adhäsionsindex.....	77
5.1.1 Die Dialysesituation.....	77
5.1.2 Die Urämie.....	78
5.1.3 Der PADA-Adhäsionsindex der dialysepflichtigen Patienten in Korrelation zu verschiedenen Erkrankungen.....	79
5.1.4 Der PADA-Adhäsionsindex im Vergleich der Studienkollektive in Korrelation zu verschiedenen Erkrankungen.....	79
5.1.4.1 Hypertonie.....	80
5.1.4.2 Artherosklerose und deren Folgeerkrankungen.....	80

5.1.4.3 Diabetes mellitus Typ II.....	81
5.1.4.4 Maligne Erkrankungen.....	81
5.2 Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II.....	83
5.2.1 PADA-HIT im Vergleich der Studienkollektive und Diskussion relevanter Einflussfaktoren.....	83
5.2.1.1 Regelmäßige bzw. vorherige Heparinapplikationen.....	83
5.2.1.2 Geschlechtsspezifische Unterschiede.....	83
5.2.2 Prävalenz HIT II-positiver Befunde bei verschiedenen Nachweismethoden.....	84
5.2.3 PADA-HIT.....	85
5.2.4 Konsequenzen HIT II-positiver Testergebnisse und alternative Möglichkeiten der Antikoagulation.....	86
5.3 ASS-Resistenz.....	88
5.3.1 Diskussion der ASS-Resistenz.....	88
5.3.2 Prävalenz und Einflussfaktoren der ASS-Resistenz gesunder Probanden.....	88
5.3.2.1 Genetische Einflussfaktoren.....	88
5.3.2.2 Physischer und psychischer Stress.....	89
5.3.3 Prävalenz und Einflussfaktoren der ASS-Resistenz dialysepflichtiger Patienten....	89
5.3.4 ASS-Resistenz im Vergleich der Studienkollektive und in Korrelation zu verschiedenen Erkrankungen.....	90
5.3.5 ASS-Resistenz im Vergleich der Studienkollektive und in Korrelation zu individuellen Einflussfaktoren.....	90
5.3.5.1 Interaktion von ASS mit NSAR.....	91
5.3.5.2 Gestörte Pharmakologie und Noncompliance.....	91
5.3.5.3 Zelluläre Einflussfaktoren.....	92
5.3.6 Nachweismethoden der ASS-Resistenz.....	93
5.3.6.1 Licht-Transmissionsaggregometrie.....	93
5.3.6.2 Vollblutaggregometrie.....	94

5.3.6.3 11-Dehydro-Thromboxan-B2-Bestimmung im Urin.....	94
5.3.6.4 VerifyNow Aspirin®-Test.....	95
5.3.6.5 PFA-100®	95
5.3.7 PADA-RASS.....	96
6 Schlussfolgerung.....	100
7 Literaturverzeichnis.....	102
8 Anhang.....	119
8.1 Probandenaufklärungen.....	119
8.2 Probandeninformation und Einverständniserklärung.....	122
8.3 Fragebogen.....	123
8.4 Veröffentlichungen im Rahmen dieser Arbeit.....	125
8.5 Tabellarischer Lebenslauf.....	126
8.6 Danksagung.....	129
8.7 Ehrenwörtliche Erklärung	130

Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
ADP	Adenosindiphosphat
AI	Adhäsionsindex/Adhäsionsindices
AK	Antikörper
AMP	Adenosinmonophosphat
ANOVA	analysis of variance
aPTT	aktivierte partielle Thromboplastinzeit
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
AT III	Antithrombin III
AV-Block	Atrioventrikulärer Block
Ca ²⁺	Calciumionen
CD40L	CD40-Ligand
CHARISMA-Studie	Clopidogrel for High Atherothrombotic Risk and Ischemic Stabilization, Management and Avoidance study
cm ²	Quadratcentimeter
COX	Cyclooxygenase
Da	Dalton
DTS	dense tubular systeme
dyn	CGS-Einheit der Kraft
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
GP	Glykoprotein
g/l	Gramm/Liter
HGB	Hämoglobin
HIT II	Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II
HIPA	Heparin-Induced Platelet Aggregation Assay
HOPE-Studie	Heart Outcome Prevention Evaluation study
I.E.	Internationale Einheit
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
i.v.	intravenös

KfH	Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e.V.
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low Density Lipoprotein
LTA	Licht-Transmissionsaggregometrie
mg	Milligramm
ml	Milliliter
mm	Millimeter
MW	Mittelwert
µm	Mikrometer
N	Anzahl
NaCl	Natriumchlorid
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
PADA	Platelet Adhesion Assay
PADA-HIT	Platelet Adhesion Assay Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II
PADA-RASS	Platelet Adhesion Assay Reaktion auf ASS
PAF	Plättchen-aktivierender Faktor
PAR	Protease-aktivierter Rezeptor
PAT	Platelet Aggregation Test
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PFA-100®	Platelet Function Analyzer-100®
PF4	Plättchenfaktor 4
pH	potentia Hydrogenii
PLZ	Plättchenzahl
PRASA	Paradoxical Reaction On ASA
PRP	Plättchenreiches Plasma
PSGL-1	P-Selektin-Glycoprotein-Ligand-1
SD	Standardabweichung
TF	tissue factor
TNF-α	Tumornekrosefaktor-α
TXA ₂	Thromboxan A ₂

VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
vWF	von-Willebrand-Faktor
WBC	white blood cells
Z.n.	Zustand nach
11-deydro-TXB ₂	11-dehydro-Thromboxan-B ₂
¹⁴ C-SRA	¹⁴ C-serotonin release assay

Zusammenfassung

In der Hämostaseologie stellen die Thrombozyten einen entscheidenden Part physiologischer, aber auch pathologischer Gerinnungsprozesse dar. Daher ist es wichtig, in speziellen Konstellationen die Funktion der Thrombozyten pharmakologisch steuern zu können. Hierzu ist die Verwendung von Acetylsalicylsäure (ASS) in der klinischen Praxis weit verbreitet und spielt eine entscheidende Rolle im Rahmen der primären und sekundären Thromboseprophylaxe. Das Wirkprinzip der Acetylsalicylsäure führt zu einer irreversiblen Hemmung der Thrombozytenfunktion, indem sie deren Cyclooxygenasemolekül (COX) acetyliert. Damit wird die Thromboxan A₂-Synthese (TXA₂) und somit die Aggregation blockiert. Der aktuelle Forschungsstand verdeutlicht jedoch, dass ein nicht unerheblicher Prozentsatz der so behandelten Patienten von der ASS-Therapie nicht profitiert und dennoch ein kardiovaskuläres Ereignis erleidet. Seit langem wird daher in der Fachliteratur über die ASS-Resistenz diskutiert und bisher werden recht divergente Ergebnisse erzielt.

Das Ziel dieser Studie bestand in der Darstellung der Prävalenz der ASS-Resistenz bei dialysepflichtigen Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden. Es wurde eruiert, ob zwischen diesen beiden Studienkollektiven ein signifikanter Prävalenzunterschied besteht und ob Zusammenhänge zwischen dem Resistenzstatus und binären sowie metrischen Merkmalen darstellbar sind.

Zum Nachweis der ASS-Resistenz wurde der PADA-RASS (platelet adhesion assay - Reaktion auf ASS) genutzt, mit dessen Hilfe es möglich ist, Messungen im Heparinblut und nach Zugabe von ASS durchzuführen, um dadurch das Ansprechen der Thrombozyten auf ASS zu analysieren. Dabei wurde die Thrombozytenantwort in drei Gruppen unterteilt: ASS-Responder, ASS-Nonresponder und PRASA (paradoxical reaction on ASA).

Zusätzlich wurden der PADA (platelet adhesion assay) und PADA-HIT (HIT: Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II) genutzt, um erfassen zu können, ob der Aktivitätszustand der Thrombozyten und die Prävalenz von HIT II-Antikörpern (AK) signifikante Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Populationen zeigen. Auch hierbei wurde auf Zusammenhänge mit den oben erwähnten Merkmalen geachtet.

Der PADA verwendet zwei durch Citrat antikoagulierte Vollblutproben, aus denen der aktuelle Adhäsionsindex (AI) der zirkulierenden Thrombozyten ermittelt wird.

Für den PADA-HIT wurden parallel zu den zwei Citratblutproben des PADA zwei Heparinblutproben nach dem selben Prinzip untersucht und der berechnete Heparin-Adhäsionsindex mit dem Citrat-Adhäsionsindex der Thrombozyten verglichen.

Die Auswertung des PADA zeigte, dass sich die Citrat-Adhäsionsindices der Dialysepatienten im Mittel signifikant höher darstellten als die der gesunden Probanden. Des Weiteren wurden bezüglich der Zweiterkrankungen und der dabei gemessenen PADA-Adhäsionsindices signifikante Unterschiede zwischen den Studienkollektiven ermittelt.

Die Analyse des PADA-HIT wies bei den dialysepflichtigen Patienten ein signifikant häufigeres Vorkommen von HIT II-Antikörpern auf.

Die Auswertung des PADA-RASS ergab bei den Dialysepatienten 19,7% ASS-Responder, im Vergleich dazu waren es 26,7% in der gesunden Kontrollgruppe. Als ASS-Nonresponder zeigten sich 21,1% der dialysepflichtigen Patienten und 35,6% der gesunden Probanden. Eine PRASA fand sich bei 59,2% der Dialysegruppe und bei 37,6% der Probanden. Insgesamt präsentierte sich zwischen den beiden Gruppen ein statistisch signifikanter Unterschied des ASS-Resistenz-Status und bezüglich des ASS-Resistenz-Profiles statistisch signifikante Zusammenhänge zu zahlreichen Erkrankungen.

Zusammenfassend zeigte sich, dass die Patienten neben der Dialysetherapie eine große Anzahl kardiovaskulärer und metabolischer Erkrankungen aufwiesen mit einer signifikant gesteigerten Thrombozytenaktivität. Ob dies ursächlich für die Krankheiten ist oder einen Folgezustand darstellt, ist im Moment noch nicht definitiv zu klären. Entscheidend scheint jedoch, dass diese Studie bei dialysepflichtigen Patienten erstmals diese stark erhöhten, pathologischen Aktivitäten der Thrombozyten erfasst und mit dem Nichtansprechen der ASS-Therapie und dem gesteigerten Vorkommen von HIT II-Antikörpern korreliert. Die ermittelten Ergebnisse sollten zu weiterführenden Studien Anlass geben, um Ursachen und klinische Relevanz zu eruieren und so die hier vorgestellten Resultate gegebenenfalls zu bestätigen. Damit könnte bei konsequenter Weiterverfolgung dieser Thematik durch die spezifische PADA-Thrombozytenfunktionsdiagnostik ein Beitrag zur ASS-Resistenzforschung sowie eine Indikation für Heparin als Antikoagulanzen geleistet werden. Dadurch würde die Generierung einer individuellen Thrombose- und Embolieprophylaxe/-therapie bei dialysepflichtigen Patienten ermöglicht werden.

1 Einleitung

1.1 Kurzer Überblick über Geschichte und Prinzipien der Hämodialyse

Bei dialysepflichtigen Patienten liegt eine chronische Niereninsuffizienz im Stadium V vor. Sie spiegelt den Zustand einer permanenten Schädigung der glomerulären und tubulären Funktion des Nephrons und ebenso der endokrinen Funktionen der Nieren wider. Infolgedessen kommt es zu einer gestörten Exkretion von Wasser, Elektrolyten und Protonen und darüber hinaus zu einer Ansammlung von toxischen Stoffwechselendprodukten im Blut. Hierzu zählen Harnstoff, Kreatinin, Harnsäure und weitere Urotoxine (Grabensee 2002). Diese Situation wird als Urämie bezeichnet und würde unbehandelt letal enden. Die am häufigsten genutzte Therapieform gegen die Urämie stellt die regelmäßige Hämodialyse dar. Dies ist ein Nierenersatzverfahren, das dazu dient, harnpflichtige Substanzen und überschüssige Flüssigkeit aus dem Körper zu entfernen. Es stellte in der Medizin das erste Verfahren dar, dass ein Langzeitüberleben durch externe Übernahme einer Organfunktion ermöglichte.

1924 wurde die erste fünfzehnminütige Hämodialyse von Georg Haas realisiert (Haas 1926). Doch erst die Weiterentwicklung durch Willem Kolff, der 1945 ein Trommeldialysegerät mit Zellophan-Schläuchen als Dialysemembran entwickelte, führte mit technischen Hilfsmitteln, Pumpensystemen sowie größeren Austauschflächen zur Elimination harnpflichtiger Substanzen, die die Patienten ihr Nierenversagen überleben ließen und eine kontrollierte Blutreinigung von festgelegten Stoffmengen ermöglichte (Kolff und Watschinger 1956). 1949 konzipierte der Schwede Nils Alwall ein Dialysegerät, das es gestattete, auch Ödemflüssigkeit aus Lungen und Interstitium zu entfernen (Alwall et al. 1949). Seither wurden die Hämodialysegeräte stetig verbessert, so dass zum jetzigen Zeitpunkt ein hohes Maß an Effizienz und Sicherheit im Gebrauch der Geräte gewährleistet ist.

1.2 Dialyseverfahren

Die Dialyseverfahren werden in extrakorporale und nicht-extrakorporale Verfahren unterteilt. Die am häufigsten verwendete extrakorporale Methode stellt die Hämodialyse dar. Weiterhin stehen die Hämofiltration, Hämodiafiltration sowie die Hämo-perfusion zur Verfügung, wobei die Hämo-perfusion kein Nierenersatzverfahren, sondern eine Therapie bei akuten

Vergiftungen darstellt. Als nicht-extrakorporales Verfahren existiert die Peritonealdialyse (Grabensee 2002).

1.2.1 Hämodialyse

Die gegenwärtig bei der Hämodialyse angewandten Prinzipien umfassen unter anderem die Diffusion, Osmose, Ultrafiltration und Konvektion. Mit Hilfe der Diffusion können gelöste Teilchen (harnpflichtige Substanzen und Elektrolyte) aus dem Blut in das Dialysat wandern, wobei ein Konzentrationsgefälle die dafür notwendige Kraft darstellt. Entsprechend der Osmose sind die beiden Flüssigkeiten durch eine semipermeable Membran getrennt, durch die nur Moleküle diffundieren können, die die Größe der Poren in der Dialysemembran nicht überschreiten. Zusätzlich erlaubt der Konzentrationsgradient entlang der Membran den Austausch von Wasser. Eine weitere Option des Dialysegerätes ist die Erzeugung eines hydrostatischen Druckunterschiedes, wodurch per Ultrafiltration eine Flüssigkeitsverschiebung erfolgen kann und dabei zur gleichen Zeit gelöste Teilchen durch Konvektion transportiert werden. Bevor mit der dauerhaften Hämodialysebehandlung begonnen werden kann, müssen ein ausreichendes Blutvolumen, die Kreislaufstabilität unter der Volumenmehrbelastung und ein permanenter Zugang am Patienten gesichert sein. Der Zugang erfolgt optimalerweise durch die operative Anlage eines arteriovenösen Shunts (Cimino-Shunt) am Unter- oder Oberarm. Bei akutem Nierenversagen oder wenn die Anlage eines Cimino-Shunts nicht möglich ist, können Vorhofkatheter, zentralvenöser Katheter beziehungsweise Gefäßprothesen (Goretex) eingesetzt werden (Grabensee 2002, Cimino 2007).

Im Rahmen der Hämodialyse wird das Blut des Patienten im Dialysator durch mikrokapilläre Dialysemembranen gepumpt, die von der Dialyseflüssigkeit umspült werden, und dabei von Abbauprodukten des Stoffwechsels und weiteren niedermolekularen Stoffen gereinigt. Anschließend wird das „dialysierte“ Blut dem Patienten wieder zugeführt. In dieser Zeit fließt permanent frisches Dialysat auf der äußeren Seite der semipermeablen Membran durch den Dialysator. Weiterhin kann dem Blut, wie bereits oben erwähnt, durch die Erzeugung eines hydrostatischen Drucks überschüssige Flüssigkeit entzogen und somit die natürliche Diuresefunktion der Nieren imitiert werden. Eine Dialysebehandlung dauert meist mehrere Stunden und wird dreimal pro Woche durchgeführt (Grabensee 2002).

1.2.2 Hämofiltration

Die Hämofiltration basiert auf dem Prinzip der Ultrafiltration. Das heißt, dem Blut wird mit Hilfe eines Druckgradienten Flüssigkeit entzogen und dabei membrangängige Stoffe mit entfernt. Die abfiltrierte Plasmaflüssigkeit wird durch eine blutisotone Elektrolytlösung ersetzt. Hierbei kann eine kontrollierte Entgiftung, aber ebenso eine rasche Änderung des Plasmavolumens realisiert werden (Depner 2008, Henderson und Leypoldt 1986).

1.2.3 Hämodiafiltration

Bei diesem Dialyseverfahren werden die Prinzipien der Hämodialyse und -filtration, miteinander kombiniert. Mit Hilfe der Hämodiafiltration kann die Beseitigung sowohl von niedermolekularen als auch von höhermolekularen Stoffen realisiert werden, wobei eine effektivere Entfernung der Stoffwechselabbauprodukte gelingt. Die entzogene Plasmaflüssigkeit wird durch physiologische Elektrolytlösung ersetzt. Die Hämodiafiltration wird vorrangig bei chronischer Niereninsuffizienz genutzt, aber auch intensivmedizinisch betreute Patienten mit akutem Nierenversagen können von diesem Dialyseverfahren profitieren (Henderson 2007, Henderson 1979).

1.2.4 Peritonealdialyse

Die Peritonealdialyse arbeitet nach dem Prinzip der Hämodialyse, jedoch finden der Abtransport der niedermolekularen Stoffe und der Flüssigkeitsentzug in der Bauchhöhle statt. Die hierfür benötigte Filtermembran stellt das Peritoneum dar. Diese sehr gut durchblutete seröse Haut stellt günstige Voraussetzungen für eine Austauschmembran dar. Mit Hilfe eines Katheters, der dem Patienten operativ in die Bauchwand eingesetzt wurde, wird die Dialysierflüssigkeit in den Bauchraum eingebracht und zwischen den Blutgefäßen des Peritoneums und der eingefüllten Lösung erfolgt der Übertritt der harnpflichtigen Substanzen. Die Entwässerung findet entlang eines osmotischen Gradienten statt, der durch Zugabe von Glukose in die Dialysierflüssigkeit erzeugt wird. Die Glukosekonzentration kann individuell angepasst werden, so dass der osmotische Druck variiert und unterschiedlich große Mengen Flüssigkeit entzogen werden können. Pro Peritonealdialyse werden ca. 2 – 3,5 Liter sterile Flüssigkeit in die Bauchhöhle eingebracht, nach 4 – 6 Stunden entfernt und durch frisches Dialysat ersetzt. Als Vorteile der Peritonealdialyse gelten die kontinuierliche Entgiftung und

Diurese, die eher den physiologischen Vorgängen im Körper entsprechen als die Hämodialyse. Weiterhin ist der Patient weitgehend unabhängig von einem Dialysezentrum und kann seinen Tagesablauf individuell gestalten. Die Nachteile des Verfahrens bestehen in der erhöhten Gefahr einer Peritonitis und den pathologischen Veränderungen des Peritoneums, die im Rahmen der Behandlung auftreten können. Dabei kommt es zu abnehmender Entgiftungsleistung, zunehmender Resorption von Wasser, Natrium und Glukose aus dem Dialysat und einem kontinuierlichem Proteinverlust. Meist wird infolgedessen ein Regimewechsel zur Hämodialyse notwendig (Oreopoulos et al. 2008, Grabensee 2002).

1.3 Einfluss von Urämie und Dialyse auf das Thrombozytenverhalten

Die Patienten werden durch die Dialysebehandlungen, Urämie und meist zahlreichen weiteren Erkrankungen kontinuierlich Störungen ihres Hämostasegleichgewichts ausgesetzt.

Auf die Thrombozyten (Plättchen) wirken innerhalb des Dialysegerätes unterschiedliche Flussgeschwindigkeiten und -drücke ein, was gleichbedeutend mit einem hohem Scherstress zu sehen ist. Weiterhin ist die Dialysetechnik mit einer Vielzahl von Fremdoberflächen verbunden, mit denen das Blut im Laufe der Behandlung interagiert. Hierzu zählen unter anderem die Punktionskanüle, die semipermeable Dialysemembran und das Schlauchsystem. Durch das Erzeugen einer negativen Ladung an der Oberfläche dieser Membranen wird versucht, den Verhältnissen am Endothel zu entsprechen, was jedoch nur zu einem gewissen Grad gelingt und eine Aktivierung der Thrombozyten lediglich verringert (Ulbricht 2001, Matsuda 1989, Nowak 1996, Deppisch 1997). Einen weiteren Faktor stellt diesbezüglich die Urämie dar. Sie entspricht einer chronischen geringgradigen Entzündungssituation, die neben den Thrombozyten auch die Gefäßwände sowie Immunzellen alteriert und somit eine hyperkoagulable Situation hervorrufen kann (Glorieux et al. 2009, Vanhoulde et al. 2009). Die Frage, die im Rahmen dieser Studie beantwortet werden soll, lautet, ob die dialysepflichtigen Patienten neben der prothrombotischen Situation, der sie durch die Dialysen und ihre Grunderkrankungen ausgesetzt sind, zusätzlich noch die Gefahr einer Thrombose durch Thrombophiliefaktoren wie Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II (HIT II) und/oder eine Resistenz gegen Acetylsalicylsäure (ASS) aufweisen. Da die Thrombozyten hierbei eine ursächliche Funktion haben, ist die profunde Kenntnis ihrer Morphologie und der daraus resultierenden Konsequenzen essentiell.

1.4 Die Genese und Morphologie der Thrombozyten

Thrombozyten haben zentrale Funktionen in physiologischen und pathologischen Gerinnungsprozessen (Kehrel 2008). Sie stellen spezialisierte Zellen dar, die sich an der angeborenen Immunantwort beteiligen und Interaktionen mit Leukozyten und Monozyten bzw. Partizipation an der Proliferation von Tumoren zeigen (Jurk und Kehrel 2005, Celi et al. 1997, Gupta und Massagué 2004).

Die Thrombozyten werden im Knochenmark aus Pseudopodien der Megakaryozyten gebildet. Sie präsentieren sich als kernlose Zellfragmente, die in Ruhe eine bikonvexe Form mit einem Durchmesser von 2 - 3 μm haben und für eine Lebensspanne von 7 - 10 Tagen im Organismus zirkulieren (McNicol und Israels 2003). Die Gesamtkonzentration der Thrombozyten im Blut liegt in der Regel zwischen 150 - 350 $\times 10^9/\text{l}$. Diese Anzahl wird durch das retikuloendotheliale System der Milz und Leber im Gleichgewicht gehalten, indem alte Thrombozyten durch dortige Makrophagen entfernt werden (Kehrel 2008).

Die Membran der Thrombozyten stellt eine asymmetrische Phospholipiddoppelschicht mit ausgeprägter Glykokalix dar. Wesentliche Membranbestandteile sind Phosphatidylcholin, Sphingomyelin, Phosphatidylethanolamin und Phosphatidylinositol. Des Weiteren ist die Zellmembran unter anderem mit Rezeptoren für eine Vielfalt an plättchenspezifischen Reaktionen besetzt (McNicol und Israels 2003, Kehrel 2008). Im Zytoplasma der Thrombozyten befinden sich zahlreiche Zellorganellen. Unter anderem zählen dazu das Zytoskelett, zwei Membransysteme und drei Arten von Speichergranula (McNicol und Gerrard 1997). Das Zytoskelett ermöglicht den sehr schnellen Formwandel der Thrombozyten während der Aktivierung und verhindert im Ruhezustand eine Fusion der sekretorischen Zellorganellen mit der Zellmembran. Das geschlossene Kanalsystem (dense tubular systeme, DTS) und das offene kanalikuläre System bilden die beschriebenen zwei Membransysteme (Kehrel 2008). Das DTS bildet den Haupt-Calciumspeicher der Thrombozyten und beinhaltet weiterhin Inositol-1,4,5-Triphosphatrezeptoren, Phospholipase- A_2 und Diglyzeridlipase, wobei die beiden letzteren in den Arachidonsäurestoffwechsel involviert sind und entscheidend zur Aktivierung der Thrombozyten beitragen (Drummond und MacIntyre 1987, Rosado und Sage 2001, Lagarde et al. 1981).

Das offene kanalikuläre System steht mit der Zellmembran in Verbindung und wird nach Aktivierung und Formwandel zur Membranvergrößerung genutzt (Kehrel 2008).

Die zytoplasmatischen Speichergranula unterteilen sich in α -Granula, dichte Granula (dense bodies) und Lysosomen. Am häufigsten sind α -Granula zu finden. Sie enthalten Adhäsionsproteine, Gerinnungsfaktoren, Faktoren der Fibrinolyse, Zytokine, den aus Thrombozyten stammenden Wachstumsfaktor „platelet derived growth factor“ (PDGF), β -Thromboglobulin und den Plättchenfaktor 4 (PF4). In den dense bodies sind vor allem Adenosindiphosphat (ADP), Serotonin und Calcium gespeichert. Die Lysosomen beinhalten saure Proteasen, Glykosidasen und Phosphatasen (McNicol und Israels 2003, Kehrel 2008).

1.4.1 Thrombozytenaktivierung und Prozesse der Thrombozytenadhäsion

Unter physiologischen Bedingungen zirkulieren die ruhenden Thrombozyten im Organismus, ohne dass relevante Interaktionen mit dem Gefäßsystem auftreten. Kommt es jedoch zu einer Verletzung des Endothels, treten die Thrombozyten mit subendothelialer Matrix in Kontakt und innerhalb von wenigen Sekunden bildet sich durch Adhäsion eine erste Schicht Thrombozyten an der Läsionsstelle (Ruggeri 2002). Um dies zu realisieren, verfügen die Thrombozyten über eine Vielzahl von Rezeptoren, die sich auf bzw. in der Zellmembran befinden und nach Aktivierung und Ausbreitung des Membranreservoirs zur Verfügung stehen (Jurk 2005). Darüber hinaus wird die Bindung von Thrombozyten an einem geschädigten Gefäßabschnitt durch von-Willebrand-Faktor (vWF) der subendothelialen Matrix ermöglicht. Die hochmolekularen fadenförmigen vWF binden die Thrombozyten mit Hilfe der α -Kette des Glykoprotein (GP) Ib-Rezeptors, welcher Bestandteil des GP Ib/IX/V-Komplexes auf der Thrombozytenoberfläche ist. Dieser Mechanismus wird vor allem dann relevant, wenn erhöhter bzw. hoher Scherstress in den Gefäßen auftritt (Jennings 2009). Zusätzlich können geschädigte Endothelzellen den von-Willebrand-Faktor aus den Weibel-Palade-Körperchen freisetzen. Die vWF-Multimere befinden sich, wie oben beschrieben, als lange Fäden im Blutfluss und stellen eine höchst effektive Art dar, zirkulierende Thrombozyten zu binden und somit in den Aktivierungszyklus einzubeziehen (Cutler 2009). Die Regulierung dieses prothrombotischen Prozesses geschieht mit Hilfe der Protease ADAMTS13 (Dong et al. 2002). Sie spaltet die überlangen von-Willebrand-Faktor-Multimere innerhalb von Minuten nach ihrem Entstehen in kürzere Bruchstücke und deaktiviert diese damit (Cutler 2009).

Eine weitere Möglichkeit, bei hohem Scherstress initiale Bindungen zwischen Thrombozyten und dem geschädigten Endothel herzustellen, bietet Thrombospondin-1. Es wird von

Einleitung

Thrombozyten, Endothelzellen und Monozyten freigesetzt und bindet, ähnlich dem von-Willebrand-Faktor an den Membranrezeptor GP Ib (Jurk et al. 2003).

Anschließend an den ersten Kontakt binden die Thrombozyten und der vWF an das Kollagen der subendothelialen Matrix und verstärken damit die Aktivierung (Clemetson und Clemetson 1995). Eine weitere Möglichkeit der Adhäsion und Aktivierung besteht in der direkten Bindung der Thrombozyten an die kollagenen Strukturen des geschädigten Endothels mit Hilfe des GPIa/IIa-Rezeptor-Komplexes. Dieser Prozess erfolgt vor allem unter statischen Bedingungen bzw. in Gefäßen mit geringem Scherstress. Die Interaktionen führen zu einer streng lokalisierten Aktivierung der Thrombozyten (Kehrel 1995). Einen weiteren direkten Kollagenrezeptor auf der Thrombozytenoberfläche stellt das GPVI dar. Diese Bindung an kollagene Fasern stärkt die Adhäsion der Thrombozyten an Endothelschäden und induziert die anschließende Aktivierung der Thrombozyten (Watson et al. 2000). Darüber hinaus wird bei der Verletzung von Endothelzellen und der subendothelialen Matrix der Gewebe tissue factor (TF) präsentiert. Die Gesamtheit der beschriebenen Prozesse initiiert die Startreaktion des komplexen plasmatischen Gerinnungssystems, bei dem an den negativen Phospholipidoberflächen durch limitierte Proteolyse Serinproteasen in Aktivierungskomplexen letztendlich Thrombin freisetzen. Thrombin bindet an den GPIIb-Rezeptor auf der Thrombozytenoberfläche und führt dadurch bei aktivierten Thrombozyten zur Produktion und Freisetzung von Thromboxan A₂ (TXA₂) (Beumer et al. 1995). Weiterhin spaltet Thrombin Fibrinogen zu Fibrin und aktiviert Thrombozyten, indem es mit den Protease-aktivierten Rezeptoren (PAR) PAR-1 und PAR-4 auf der Thrombozytenoberfläche interagiert. Durch transmembranöse intrazelluläre Signale, die zur Produktion des „second messenger“ Inositol-3-Phosphat führen, wird Calcium aus Speichern der Thrombozyten freigesetzt. Ebenso stellt der TF ein wichtiges Element im Rahmen der Thrombozytenaktivierung dar. Er wird von Endothelzellen und Monozyten gebildet und bei Endothelverletzung bzw. Monozytenaktivierung sezerniert. Bei Kontakt mit Blut stellt er einen hochaffinen Rezeptor und Kofaktor für den Gerinnungsfaktor VIIa dar und aktiviert die Gerinnungsfaktoren IX und X. Zusätzlich beschleunigen TF-tragende Zellen die Entstehung von Thrombin aus Prothrombin, indem der TF die Ausbildung von Prothrombinasekomplexen auf der Thrombozytenoberfläche bedingt. Im Folgenden kommt es zur Bildung einer geringen Menge Thrombin, das zur Generierung eines blutstillenden Fibrinthrombus allerdings nicht

ausreichend ist. Die Thrombinmenge ist jedoch in der Lage, weitere Thrombozyten und die Gerinnungsfaktoren XI, VIII und V zu aktivieren und damit katalysierend in die Aktivierungskaskade der Thrombozyten einzugreifen (Jennings 2009, Jurk und Kehrel 2008, Ruggeri 2002).

Zusammenfassend führen die Adhäsionsvorgänge der Thrombozyten an der subendothelialen Matrix zur Thrombozytenaktivierung, die eine Aktivierung der GPIIb/IIIa-Rezeptoren beinhaltet und diese damit in die Lage versetzt, lösliches Fibrinogen als adhäsives Protein zu binden. Dadurch werden die Thrombozyten zu Micro-white-clots verklumpt und weitere Zell-Matrix-, aber auch Zell-Zell-Interaktionen initiiert. Zusätzlich kommt es zur Freisetzung der Thrombozyten-Granulainhalte und einer hiermit verbundenen weiteren Rekrutierung freier, noch nicht aktivierter Thrombozyten (Jurk und Kehrel 2005, Kehrel 2008).

1.4.2 Sekretion der Thrombozyteninhalte und deren Effekt auf das Mikromilieu

Wie oben beschrieben, kommt es bei der Thrombozytenaktivierung zur Freisetzung der Inhalte von dense bodies, α -Granula und dem DTS. Die dense bodies enthalten ADP, Serotonin und Calcium (McNicol und Israels 1999), wobei ADP zwar einen verhältnismäßig schwachen aber essentiellen Aggregationsagonisten darstellt, da es die beginnende Thrombozytenaggregation durch weitere Agonisten verstärkt.

In der Thrombozytenmembran gibt es drei Arten von ADP-Rezeptoren, die in zwei Hauptgruppen unterteilt werden. Der P_2X_1 -Rezeptor stellt einen nicht selektiven Kationenkanal dar, der den ADP-induzierten schnellen Calciumeinstrom vermittelt. Die P_2Y_1 - und P_2Y_{12} -Rezeptoren agieren G-Protein-gekoppelt (Gachet 2001, MacKenzie et al. 1996). Hierbei führt der P_2Y_1 -Rezeptor zur Mobilisation der Calciumionen (Ca^{2+}), zur Veränderung der Thrombozytenform und zur Initialisierung der Aggregation (Fabre et al. 1999). Die Entstehung einer nachhaltigen Thrombozytenaggregation und Verstärkung der Thrombozytensekretion wird durch den P_2Y_{12} -Rezeptor vermittelt (Dorsam und Kunapuli 2004). Durch die Stimulation dieser beiden Rezeptoren werden zusätzlich die Bindungsstellen der GPIIb/IIIa-Rezeptoren, die für die Bindung des Fibrinogens verantwortlich sind, freigelegt und damit die Thrombozytenaggregation gesteigert (Jennings 2009). Diese ADP-vermittelten Mechanismen werden durch die enzymatische Spaltung des ADP zu Adenosinmonophosphat

Einleitung

(AMP) mit Hilfe von CD39 limitiert, um somit eine unkontrollierte Aktivierung der Thrombozyten zu verhindern (Marcus et al. 1997).

Bei der erwähnten Freisetzung von Serotonin, einem starken Vasokonstriktor, kommt es über 5-HT_{2A}-Rezeptorenaktivierung zusammen mit ADP zur Thrombozytenaktivierung. Weiterhin scheint Serotonin an der Ansammlung gerinnungsfördernder Proteine auf der Thrombozytenoberfläche beteiligt zu sein, dazu zählen Fibrinogen und Thrombospondin.

Calciumionen, die ebenfalls aus den dense bodies freigesetzt werden, haben eine elementare Funktion bei der Thrombenentstehung. Im Verlauf der Aktivierungsprozesse erfolgt eine weitere Ca²⁺-Mobilisierung aus dem geschlossenen Kanalsystem (Jurk und Kehrel 2005, Dale et al. 2002).

Die α -Granula enthalten ebenso wie die dense bodies eine große Anzahl an Inhaltsstoffen, die auf die Thrombozyten vielfältige Einflüsse haben. Hierzu zählen Wachstumsfaktoren und Zytokine, die eine entscheidende Relevanz für die Wundheilung und Immunabwehr haben (Kehrel 2008). Des Weiteren vereinigen sich bei der Aktivierung der α -Granula deren Membranen mit der Zellmembran der Thrombozyten. Dabei wird das Transmembranprotein P-Selektin (CD62P), das bei ruhenden Thrombozyten nur auf der Oberfläche der α -Granula vorgefunden wird, in die Thrombozytenmembran internalisiert (Jurk und Kehrel 2008). Dieser Vorgang ermöglicht die Bindung der aktivierten Thrombozyten an Neutrophile und Monozyten. Für die Monozyten stellt diese Verbindung ein initiales Signal dar, das für die Transmigration in entzündetes Gewebe notwendig ist (Singbartl et al. 2001, Jurk und Kehrel 2008). Weiterhin sind Leukozyten über P-Selektin-Glykoprotein-Ligand-1 (PSGL-1) in der Lage, über thrombozytenbedecktes Endothel zu rollen. Ein weiteres Protein, das nach Aktivierung in der Thrombozytenmembran vorgefunden wird, ist der CD40-Ligand (CD40L). Er triggert spezifische Immunabwehrreaktionen, indem Antigen-präsentierende Zellen zur Reifung gebracht und Interaktionen mit B- und T-Lymphozyten ermöglicht werden. Zusammenfassend zeigt sich, dass Thrombozyten auf vielseitige Weise mit Abwehrzellen interagieren können und damit die unspezifische und spezifische Immunabwehr beeinflussen (Furie et al. 2001, Jurk und Kehrel 2008). Die beschriebenen Prozesse der Thrombozytenadhäsion und -aktivierung verursachen weiterhin einen Formwandel der Thrombozyten. Sie bilden Pseudopodien aus und verlieren ihre diskoide Gestalt (Kehrel 2008).

1.4.3 Die Thrombozytenaggregation

Die Aggregation der Thrombozyten wird durch die bisher beschriebenen Vorgänge ermöglicht. Darüber hinaus wird eine Konformationsänderung der GPIIb/IIIa-Rezeptoren benötigt, die die Rezeptoren in die Lage versetzt, das lösliche Adhäsionsprotein Fibrinogen zu binden. Die besondere Struktur des Fibrinogens führt via GPIIb/IIIa-Rezeptoren zur Verbindung der Thrombozyten untereinander. Weiterhin ermöglicht Fibrinogen die Ausbreitung der aktivierten Thrombozyten auf dem subendothelialen Gewebe. Die Anzahl der GPIIb/IIIa-Rezeptoren beträgt bei ruhenden Thrombozyten circa 40000 bis 50000. Kommt es zur Aktivierung und damit zur Fusion der α -Granulamembranen mit der Thrombozytenmembran, erhöht sich diese Zahl stark (Coller et al. 1995, Kehrel 2008).

Wie oben dargelegt, ist Thrombin für die Erzeugung eines prokoagulanten Zustands der Thrombozyten essentiell. Es führt zusammen mit Kollagen zu einer starken Aktivierung und Ausbreitung der Thrombozyten, mit Abschnürung von Thrombozytenmembranmaterial als thrombogene Mikropartikel, die ebenfalls Entzündungsvorgänge beeinflussen und zusammen eine erhebliche gerinnungsfördernde Oberfläche bieten (Barry et al. 1998, Nieuwland et al. 1997). Im Verlauf der Thrombozytenaggregation kommt es zu einer massiven Thrombingenerierung an der Thrombozytenoberfläche („thrombin burst“), ausgelöst durch TF-tragende Monozyten und aktivierte Gerinnungsfaktoren, die auf der Phospholipidoberfläche der Thrombozyten den Xase-Komplex und den Prothrombinase-Komplex anordnen und massiv Thrombin generieren (Jurk und Kehrel 2008, Roberts et al. 2006). Zur Ausbreitung des Thrombingenerierungsprozesses besitzen Thrombozyten die Möglichkeit, negativ geladene Phospholipide auf den Oberflächen anderer Blutzellen (beispielsweise Erythrozyten) freizulegen (Sims et al. 1989). Des Weiteren binden aktivierte Gerinnungsfaktorenkomplexe an spezifischen Rezeptoren auf den Thrombozytenmembranen und führen zusammen zu einer raschen Thrombozytenaggregation (Baglia 2004).

Das entstehende Thrombin führt neben der Thrombozytenaktivierung zu einer schnellen und massiven Fibrinbildung. Dies hat eine Stabilisierung der Thrombozytenaggregate und somit einen effizienten Wundverschluss zur Folge (Jurk und Kehrel 2008).

Es erscheint daher bedeutsam, mit Hilfe von validen Messverfahren die Aktivität zirkulierender Thrombozyten erfassen zu können und eine Aussage zur momentanen Gerinnungssituation zu ermöglichen. Hierfür wurde von Prof. Dr. med. Nowak und seinen

Mitarbeitern der Platelet Adhesion Assay (PADA) entwickelt und im Rahmen dieser Dissertation bei gesunden Probanden und dialysepflichtigen Patienten angewandt.

1.5 Intervention in die Hämostaseologie

1.5.1 Heparin

Die physiologischen Vorgänge der Thrombozytenadhäsion und -aggregation sind sehr komplex und unterliegen einer großen Anzahl von Einflussfaktoren. Dies bedeutet, dass es bei der klinischen Indikation zur Pharmakotherapie verschiedene Möglichkeiten gibt, in die plasmatische Gerinnung einzugreifen und sie zu hemmen. Eine der am häufigsten benutzten Optionen zur akuten Ereignishemmung bietet das Heparin. Es tritt in Wechselwirkung mit Antithrombin III (AT III), das daraufhin zu einem hochaffinen Inhibitor der Gerinnungsfaktoren IIa, IXa, Xa, XIa und XIIa konvertiert. Die Faktoren Xa und IIa (Thrombin) reagieren auf diese vielfache Steigerung der gerinnungshemmenden Wirkung des AT III am empfindlichsten. Es besteht weiterhin die Möglichkeit, dass Heparin mit Hilfe des Heparin-Kofaktor II an Thrombin bindet und dieses hemmt oder in Abwesenheit von AT III direkte Interaktionen mit den Thrombozyten bzw. Endothelzellen eingeht (Baldwin et al. 2008).

Die Vorteile bei der Verwendung von Heparin liegen in dem sofortigen Wirkungseintritt, der unkomplizierten Überwachung mit Hilfe der aktivierten partiellen Thromboplastinzeit (aPTT), der relativ kurzen Halbwertszeit und der Möglichkeit, die Heparinwirkung mittels Protamin zu antagonisieren. Klinisch bedeutsam ist, dass bei der Verwendung dieses Antikoagulanz eine Thrombozytopenie auftreten kann mit paradoxer prothrombotischer Tendenz (Kelton und Warkentin, 2008). Dieser Symptomkomplex von Thrombozytenabfall und Thromboseneigung entspricht der Heparin-induzierten Thrombozytopenie Typ II (HIT II), die mittels PADA-HIT erfasst werden kann.

1.5.2 Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II

Die Pathogenese der HIT II besteht in der Interaktion von Heparin (Polyanion) mit dem PF4, der bei Aktivierung der Thrombozyten von diesen freigesetzt wird (Greinacher 2006). Diese Bindung führt zur Ausbildung von Komplexen, die in ihrer Größe abhängig sind von dem

Grad der Sulfatierung und der Größe des Heparins. Niedermolekulare Heparine bilden dabei kleinere Komplexe, unfractionierte Heparine jedoch größere Komplexe, wobei diese häufiger zum klinischen Bild der HIT II führen (Greinacher et al. 1995, Warkentin et al. 1995). Auf diese Komplexbildung reagieren manche Patienten mit der Generierung von Immunglobulinen (Ig). Hierbei konnte gezeigt werden, dass die IgG's die bedeutendsten HIT II-Antikörper (AK) darstellen, da der Nachweis des Immunglobulins G eher mit dem klinischen Bild der HIT II korreliert als der der IgM und IgA (Greinacher 2006, Greinacher et al. 2007). Die PF4-Heparin-IgG-Antikörperkomplexe binden über die Fc_{moc}-Rezeptoren der IgG-Antikörper an die Fc_γIIa-Rezeptoren auf den Thrombozyten und führen zu deren Aktivierung (Kelton et al. 1988). Infolgedessen kommt es zur Bildung prothrombotischer Mikropartikel, der Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems und der Generierung von Thrombin (Warkentin et al. 1994, Warkentin et al. 1998). Darüber hinaus sind HIT II-Antikörper in der Lage, an Endothelzellen zu binden und dadurch die Gerinnung zusätzlich zu aktivieren. Ermöglicht wird dies durch die Heparansulfatmoleküle der Glykokalix der Endothelzellen. Heparansulfate können freien PF4 binden und werden so durch zirkulierende AK erkannt. Nachfolgend können die endothelgebundenen Antikörper mit Thrombozyten über deren Fc_γIIa-Rezeptoren interagieren und somit eine disseminierte Gerinnselbildung erzeugen (Nowak 2009). Unterstützt wird dies durch die Fähigkeit der IgG-Antikörper, mit der Monozytenoberfläche zu interagieren, wodurch vermehrt TF freigesetzt wird. Die dargestellten Prozesse führen zu einer Hyperkoagulabilität des Blutes bei gleichzeitiger Thrombozytopenie, die sich im klinischen Bild der HIT II widerspiegeln (Visentin et al. 1994, Pouplard et al. 2001, Kelton und Warkentin, 2008). In der Regel treten die Symptome der HIT II 4 bis 14 Tage nach Beginn der Heparintherapie auf. Diese beinhalten die bereits erwähnte Thrombozytopenie, wobei eine Reduzierung der Thrombozytenzahl auf weit unter 50% auftreten kann. Zur gleichen Zeit werden thrombotische Komplikationen, sowohl in arteriellen als auch in venösen Gefäßen verzeichnet (Greinacher 2006, Warkentin 1998).

Im Rahmen der Labordiagnostik stehen gegenwärtig verschiedene Testmöglichkeiten zur Verfügung, HIT II-AK im Blut nachzuweisen. Dazu zählt der ELISA (enzyme linked immunosorbent assay), der sehr sensitiv ist und die Klassen der IgA-, IgG- und IgM-Antikörper erfassen kann. Hierbei liegt die Schwierigkeit in der Bestimmung der klinischen Relevanz. Nicht alle Antikörperklassen führen zu pathologischen Thrombosereaktionen und

es besteht somit die Gefahr der „Überdiagnostik“ von HIT II-positiven Befunden. Dies trifft, wie bereits oben beschrieben, vor allem auf die IgA- und IgM-AK zu (Greinacher 2006, Amiral et al. 1996, Suh et al. 1997). Die Alternativen zum ELISA sind die funktionellen HIT II-Tests. Hierzu zählen der platelet aggregation test (PAT), der ¹⁴C-serotonin release assay (¹⁴C-SRA), der heparin-induced platelet aggregation assay (HIPA), die Erfassung der Mikropartikelfreisetzung per Durchflusszytometrie oder Messungen der ADP- bzw. Adenosintriphosphat (ATP)-Freisetzung als Korrelat der Thrombozytenaktivierung. Die Gemeinsamkeit der funktionellen Tests besteht in der Verwendung von Thrombozyten gesunder Spender, die mit Serum oder Plasma von Patienten unter HIT II-Verdacht und unterschiedlichen Heparinkonzentrationen in Kontakt gebracht werden. Sind HIT II-Antikörper in den verwendeten Sera bzw. Plasmaproben vorhanden, kommt es zu einer Aggregation der Thrombozyten bzw. zum Freisetzen ihrer Granulainhaltsstoffe, was mit Hilfe der Tests nachgewiesen werden kann. Diese Ergebnisse sind nicht so sensitiv wie die des ELISA, allerdings spezifischer. Das beinhaltet, dass ein positives Testergebnis eher für HIT II-AK steht, die zu einer realen Thrombozytenaktivierung führen. Dessen ungeachtet kann ein negatives Testergebnis das Vorhandensein von HIT II-Antikörpern nicht gänzlich ausschließen. Es sollte sich daher bei dem dringenden Verdacht einer HIT II und einem negativen funktionellen Test ein ELISA anschließen (Fratantoni et al. 1975, Sheridan et al. 1986, Eichler et al. 1999, Lee et al. 1996, Stewart et al. 1995, Teitel et al. 1996, Eichler et al. 2002, Kelton 2005, Matthies et al. 1999, Baldwin et al. 2008).

Auf Grund der vielen bisher ungeklärten Fragen und Probleme wurde im Rahmen dieser Arbeit versucht, mit Hilfe des PADA-HIT einen neuen Messansatz in die HIT II-Diagnostik einzuführen, der weitere Einsichten erbringen könnte, um somit einen nächsten Schritt in Richtung individuelle Patientenbetreuung zu ermöglichen.

1.5.3 Acetylsalicylsäure: Historischer Rückblick und Entwicklung

In den vorausgehenden Kapiteln wurden die Physiologie und Pathophysiologie der Thrombozyten im menschlichen Organismus beschrieben. In diese Vorgänge kann auf unterschiedlichste Weise eingegriffen werden.

Die erste Wahl und am häufigsten genutzte Substanz zur primären und sekundären Prävention von Gerinnungskrankheiten und deren Folgen, wie beispielsweise Myokardinfarkt oder

Schlaganfall ist Acetylsalicylsäure (Curtis et al. 2004, Antithrombotic Trialists' Collaboration 2002).

Die Geschichte der ASS begann 1897. Von Felix Hoffmann synthetisiert und 1899 unter dem Namen Aspirin® als Handelsname registriert, waren weiterhin Arthur Eichengrün und Heinrich Dreser an dem Entwicklungsprozess beteiligt. Primär sollte ein besser verträgliches Medikament als Salicylsäure konzipiert werden, das in der Rheumabehandlung eingesetzt werden konnte und dabei weniger Nebenwirkungen zeigte. Bald schon etablierte sich Aspirin® als freiverkäufliches Medikament gegen Schmerzen, Fieber, Entzündungen und bei rheumatischen Erkrankungen. Als häufige Nebenwirkung der ASS-Behandlung wurden Blutungen vor allem im Magen-Darm-Trakt beobachtet, welche in den folgenden Jahren Thema vieler klinischen Studien waren. 1971 entdeckte Vane, dass die Hemmung der Prostaglandinsynthese die grundlegende Ursache der Blutungen im Zusammenhang mit den ASS-Behandlungen darstellte (Rinsema 1999, Sneader 2000, Singer 1945, Vane 1971).

1.5.4 Wirkmechanismus der Acetylsalicylsäure

Durch die Acetylsalicylsäure wird der Serinrest an Position 529 im Cyclooxygenasemolekül-1 (COX-1) acetyliert, woraus eine irreversible Hemmung der Thromboxan A₂-Synthese der Thrombozyten und der Prostacyclinsynthese der Endothelzellen resultiert (Patrono et al. 2004). COX-1 katalysiert die Umwandlung der Arachidonsäure zu Prostaglandin G₂/H₂ und Thromboxan A₂, welches unter anderem die Aktivierung der Fibrinogenrezeptoren auf der Thrombozytenoberfläche steigert. Weiterhin interagiert freigesetztes TXA₂ mit den Thromboxanrezeptoren von zirkulierenden Thrombozyten, löst deren Aktivierung aus und stellt zusätzlich einen starken Vasokonstriktor dar (McNicol und Israels 2003, Patrono et al. 2004). ASS hemmt jedoch nicht nur die COX-1, sondern stellt einen nicht selektiven COX-Inhibitor dar und beeinflusst ebenfalls die zweite Isoform, die COX-2. Dieses Enzym ist induzierbar und dient der Bildung von Prostaglandin I₂. Bei gesunden Personen ist COX-2 nur in geringen Mengen vorzufinden, es tritt jedoch in Zusammenhang mit Entzündungen und malignen Erkrankungen in Thrombozyten gehäuft auf (Cullen et al. 1998). Im Rahmen der Ursachenevaluation der ASS-Resistenz wird dieser Sachverhalt noch einmal genauer betrachtet werden müssen.

1.5.5 Pharmakologie der Acetylsalicylsäure

Nach der Einnahme von Acetylsalicylsäure erfolgt die Absorption vor allem im sauren Milieu des Magens, aber auch in den folgenden Abschnitten des Intestinaltrakts. Bereits 10 Minuten nach oraler Applikation kann ASS im Blut nachgewiesen werden und hat den maximalen Konzentrationswert im Plasma nach 30 bis 40 Minuten erreicht. Nach der einmaligen Einnahme von 100 mg ASS kann nach 60 Minuten bereits eine signifikante Hemmung der Thrombozytenfunktion verzeichnet werden, messbar auch durch die Inhibition der TXA₂-Produktion. Da die Thrombozyten kaum zur Proteinsynthese (hier der Enzymneosynthese) befähigt sind, ist die Wirkung von ASS persistierend und besteht für die restliche Lebensspanne der Thrombozyten, also circa 7 bis 10 Tage. Die Plasmahalbwertszeit von Acetylsalicylsäure liegt bei 15 bis 20 Minuten. Esterasen im Blut und in der Leber führen zu einer raschen Deacetylierung des Wirkstoffs. Durch die irreversible Enzymhemmung bedingt, überschreitet die Wirkdauer von ASS die Plasmahalbwertszeit deutlich. Es folgt daraus, dass durch eine einmal tägliche Einnahme einer relativ geringen Menge ASS die Hemmwirkung permanent aufrecht erhalten werden kann (Fitzgerald und Maree 2007, Patrono 1994). Die Identifizierung der dafür benötigten optimalen Dosis war und ist Gegenstand vieler Studien. Es wurde ermittelt, dass sich zwischen 30 mg und 1500 mg plättchenhemmende Wirkungen zeigen lassen. Es sollte allerdings berücksichtigt werden, dass mit steigenden ASS-Dosen auch die Häufigkeit unerwünschter Nebenwirkungen zunimmt (Antithrombotic Trialists`Collaboration 2002, Buchanan und Brister 1995, Patrono 2001). Ist eine Thrombozytenhemmung nachweisbar, stellt Acetylsalicylsäure eine erprobte Prophylaxe gegen kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit Risikofaktoren und/oder arteriosklerotischen Grunderkrankungen dar (Goodman et al. 2007).

1.5.6 Pathologie der Acetylsalicylsäure

In jüngster Zeit häufen sich die Berichte, dass unter ASS-Behandlung kein therapeutischer Effekt eintritt. ASS war bei diesen Patienten unfähig, die Biosynthese von TXA₂ in Thrombozyten zu hemmen oder thrombotische Ereignisse bei Risikopatienten zu verhindern bzw. die Blutungszeit zu verlängern (Patrono 2003). Diese Wirkungslosigkeit wird als ASS-Resistenz bezeichnet. Häufig wird in Publikationen gleichbedeutend mit dem Begriff der ASS-Resistenz auch „Aspirin-Resistenz“ oder „Aspirin-Nonresponder“ verwendet. Im

Rahmen dieser Promotionsarbeit wurde bei den in-vitro Untersuchungen mit flüssiger Acetylsalicylsäure gearbeitet, weshalb ASS-Resistenz als passendere Bezeichnung präferiert wird.

Bei der ASS-Resistenz werden zwei Formen unterschieden. Eine klinische ASS-Resistenz, bei der es trotz ASS-Therapie zu thrombembolischen Ereignissen kommt, und eine diagnostische ASS-Resistenz. Sie beinhaltet, dass die Thromboxan A₂-Produktion der Thrombozyten in den eingeführten Labortests zur Thrombozytenfunktion nicht unterbunden bzw. die Thrombozytenaggregation nicht gehemmt wurde (Bhatt und Topol 2003).

Zu diesen Labormethoden gehören die Bestimmung des Thromboxan-B₂-Spiegels im Blut oder Urin, die Erfassung der Thrombozytenfunktion mittels Impedanz- oder optischer Aggregometriemessung, der VerifyNow Aspirin[®]-Test oder die Bestimmung der Agonisten-induzierten Kapillarverschlusszeit durch Thrombozytenaggregation mit Hilfe des Platelet Function Analyzer-100[®] (PFA-100[®]). Die Vor- und Nachteile der einzelnen Messmöglichkeiten werden im Diskussionsabschnitt ausführlich dargelegt (Feuring et al. 2005, Lordkipanidzé et al. 2007, Harrison 2000, Nicholson 1998, Rand et al. 2003, Eikelboom et al. 2002, Nowak 2007).

Die Schwierigkeit des Nachweises einer tatsächlichen ASS-Resistenz besteht in der fehlenden Übereinstimmung innerhalb und zwischen den verwendeten Methoden. Im Rahmen klinischer Studien mit den unterschiedlichen Messverfahren treten Resistenzhäufigkeiten von 5,5% bis zu 61% auf (Gabriel et al. 2007, Nowak 2007, Hankey und Eikelboom 2006). Diese starken Variationen machen es naturgemäß schwierig, eine adäquate Vorgehensweise bzw. Therapiestrategie zu entwickeln. Hinzu kommt, dass keine Einigkeit über die Verwendung von Vollblut oder plättchenreichem Plasma (PRP), die eventuelle Zugabe von Agonisten, die Inkubationszeit und das Probenvolumen herrscht. Aufgrund dieser Inhomogenitäten wurde als völlig neue und innovative Methode der PADA-RASS (platelet adhesion assay-Reaktion auf ASS) entwickelt. Dieser bietet die Möglichkeit, direkt die Wirkung von ASS auf die Thrombozytenfunktion zu ermitteln. Im Rahmen dieser Arbeit wurde der Test an gesunden Probanden und dialysepflichtigen Patienten erprobt. Es sollte die Frage beantwortet werden, ob in der untersuchten Patientengruppe eine ASS-Resistenz signifikant häufiger auftritt als bei den gesunden Probanden. Im Gegensatz zu allen anderen Methoden brauchen die Probanden bzw. Patienten im Vorfeld kein ASS genommen haben, da beim PADA-RASS die

Einleitung

Acetylsalicylsäure in vitro zugesetzt wird. Die Analyse soll das Verständnis über die Häufigkeit der ASS-Resistenz erweitern und eine Grundlage für weitere Studien schaffen, um somit für zukünftige Patienten mit Hilfe des PADA-RASS eine individuelle Therapie zu ermöglichen.

2 Hintergründe und Fragestellung

Da in den durchgeführten Untersuchungen alle drei PADA-Methoden verwendet wurden, ergeben sich zu jedem Test spezielle Fragestellungen.

2.1 PADA

- Wie hoch ist der durchschnittliche Adhäsionsindex (AI) innerhalb der Studienkollektive?
- Treten in den beiden Gruppen signifikante Zusammenhänge zwischen der Höhe des Adhäsionsindex und metrischen bzw. binären Merkmalen auf?
- Besteht ein signifikanter Unterschied der AI-Höhe im Vergleich der Dialysepatienten mit den gesunden Probanden? Treten dabei Zusammenhänge zu metrischen bzw. binären Merkmalen auf?

2.2 PADA-HIT

- Wie stellt sich die Häufigkeitsverteilung der HIT II in den Studienkollektiven dar?
- Sind in den Gruppen signifikante Zusammenhänge zwischen dem HIT II-Profil und metrischen bzw. binären Merkmalen nachweisbar?
- Gibt es im Vergleich der untersuchten Populationen einen signifikanten Unterschied hinsichtlich der Häufigkeit von HIT II-Antikörpern und korreliert diese mit metrischen bzw. binären Merkmalen?

2.3 PADA-RASS

- Wie stellt sich die Verteilung des PADA-RASS-Profiles innerhalb der Gruppen dar?
- Treten in den Studienkollektiven bezüglich metrischer und binärer Merkmale signifikante Zusammenhänge zu dem PADA-RASS-Profil auf?
- Gibt es hinsichtlich des PADA-RASS-Profiles signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen?
- Treten im Vergleich der beiden Populationen signifikante Zusammenhänge zwischen dem PADA-RASS-Profil und metrischen bzw. binären Merkmalen auf?
- Haben im Rahmen der Untersuchungen Faktoren wie beispielsweise Untersucher oder Zeitpunkt der Messungen einen signifikanten Einfluss auf die erzielten Ergebnisse?

3 Methodik

3.1 Patienten und Probanden

Die im Rahmen dieser prospektiven Prävalenzstudie untersuchten Studienpopulationen setzen sich zusammen aus einer gesunden Kontrollgruppe (Anzahl (N) = 100) und dialysepflichtigen Patienten (N = 71) des Kuratoriums für Dialyse und Nierentransplantation e.V. in Jena-Drackendorf (KfH-Nierenzentrum Jena-Drackendorf).

Die Kontrollgruppe weist einen Altersdurchschnitt von 33,4 Jahren ($\pm 13,6$ Jahren) und einen Median von 27,4 Jahren auf. Sie setzt sich zusammen aus 45 männlichen Probanden und 55 weiblichen Probandinnen. Im Vergleich dazu liegt der Mittelwert (MW) des Alters der Dialysepatienten bei 62,1 Jahren ($\pm 14,8$ Jahren) und einem Median von 62,7 Jahren. Diese teilen sich in 43 männliche Patienten und 28 weibliche Patientinnen auf. Die Abbildung (Abb. 1) zeigt die Verteilung der Probanden und Patienten in den einzelnen Altersdekaden.

Die Auswahl der Probanden erfolgte zufällig und das Einschlusskriterium war die offensichtliche Gesundheit. Um mit der Kontrollgruppe ein möglichst breites Spektrum einer gesunden Population zu erfassen, beschränkten sich die Ausschlusskriterien darauf, dass keine Herzerkrankung, Dialysepflicht oder Einnahme eines GPIIb/IIIa-Antagonisten vorliegen durfte. Überprüft wurde dies mit Hilfe eines Fragebogens (siehe Anhang). Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Häufigkeiten der erfragten Merkmale.

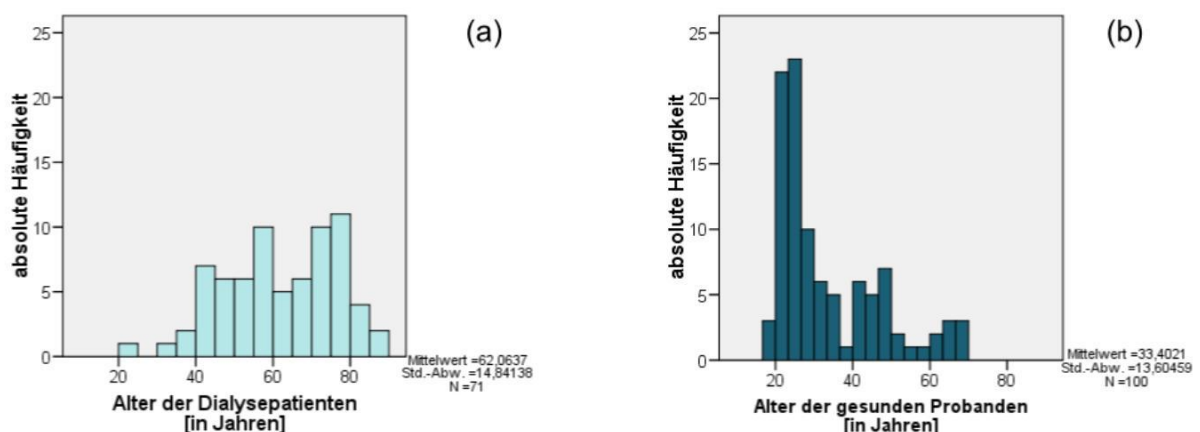


Abb. 1: Altersverteilung der (a) Dialysepatienten bzw. (b) gesunden Probanden

Methodik

Tabelle 1: Auswertung der Fragebögen der Probandenpopulation

<u>Merkmal</u>	<u>absolute Häufigkeiten</u>	<u>relative Häufigkeiten [%]</u>
Hypertonie	6	6 %
Diabetes mellitus	1	1 %
Operationen	59	59 %
Allergien	43	43 %
Gerinnungsstörungen	6	6 %
vorherige Heparinbehandlungen	20	20 %
regelmäßige Medikamenteneinnahme	39	39 %
akute Ereignisse zum Untersuchungszeitpunkt	4	4 %
positive Raucheranamnese	21	21 %

Bei allen untersuchten Patienten bestand als Einschlusskriterium die Dialysepflicht zum Messzeitpunkt.

Um die Patientenpopulation besser charakterisieren zu können, wurden relevante Diagnosen und Befunde aus den Krankenakten der Patienten zusammengetragen und analysiert (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Auswertung der Krankenakten der Patientenpopulation

<u>Merkmal</u>	<u>absolute Häufigkeiten</u>	<u>relative Häufigkeiten [%]</u>
Kardiale Erkrankungen	52	73,2 %
Zustand nach (Z.n.) Myokardinfarkt	10	14,1 %
Koronare Herzerkrankungen (KHK)	24	33,8 %
Herzinsuffizienz	12	16,9 %
Hypertensive Herzkrankheit	31	43,7 %
Vorhofflimmern	15	21,1 %
Arrhythmia absoluta	11	15,5 %
Klappenstenose/-insuffizienz	14	19,7 %
Terminale Niereninsuffizienz	71	100 %
Diabetische Nephropathie	17	23,9 %
Chron. Glomerulonephritis	10	14,1 %
Interstitielle Nephritis	7	9,9 %
Mesangioproliferative IgA-Nephritis	9	12,7 %
Myeloma-Cast Nephropathie	1	1,4 %
Schrumpfniere	4	5,6 %
Polyzystische Nierendegeneration	7	9,9 %
Nierenzellkarzinom	5	7,0 %

Methodik

Merkmal	absolute Häufigkeiten	relative Häufigkeiten [%]
Glomerulosklerose	6	8,5 %
Analgetikanephropathie	3	4,2 %
Thrombotische Mikroangiopathie	1	1,4 %
Nephrokalzinose	1	1,4 %
Chronische Pyelonephritis	1	1,4 %
Benigne Nephrosklerose	4	5,6 %
Refluxnephropathie	1	1,4 %
andere Erkrankungen		
Hypertonie	64	90,1 %
Diabetes mellitus	26	36,6 %
periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)	13	18,3 %
maligne Erkrankungen	18	25,4 %
Lebererkrankungen	12	16,9 %
Thrombosen	17	23,9 %
Schlaganfall	10	14,1 %
chronische Entzündungen	24	33,8 %
Transplantatversagen	1	1,4 %
Arteriosklerose	7	9,9 %
Allergien	24	33,8 %
akute Ereignisse zum Untersuchungszeitpunkt	1	1,4 %
regelmäßige Einnahme von ASS	29	40,8 %
regelmäßige Einnahme von ADP-Antagonisten	14	19,7 %
Positive Raucheranamnese	14	19,7 %

Das einzige Ausschlusskriterium bei den Dialysepatienten bestand in der Behandlung mit einem GPIIb/IIIa-Rezeptorantagonisten, um auch hier einen repräsentativen Querschnitt der Patientenpopulation einer Dialyseeinrichtung darstellen zu können.

Auf Grund von messtechnischen Problemen wurden 21 der gesunden Probanden und 10 Patienten der Dialysestation aus der Auswertung genommen. Die Erläuterung hierzu erfolgt im Rahmen der Diskussion.

Der Messzeitraum der Kontrollgruppe erstreckte sich von Oktober 2006 bis November 2008, während die Daten der Dialysepatienten von Februar 2007 bis März 2007 und im Juli 2008 erfasst wurden.

Methodik

Alle Probanden/-innen und Patienten/-innen, die im Rahmen der Promotionsarbeit in diese Prävalenzstudie aufgenommen wurden, gaben dazu ihr schriftliches Einverständnis, ebenso erfolgte bei allen beteiligten Personen eine Aufklärung über die Blutentnahme und den Inhalt der Studie (siehe Anhang). Diese Studie wurde durch die Ethikkommission der Friedrich-Schiller-Universität Jena geprüft und zugelassen (Nummer 2486-02/09).

3.2 *Material und Methoden*

Zur quantitativen Bestimmung der aktuellen Thrombozytenaktivität wurde der PADA (platelet adhesion assay) verwendet. Des Weiteren wurde der PADA-HIT genutzt, mit dessen Hilfe das Vorkommen von HIT II-AK indirekt bestimmt werden kann.

Im Rahmen dieser Prävalenzstudie wurde als neues Messprinzip der PADA-RASS eingeführt und etabliert. Diese Methode stellt eine innovative Möglichkeit dar, den ASS-Resistenzstatus der Probanden und Patienten unabhängig von einer eventuellen Einnahme von ASS aufzuzeigen. Alle drei Tests wurden ausschließlich im Vollblut durchgeführt.

3.2.1 **Materialien und Reagenzien**

Tabelle 3: Geräte, Material und Reagenzien

Geräte/Materialien		
Name	Hersteller/Firma	Bemerkungen
Hämatologie-Analysator Sysmex KX-21	Sysmex GmbH, Norderstedt	- arbeitet mit Vollblut - Blutbilderstellung
kalibrierter Schüttler	JenAffin GmbH, Jena	- nur eine kalibrierte Schüttelfrequenz möglich
Vortex mixer Zx ³	VELP [®] Scientifica Europe, Usmate (Milano)	
Timer mit Anzeige	Oregon Scientific	
Pipetten: Finnpipette [®]	Labsystems, Frankfurt/Main	Volumina: 40 - 200 µl 0,5 - 10 µl
Transferpette [®] S	Brand GmbH + Co KG, Wertheim	Fix 200 µl Fix 10 µl
Pipettenspitzen: Plastibrand [®]	Brand GmbH + Co KG, Wertheim	Volumina: nano-cap TM
Plastibrand [®]	Brand GmbH + Co KG, Wertheim	300 µl

Methodik

Geräte/Materialien		
Name	Hersteller/Firma	Bemerkungen
Monovetten: Heparin: S-Monovette®	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht	16 I.E. Heparin/ml Blut 2,7 ml + 4,5 ml
Citrat: S-Monovette®	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht	3 ml 9 NC Inhalt: Tri-Natriumcitrat-Lsg. 0,106 mol/l 0,30 ml Citrat-Lsg. 5 ml 9NC Inhalt: Tri-Natriumcitrat-Lsg. 0,106 mol/l 0,50 ml Citrat-Lsg.
Multi-Adapter für S-Monovette® lang	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht	
Punktionskanülen: S-Monovette®-Kanüle Micro-Flo	Sarstedt AG & Co., Nümbrecht DKS Loversan, Industria, Biomedica S.p.A. Gemonio	20 G x 1½" 21 G 0,8 x 20 mm
Reagenzien		
PADA-Kit HaemoSys®-PADA	JenAffin GmbH, Jena	Inhalt: - Probenröhrchen - Kontrollröhrchen - kalibrierte Partikelsuspension -Kontrolllösung (0,9 % Natriumchlorid (NaCl) mit stabilisierendem Zusatz) - Aufbewahrung und Gebrauch gemäß Herstellerangaben
ASS: Aspisol®-Original Aspirin® i.v. (intravenös)	Bayer Vital GmbH Leverkusen Bayer Schering Pharma	Wirkstoff: DL-Lysinmonoacetylsalicylat 12,5 % ASS-Lösung
Aggregationspuffer: Aggregation Buffer	DiaMed AG, Cressier (Schweiz)	
Reagenzien zum Gebrauch des Hämatologie-Analysators KX-21		

Methodik

Geräte/Materialien		
Name	Hersteller/Firma	Bemerkungen
Stromatolyser®-WH	Sysmex Deutschland GmbH, Norderstedt	WBC- und HGB-Lysereagenz zur Bestimmung des kleinen Blutbildes
CellPack™ PK-30I IVD	Sysmex Europe GmbH, Hamburg	Verdünnungsmittel
CellClean™ CL-50 IVD	Sysmex Europe GmbH, Hamburg	Reinigungsmittel
EightCheck-3WP-H Hematology Control	Sysmex Europe GmbH, Hamburg	geeichte Kontrollproben zur täglichen Qualitätskontrolle
-alle Reagenzien wurden gemäß Herstellerangaben verwendet		

3.2.2 Entnahme der Blutproben

Den Probanden und Patienten wurde aus der Vena mediana cubiti über eine Punktionskanüle Blut entnommen. Die Kanülen wurden über Multi-Adapter mit den Monovetten verbunden und mussten sorgfältig in der Mitte des Gefäßes platziert werden, um den Scherstress für die Blutbestandteile und damit die Aktivierung der Thrombozyten so gering wie möglich zu halten.

Die entnommene Blutmenge bestand aus jeweils einer Monovette Heparinblut (2,7 ml bzw. 4,5 ml) und einer Monovette Citratblut (2,7 ml bzw. 5 ml). Bei der Citratmonovette musste darauf geachtet werden, dass sie exakt bis zur Markierung gefüllt wurde, damit das Verhältnis von einem Teil Natriumcitratlösung zu neun Teilen Blutvolumen eingehalten werden konnte. Nach der Blutentnahme wurden die Monovetten vorsichtig geschwenkt, um das Blut vollständig mit den Antikoagulanzen der Monovetten zu durchmischen. Dabei wurde darauf geachtet, dass die Blutproben keinem unnötigen Scherstress ausgesetzt wurden, um eine Aktivierung des plasmatischen Gerinnungssystems zu vermeiden. Im vorgegebenen Zeitfenster wurde bei Raumtemperatur mit den Messungen begonnen.

3.2.3 PADA-Prinzip

Das Prinzip des PADA beruht auf der Analyse von zwei durch Citrat antikoagulierten Vollblutproben, bei der durch eine quantitative Messung der aktuelle Aktivitätszustand der zirkulierenden Thrombozyten ermittelt wird. Dazu wird das Adhäsionsverhalten der Thrombozyten genutzt.

Methodik

Mit Hilfe des Minischüttlers wurde durch eine kalibrierte Frequenz von 550 min^{-1} ein definierter Scherstress (von 25 dyn/cm^2) erzeugt. Vorausgehende Untersuchungen in der Arbeitsgruppe von Prof. Dr. med. Nowak haben ermittelt, dass dieser Scherstress in etwa dem entspricht, der im präkapillären Bereich und in den „konduktiven“ Gefäßen (Durchmesser 20 - 30 μm) vorherrscht ($20 - 60 \text{ dynes/cm}^2$).

Der Zeitraum der Schüttelinkubation wurde so gewählt, dass in den Thrombozyten keine primäre Aggregation induziert wird, da nur die Adhäsivität bei PADA-Messungen zur Erfassung des aktuellen Aktivitätszustandes der Thrombozyten dient. Um diese Adhäsivität messbar zu machen, wurde gemäß der PADA-Anleitung eine Partikelsuspension zugegeben, die eine definierte Menge speziell designerter Polymerpartikel (siehe Abb. 2) mit einer Größe von 5 - 6 μm enthält.

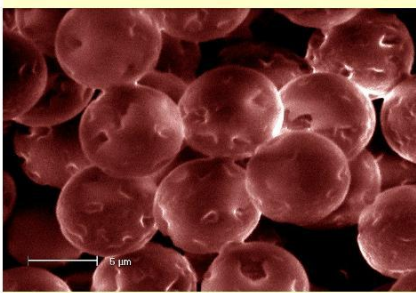


Abb. 2: Polymerpartikel (Nowak et al 2005)

Diese nativen Polymerpartikel bestehen aus Polyalkylmethacrylat und sind porös. Sehr rasch nach Partikelzugabe wird ausschließlich blutprobeneigenes Fibrinogen aufgrund spezieller morphologischer Eigenschaften der Polymerpartikel auf deren Oberfläche gebunden.

Dies ermöglicht den Thrombozyten, mit Hilfe ihrer durch den Scherstress aktivierten GPIIb/IIIa- und GPIb/IX-Fibrinogenrezeptoren an die Fibrinogen-coatierten Partikel zu binden (siehe Abb. 3).

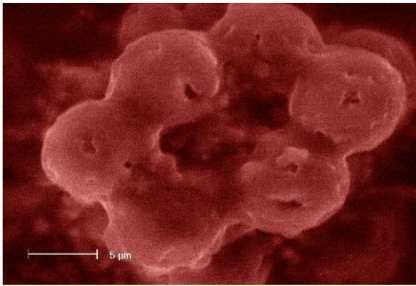
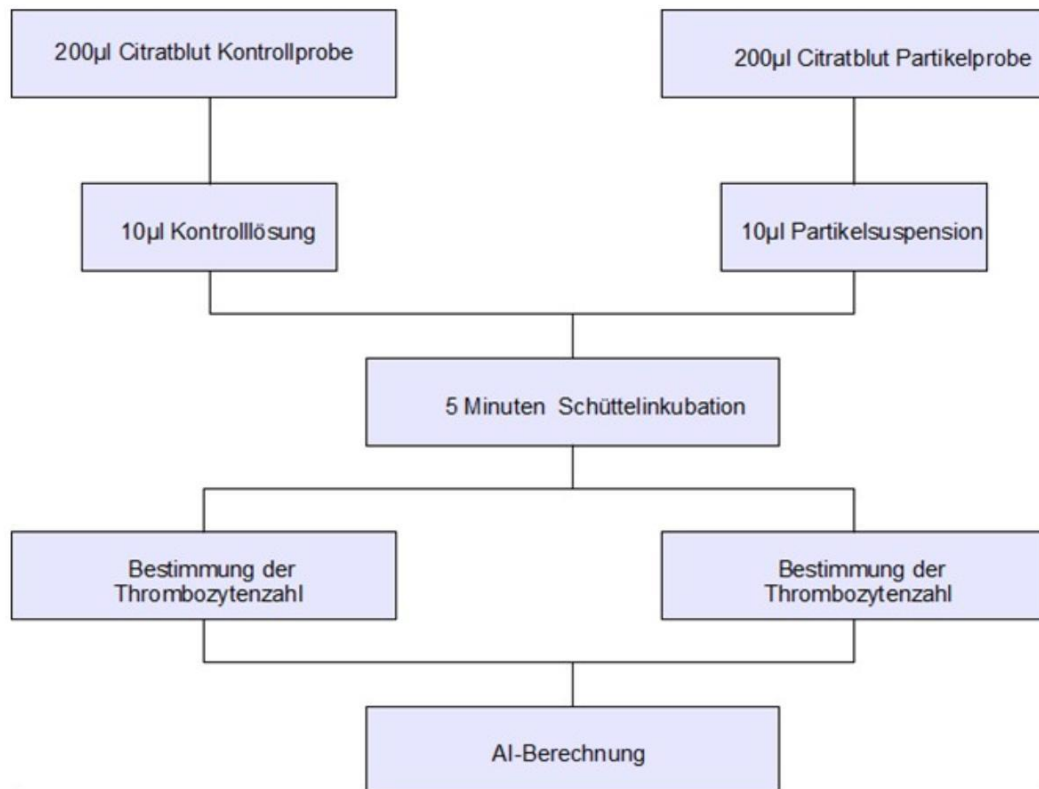


Abb. 3: Polymerpartikel mit adhärerten Thrombozyten (Nowak et al. 2005)

Als Bezugswert wurde eine Kontrollprobe mitgeführt, bei der anstelle der Partikelsuspension 0,9 % NaCl mit stabilisierendem Zusatz zugegeben wurde. Nach Beendigung der Schüttelinkubation wurden in beiden Probenansätzen die „freien“ Thrombozyten mittels Hämatologie-Analysator KX-21 gezählt und der Adhäsionsindex berechnet (siehe Abb. 4). Der AI entspricht dem aktuellen Aktivitätszustand der Thrombozyten und bildet für die nachfolgende Diagnostik und Auswertung die Grundlage (Nowak et al. 2005).



AI-Berechnung:

$$AI = \frac{Kontrollprobe^* - Partikelprobe^*}{Kontrollprobe^*} \cdot 100$$

*[Mittelwert der gezählten Thrombozyten aus Doppelbestimmung]

Abb. 4: Flussdiagramm PADA

Der Normalwert für den Adhäsionsindex beträgt laut Herstellerangaben 52 ± 12 . Der AI-Wert ist unabhängig von der Zahl der Thrombozyten in Grenzen von 100000/ μ l bis 350000/ μ l, vom Fibrinogengehalt bei Werten von 1,5 g/l bis 5,0 g/l, vom Hämatokrit im Rahmen von 25 % bis 44 % und auch das Alter hat nur einen marginalen, nicht signifikanten Einfluss (Nowak et al. 2005).

Liegt der Adhäsionsindex oberhalb eines Wertes von 65, besteht ein pathologisch erhöhter Aktivitätszustand der Thrombozyten, der überwacht werden sollte.

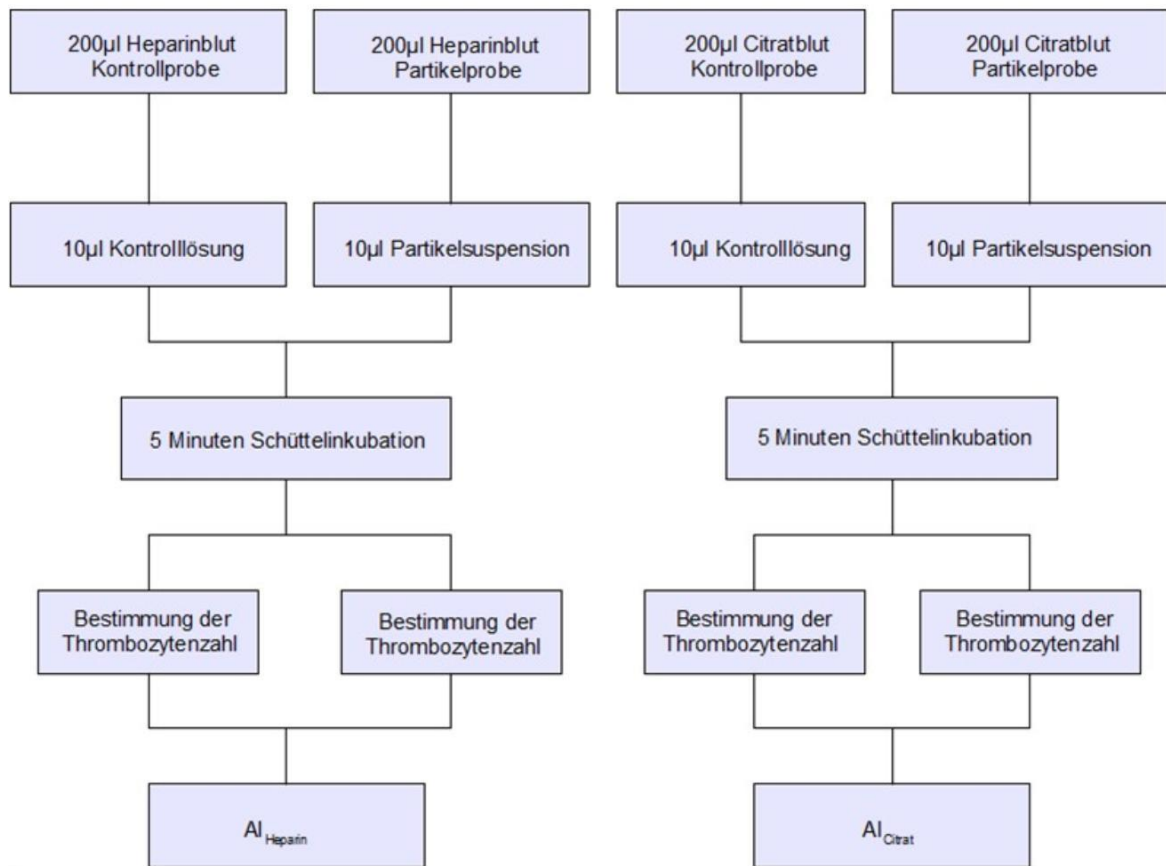
Dieses Testprinzip wurde primär entwickelt, um eine Therapiekontrolle der GPIIb/IIIa- und ADP-Rezeptorantagonisten zu ermöglichen, da diese Wirkstoffe in die frühe Phase der Thrombozytenaktivierung eingreifen und damit die Bereiche beeinflussen, die mit dem PADA-Test erfasst werden können.

3.2.4 PADA-HIT-Prinzip

Eine Modifikation der PADA-Methode stellt der PADA-HIT dar.

Diese Methode wurde entwickelt, um einen indirekt Heparin-induzierte Antikörper (speziell IgG-AK) nachweisen zu können, welche an den $Fc\gamma_{II}$ -Rezeptoren an der Thrombozytenoberfläche binden können.

Für den PADA-HIT wurden parallel zu den PADA-Bestimmungen im Citratblut Heparinblutproben untersucht, die nach dem selben Prinzip gemessen werden. Aus diesen Heparinmessproben wurde ein Heparin-AI berechnet und mit den Citrat-AI-Werten verglichen (siehe Abb. 5).



$$AI_{Heparin} > AI_{Citrat} = HIT II - AK negativ$$

$$AI_{Heparin} \leq AI_{Citrat} = HIT II - AK positiv$$

Abb. 5: Flussdiagramm PADA-HIT

Das verwendete Heparin führt über direkte Heparin-Bindungsstellen („Heparin-Rezeptoren“) auf den Thrombozyten zu deren Aktivierung und führt zu einer Heparin-bedingten Erhöhung des Adhäsionsindex ($AI_{Heparin} > 80$).

Im Anschluss an die Berechnung der AI's im Citrat- und Heparinblut wurden die Werte miteinander verglichen, um zu prüfen, ob HIT II-Antikörper in der Blutprobe vorhanden sind. Wenn der Adhäsionsindex im Heparinblut größer ist als im Citratblut, dann befinden sich in der Blutprobe keine Heparin-induzierten Antikörper. Ist der AI im Citratblut größer als im Heparinblut, ist das ein Hinweis auf das Vorhandensein von HIT II-AK im Blut.

Die Entstehung dieser Antikörper ist ursächlich mit der Bildung der PF4-Heparin-Komplexe verbunden. Ein gewisser Prozentsatz der Personen, die mit Heparin behandelt werden, entwickeln IgG-Antikörper gegen diese Komplexe. Sind Heparin-induzierte IgG-Antikörper im Blut vorhanden, werden diese auf die Fc γ _{II}-Rezeptoren, die sich auf der Thrombozytenoberfläche befinden, gebunden. Diese Fc γ _{II}-Rezeptoren befinden sich in unmittelbarer Nähe der Heparinrezeptoren. Bei Besetzung dieser Rezeptoren mit den großmolekularen HIT II-AK auf den Thrombozyten ist Heparin nicht mehr in der Lage, an seinen spezifischen Rezeptoren (GpIIb) auf den Thrombozyten zu binden und dies verhindert die Aktivierung der Thrombozyten durch Heparin („paradoxe Thrombozytenhemmung im Heparinblut“). Dies spiegelt sich im Heparinblutansatz durch den erniedrigten Adhäsionsindex wider.

Weiterhin wurden vor Beginn der Messungen die Ausgangsthrombozytenzahlen in der Heparin- und Citratmonovette ermittelt. Hier können zusätzlich erste Hinweise auf den HIT II-AK-Status erhalten werden. Ist der Ausgangswert der Thrombozyten in der Heparinprobe um mindestens 20000 Thrombozyten geringer als in der Citratprobe, liegt eine Heparinbedingte Spontanaggregation vor. Dies bedeutet, dass der geringe Scherstress bei der Blutabnahme und der Transport zum Laborplatz bei vorhandenen HIT II-AK ausreicht, um eine spontane Thrombozytenaggregation in der Heparinblutprobe auszulösen.

3.2.5 PADA-RASS-Prinzip

Als völlig neuer Ansatz wurde im Rahmen dieser Promotionsarbeit der PADA-RASS eingeführt. Dieser Test stellt eine innovative Möglichkeit der ASS-Resistenzmessung dar, die im heparinisierten Vollblut durchgeführt wird.

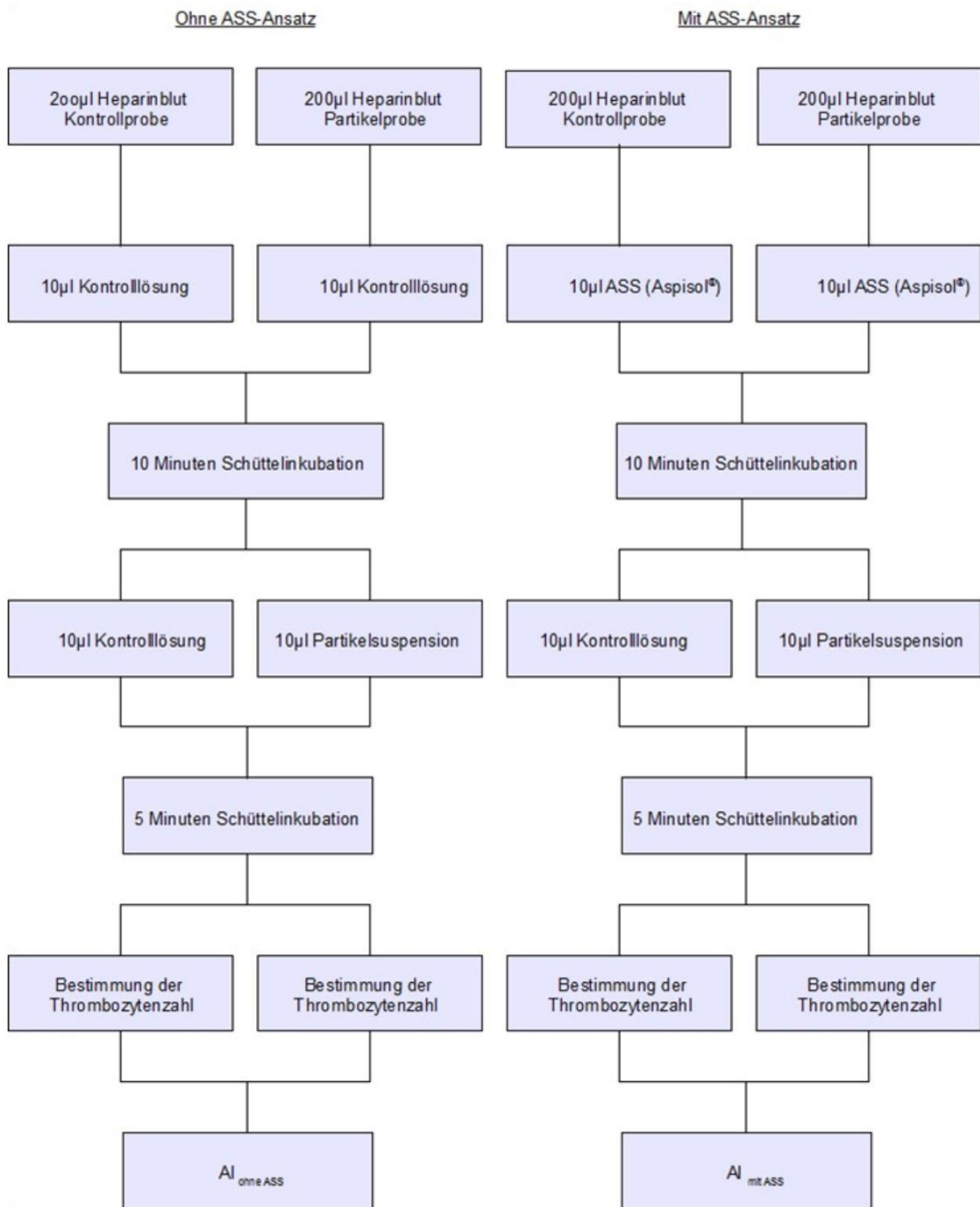
Es werden vergleichende PADA-Messungen in Heparinblutproben mit und ohne Zugabe von ASS durchgeführt.

Zunächst werden zwei Messungen „ohne-ASS“ zur Ermittlung des Basis-Adhäsionsindex durchgeführt. Sie entsprechen vom Prinzip her dem des Heparin-AI-Wertes. Zwei weiteren Proben wird vor Beginn der Schüttelinkubation ASS zugegeben, daraus ergibt sich der „mit-ASS“-Ansatz.

Im Anschluss an eine 10-minütige Schüttelinkubation wird im weiteren Verlauf der vier Messansätze durch Zusatz von Partikelsuspension einerseits oder von Kontrolllösung andererseits verfahren. Dies entspricht damit dem bereits oben geschilderten Versuchsverlauf. Nach der Beendigung einer zweiten Schüttelphase von 5 Minuten wird die Anzahl der freien Thrombozyten in den vier Proben ermittelt und die Adhäsionsindices (AI) berechnet (siehe Abb. 6). Wie im oberen Textabschnitt erwähnt, kann Heparin bei einwirkendem Scherstress über Rezeptoren auf den Thrombozyten an diesen binden und die Thrombozyten dadurch in einen Aktivierungszustand versetzen. Dies führt zu einem Anstieg des AI. Diese Heparin-induzierte Thrombozytenaktivierung ist in der Gruppe der ASS-Responder durch das zugegebene ASS antagonisiert worden und führt somit zu einer Verminderung des AI. Somit kopiert das PADA-RASS-Messprinzip die physiologische Wirkung des ASS und ermöglicht die Erfassung einer Aktivitätshemmung der Thrombozyten. Dieses individuelle Ansprechen der Thrombozyten auf ASS ist auf drei differenzierte Arten auszuwerten.

Ist der Adhäsionsindex im Messansatz „ohne ASS“ größer als der Adhäsionsindex „mit ASS“, wird der Proband bzw. Patient als ASS-Responder bezeichnet, da ASS die gewünschte Wirkung zeigt, das heißt, die Thrombozytenadhäsion wird verringert bzw. ASS senkt effektiv den hohen Adhäsionsindex des Heparinblutes.

Unterscheidet sich die Differenz der beiden AI-Werte um nicht mehr als drei, besteht eine ASS-Nonresponse. Hier hatte ASS keinen hemmenden Einfluss auf die Thrombozytenfunktion.



$$AI_{ohneASS} > AI_{mitASS} = ASS-Responder$$

$$AI_{ohneASS} = AI_{mitASS} (\pm 3) = ASS-Nonresponse$$

$$AI_{ohneASS} < AI_{mitASS} = PRASA$$

Abb. 6: Flussdiagramm PADA-RASS

Wenn der Adhäsionsindex der Heparinblutprobe mit ASS deutlich größer ist als der AI ohne Zugabe von ASS, wird von einer PRASA (paradoxical reaction on ASA) gesprochen. Hierbei trat bei Thrombozytenkontakt mit ASS keine Hemmung der Heparin-induzierten erhöhten Thrombozytenadhäsion ein, sondern es war eine verstärkte paradoxe Aktivierung der Thrombozyten nachweisbar.

3.2.6 Durchführung PADA und PADA-HIT

Im Rahmen der Messvorbereitungen und Blutentnahmen wurden die Herstellerangaben exakt eingehalten, um somit die Konstanz der Messbedingungen gewährleisten zu können.

Nach der Blutentnahme wurden Blutproben, die Anzeichen einer beginnenden Gerinnung zeigten, verworfen. Grundsätzlich wurde als erstes im Blutzellautomat jeweils einmal die Ausgangsthrombozytenzahl in der Heparin- und Citratmonovette bestimmt.

Die sich unmittelbar anschließenden Messungen dienten der Berechnung des PADA und PADA-HIT. Zunächst wurden nach PADA-HIT-Anleitung jeweils 200 µl Heparinblut in das Kontrollröhrchen und das Probenröhrchen pipettiert. Der Kontrollprobe wurden 10 µl Kontrolllösung zugegeben und der Messprobe entsprechend 10 µl Partikelsuspension. Die Partikelsuspension wurde unmittelbar vor jedem Gebrauch homogenisiert, um bei jeder Messung eine gleich bleibende Anzahl von Partikeln zu erhalten. Die Homogenisierung der Partikelsuspension erfolgte mittels Vortexer beziehungsweise per Hand. Weiterhin wurde darauf geachtet, dass das Partikelröhrchen sofort nach Gebrauch wieder verschlossen wurde, um es vor Flüssigkeitsverlust durch Austrocknung zu schützen. Es folgte die Schüttelinkubation beider Proben über exakt 5 Minuten. Anschließend erfolgten abwechselnd in der Kontroll- und Partikelprobe jeweils zwei Messungen der Thrombozytenzahlen, um aus den Mittelwerten den Adhäsionsindex zu berechnen. Diese vier Messungen sollten innerhalb von 10 Minuten nach Beendigung der Schüttelinkubation durchgeführt werden.

Im Anschluss wurden die Werte der Plättchenzählung in folgende Berechnungsformel eingefügt:

$$AI = \frac{\text{Kontrollprobe}^* - \text{Messprobe}^*}{\text{Kontrollprobe}^*} \cdot 100 \quad *[\text{Mittelwert der Plättchenwerte aus der Doppelbestimmung}]$$

Ein identischer Messvorgang wurde für das Citratblut durchgeführt, um den PADA-AI zu ermitteln. Dabei sollte die Citratblutmessung zwischen der 40. - 60. Minute nach Blutentnahme erfolgen. Aus dem AI der Heparinproben und dem AI der Citratproben ergab sich anschließend der HIT II-AK-Status. Für die gesamte Durchführung des PADA und PADA-HIT sollte einen Messzeitraum von 40 - 60 Minuten nach der Blutentnahme nicht überschritten werden.

3.2.7 Durchführung PADA-RASS

Für den PADA-RASS wurde ausschließlich Heparinblut verwendet. Für den Ansatz ohne ASS wurden jeweils 200 µl Heparinblut in ein Kontroll- und ein Probenröhrchen pipettiert. Anschließend sind zu beiden Proben 10 µl Kontrolllösung gegeben worden und es folgte eine Schüttelphase von 10 Minuten. In einem zweiten Schritt wurden weitere 10 µl Kontrolllösung in das Kontrollröhrchen und in das Probenröhrchen 10 µl Partikelsuspension gegeben. Darauf folgten für beide Proben erneut 5 Minuten Schüttelinkubation und sofort im Anschluss wurden die freien Thrombozyten in den Probenröhrchen bestimmt.

Bei dem Messansatz mit ASS werden anstelle der Kontrolllösung im ersten Schritt jeweils 10 µl ASS (Aspisol®) in das Kontroll- und das Probenröhrchen pipettiert. Der weitere Verlauf der Messungen entsprach dem Prinzip des „ohne-ASS“ Ansatzes. Auch hier schloss sich eine Schüttelphase von 10 Minuten an, anschließend wurden in das Probenröhrchen 10 µl Partikelsuspension und in das Kontrollröhrchen 10 µl Kontrolllösung gegeben und eine 5-minütige Schüttelinkubation folgte. Im Anschluss daran wurde der Adhäsionsindex ermittelt und mit dem AI des „ohne ASS“ Ansatzes verglichen.

3.2.8 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung erfolgte mit SPSS-15 und Microsoft Excel 2003. Die deskriptive Darstellung der Ergebnisse umfasste den Mittelwert, Median, Standardabweichung (SD), Spannweite, Minimum und Maximum. Statistische Vergleiche zwischen zwei metrischen Variablen wurden mit Hilfe der bivariaten Korrelation durchgeführt, während Vergleiche zwischen einem metrischen und einem binären Merkmal nach Prüfung der Voraussetzungen mittels t- bzw. u-Test erfolgten. Zur Überprüfung der ermittelten Signifikanzen wurde anschließend eine lineare Regression durchgeführt.

Methodik

Zur statistischen Auswertung zweier binärer Variablen bzw. Variablen mit drei Merkmalsausprägungen wurde der Chi-Quadrat-Test bzw. der exakte Test nach Fisher verwendet. In diesem Fall wurde zur besseren Beurteilung der Ergebnisse eine binär logistische bzw. multinomiale logistische Regression realisiert. Bei den vergleichenden Untersuchungen von metrischen Variablen mit einem Merkmal, das drei Ausprägungen besitzt, wurde nach Prüfung der Voraussetzungen eine ANOVA (analysis of variance) oder ein Kruskal-Wallis-Test gebraucht. Ermittelte Unterschiede wurden bei $p \leq 0,05$ als statistisch signifikant gewertet und im Text bzw. in Tabellen mit „*“, „**“ oder „***“ gekennzeichnet.

4 Ergebnisse

Der Ergebnisteil gliedert sich in drei Hauptabschnitte, die den drei durchgeführten Tests (PADA, PADA-HIT und PADA-RASS) entsprechen.

Jeder Themenabschnitt unterteilt sich in die Auswertung der Daten von gesunden Probanden und von dialysepflichtigen Patienten sowie dem Vergleich der beiden Studienpopulationen.

4.1 PADA

4.1.1 PADA-Daten der gesunden Probanden

Zunächst wurde der PADA im Citratblut von 100 gesunden Probanden ermittelt und statistisch ausgewertet.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 dargestellt. Der statistische Mittelwert der 100 PADA-AI's liegt bei $44,42 \pm 17,98$ mit einem Maximum von 96 und einem Minimum von 14. Der Median beträgt 42,00.

Abb. 7 veranschaulicht die ermittelte Verteilung der PADA-Werte gesunder Probanden. Die explorative Datenanalyse ergab, dass die Werte keine Normalverteilung aufweisen ($p < 0,1$).

Tabelle 4: Deskriptive Statistik des PADA der gesunden Probanden

Merkmal	Citrat AI der gesunden Probanden
N = 100	
Mittelwert	44,42
Median	42,00
Standardabweichung	17,98
Spannweite	82
Minimum	14
Maximum	96

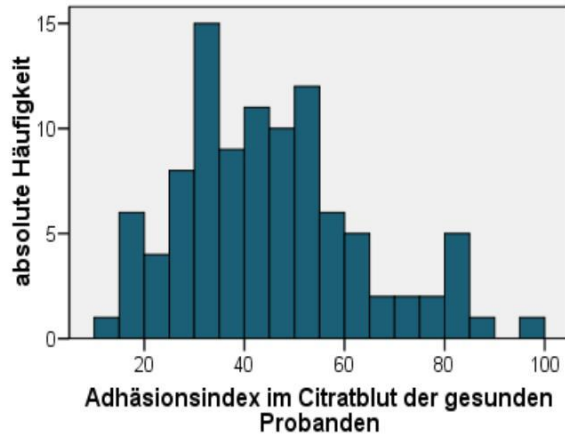


Abb. 7: PADA-AI Histogramm der gesunden Probanden

4.1.2 PADA der gesunden Probanden in Bezug zu ausgewählten Biovariablen

4.1.2.1 PADA in Bezug zu metrischen Merkmalen

Bei den PADA-Untersuchungen wurden neben der Anzahl freier Thrombozyten auch die Zahl der in den Proben enthaltenen Erythrozyten und Leukozyten erfasst. Im Folgenden wurden bivariate Korrelationen erstellt, um eventuelle lineare Zusammenhänge zwischen den individuellen PADA-Werten und der Zahl der geformten Blutbestandteile zu ermitteln. Die Korrelation zwischen der Thrombozytenzahl im Citratblut und dem AI war höchst signifikant. Es zeigte sich, dass eine negative Korrelation zwischen steigender Thrombozytenzahl und dem AI vorliegt.

Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt.

Ergebnisse

Tabelle 5: Bivariate Korrelation des PADA der gesunden Probanden und metrische Variablen

	AI im Citratblut		
	N	Korrelation nach Pearson	Signifikanz (2-seitig)
Plättchenzahl (PLZ) im Citratblut	100	-0,314	0,001***
Erythrozytenzahl im Citratblut	96	-0,106	0,302
Leukozytenzahl im Citratblut	96	-0,155	0,131
Alter	100	0,022	0,827

4.1.2.2 PADA in Bezug zu binären Merkmalen

Alle gesunden Probanden füllten zu Beginn der Untersuchung einen Fragebogen aus, der Angaben zu Vorerkrankungen und Lebensstil erfasste. Tabelle 6 stellt die statistische Auswertung zwischen den berechneten Adhäsionsindices im Citratblut und den Daten der Fragebögen dar.

Im Ergebnis der Analysen wurden keine statistisch signifikanten Zusammenhänge zwischen den individuellen AI-Werten und den aufgeführten Variablen gefunden.

Tabelle 6: Einflüsse binärer Merkmale auf die individuellen AI-Werte

Merkmal		Adhäsionsindex im Citratblut						Signifikanz (2-seitig)
		N	MW	SD	Median	Maximum	Minimum	Mann-Whitney-U-Test
Geschlecht	weiblich	55	45,84	17,46	43,00	96	17	0,398
	männlich	45	42,69	18,65	39,00	85	14	
Hypertonie	negativ	94	44,41	18,12	42,00	96	14	0,879
	positiv	6	44,50	17,14	42,50	71	20	
Gerinnungsstörung	negativ	94	43,62	17,14	41,50	84	14	0,251
	positiv	6	57,00	27,11	46,00	96	27	
regelm. Medikamenten- einnahme	negativ	61	42,26	18,06	37,00	85	14	0,081
	positiv	39	47,79	17,57	46,00	96	17	
Einnahme Kontrazeptiva	negativ	24	42,75	15,56	40,50	83	26	0,182
	positiv	31	48,23	18,69	46,00	96	17	
Rauchen	negativ	79	45,08	16,63	43,00	96	14	0,141
	positiv	21	41,95	22,65	31,00	85	17	

4.1.3 PADA-Daten der Dialysepatienten

Es wurden die PADA-Werte von 71 Patienten, die sich einer chronisch intermittierenden Hämodialyse unterziehen mussten, ermittelt.

In der Tabelle 7 ist die deskriptive Statistik der ermittelten Adhäsionsindices im Citratblut dialysepflichtiger Patienten zusammengefasst. Dabei wurde ein Mittelwert von $58,83 \pm 17,61$ und Median von 59,00 gefunden.

Das Histogramm (Abb. 8) zeigt die Häufigkeitsverteilung der AI bei den Dialysepatienten. Bei diesen Untersuchungen wurde auch mittels explorativer Datenanalyse die Normalverteilung der PADA-Werte überprüft. Sie konnte bestätigt werden ($p > 0,1$).

Tabelle 7: Deskriptive Statistik derPADA-AI der Dialysepatienten

Merkmal	Citrat-AI der Dialysepatienten
N = 71	
Mittelwert	58,83
Median	59,00
Standardabweichung	17,61
Spannweite	75
Minimum	20
Maximum	95

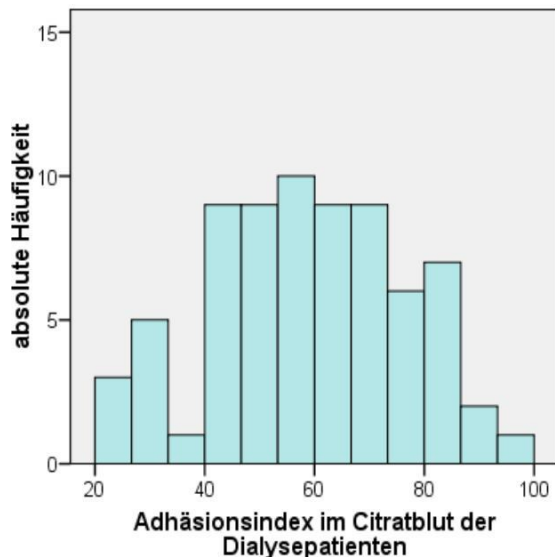


Abb. 8: PADA-Histogramm der untersuchten Dialysepatienten

4.1.4 PADA der Dialysepatienten in Bezug zu ausgewählten Biovariablen

4.1.4.1 PADA in Bezug zu metrischen Merkmalen

Die Adhäsionsindices im Citratblut der Dialysepatienten wurden mittels bivariater Korrelation auf signifikante Zusammenhänge mit den in Tabelle 8 aufgeführten Variablen geprüft. Bei der Analyse der Ergebnisse zeigt sich, dass die Ausgangszahlen der Thrombozyten im Citratblut, die Erythrozyten- bzw. Leukozytenzahlen im Citratblut und das Alter keinen signifikanten Zusammenhang zu den PADA-Werten besitzen.

Tabelle 8: Bivariate Korrelation der PADA-AI der Dialysepatienten in Bezug zu metrischen Merkmalen im Citratblut

	AI im Citratblut		
	N	Korrelation nach Pearson	Signifikanz (2-seitig)
Thrombozytenzahl im Citratblut	71	0,089	0,461
Erythrozytenzahl im Citratblut	70	0,138	0,253
Leukozytenzahl im Citratblut	69	0,045	0,712
Alter	71	-0,086	0,476

4.1.4.2 PADA in Bezug zu binären Merkmalen

Die individuellen Daten der Dialysepatienten wurden aus den Krankenakten entnommen und auf signifikante Zusammenhänge mit den PADA-Werten untersucht. Hierzu wurden nach Prüfung der Voraussetzungen der t- bzw. u-Test angewendet (Tabelle 9).

Die Ergebnisse der Untersuchungen innerhalb des Patientenkollektivs sind in Tabelle 9 aufgeführt. Es zeigen sich signifikante Unterschiede der Mittelwerte der PADA-Daten in Bezug auf die Einnahme von ASS (54,88/64,55) und ADP-Rezeptor-Antagonisten (61,33/48,64). Des Weiteren zeigt sich ein hoch signifikanter Unterschied der PADA-Werte (61,24/47,00) bezüglich dem Vorliegen einer Lebererkrankung. Die Ergebnisse sind in Abb. 9 dargestellt.

Ergebnisse

Tabelle 9: PADA und binäre Merkmale von Dialysepatienten

Merkmal		Citrat-AI						Signifikanz (2-seitig)
		N	MW	SD	Median	Maximum	Minimum	t-Test
Geschlecht	weiblich	28	55,86	18,89	59,50	88	20	0,254
	männlich	43	60,77	16,67	59,00	95	28	
Erkrankungen								
Lebererkrankungen	negativ	59	61,24	17,14	60	95	21	0,010**
	positiv	12	47,00	15,53	45	73	20	
Lebensstil								
Rauchen	negativ	35	55,49	15,72	56,00	86	21	0,115
	positiv	36	62,08	18,92	64,50	95	20	
Dauermedikation								
ASS	negativ	42	54,88	16,70	54,00	90	20	0,022*
	positiv	29	64,55	17,60	66,00	95	21	
ADP-Antagonisten	negativ	57	61,33	15,75	63,00	95	21	0,015*
	positiv	14	48,64	21,49	46,50	85	20	
Nichtsteroidale Antirheumatika (NSAR)	negativ	51	60,25	16,78	59,00	95	20	0,280
	positiv	20	55,20	19,54	59,50	90	21	

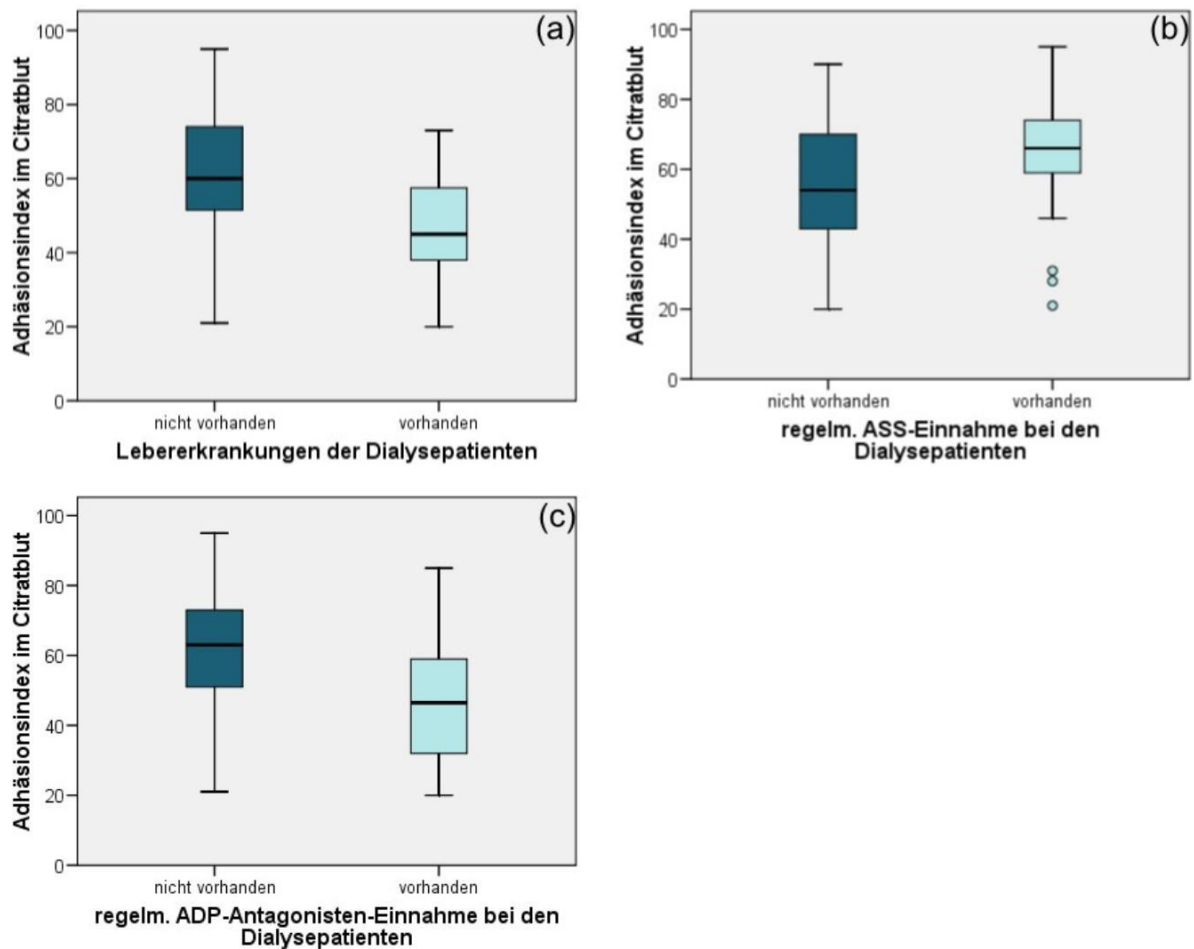


Abb. 9: Citrat-AI der Dialysepatienten und (a) Lebererkrankungen, (b) ASS-Einnahme bzw. (c) ADP-Antagonisten-Einnahme

4.1.5 Vergleich der PADA-Werte von gesunden Probanden und Dialysepatienten

In der vergleichenden Analyse werden die PADA-Ergebnisse der gesunden Probanden mit denen der Dialysepatienten verglichen.

4.1.5.1 Deskriptive Statistik der PADA-Werte

Im Vergleich der beiden untersuchten Studienpopulationen liegt der AI-Mittelwert der gesunden Probanden bei $44,42 \pm 17,98$, der Median beträgt 42,00. Im Vergleich dazu weisen die Dialysepatienten einen höheren Mittelwert ($58,83 \pm 17,61$) und Median (59,00) auf. Die Maximalwerte und Standardabweichungen zeigen im Vergleich nur einen geringen Unterschied (siehe hierzu Tabelle 10).

Ergebnisse

Tabelle 10: Vergleich der Studienpopulationen bzgl. der deskriptiven Statistiken der PADA-Werte

Merkmal	Citrat-AI der gesunden Probanden	Citrat-AI der Dialysepatienten
N	100	71
Mittelwert	44,42	58,83
Median	42,00	59,00
Standardabweichung	17,98	17,61
Spannweite	82	75
Minimum	14	20
Maximum	96	95

Neben dem Vergleich der deskriptiven Parameter wurde evaluiert, ob der beschriebene Unterschied der Mittelwerte zwischen den Studienpopulationen statistisch signifikant ist. Mit Hilfe des u-Tests ergab sich ein höchst signifikanter Unterschied zwischen den Mittelwerten der Adhäsionsindices der beiden Studienkollektive (Tabelle 11).

Tabelle 11: Vergleich Citrat-AI zwischen den Studienpopulationen mittels u-Test

Merkmal	Gruppe	N	MW	SD	Median	Minimum	Maximum	Signifikanz (2-seitig)
								Mann-Whitney-U-Test
Citrat-AI	Gesunde Probanden	100	44,42	17,979	42,00	14	96	0,000***
	Dialysepatienten	71	58,83	17,608	59,00	20	95	

Die Unterschiede der PADA-Werte von Probanden und Patienten sind in Abb. 10 grafisch dargestellt.

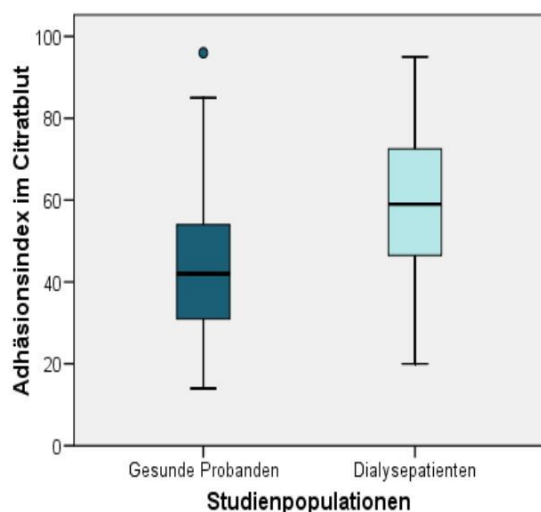


Abb. 10: Boxplot der Citratblut-AI der Studienpopulationen

4.1.5.2 Lineare Regression zur Überprüfung des Einflusses von Alter und Geschlecht auf die PADA-AI

Die beiden untersuchten Studienpopulationen sind hinsichtlich ihres Alters und Geschlechts nicht gematcht. Infolge dessen sollte mit Hilfe einer linearen Regression evaluiert werden, ob die Variablen Alter und Geschlecht den signifikanten Unterschied der PADA-Werte zwischen den Studienpopulationen beeinflussen bzw. der beschriebene Unterschied eventuell durch die unterschiedlichen Alters- bzw. Geschlechtsverteilungen in den beiden Studienpopulationen bedingt ist.

Tabelle 12 zeigt, dass auch bei Berücksichtigung der Variablen Alter und Geschlecht einerseits der Unterschied der PADA-Werte zwischen den Studienpopulationen höchst signifikant bleibt und andererseits Alter und Geschlecht keinen Einfluss auf das Merkmal Citrat-AI haben.

Tabelle 12: Lineare Regression auf Alter und Geschlecht im Vergleich der Gruppen

Merkmal	Nicht standardisierte Koeffizienten		95%-Konfidenzintervall für B		Signifikanz
	B	Standardfehler	Untergrenze	Obergrenze	
(Konstante)	45,234	3,900	37,534	52,934	0,000***
Gruppe	15,143	3,962	7,320	22,966	0,000***
Alter	-0,026	0,098	-0,219	0,166	0,788
Geschlecht	0,147	2,777	-5,336	5,629	0,958

4.1.5.3 PADA-Werte beider Studienpopulationen in Bezug zu binären Merkmalen

Beim Vergleich der gesunden Probanden mit den dialysepflichtigen Patienten zeigen sich statistisch signifikante Unterschiede der PADA-AI-Mittelwerte im Zusammenhang mit dem Nichtvorhandensein bzw. Vorhandensein von Erkrankungen. Dies gilt für Herzerkrankungen insgesamt, im speziellen koronare Herzerkrankungen (KHK), Herzinsuffizienz und hypertensive Herzkrankheit. Ebenso für diabetische Nephropathie, chronische Glomerulonephritis, Schrumpfnieren, polyzystische Nierendegeneration, Glomerulosklerose, Diabetes mellitus, maligne Erkrankungen und Thrombosen bzw. Schlaganfälle. Weiterhin unterscheiden sich die Citrat-AI-Mittelwerte der Probanden und Patienten hinsichtlich einer nicht vorhandenen bzw. vorhandenen Hypertonie. Hierbei mussten 6 gesunde Probanden aus den Berechnungen ausgeschlossen werden, da diese laut Eigenanamnese eine Hypertonie aufweisen. Entsprechendes galt bei den Berechnungen im Zusammenhang mit den Gerinnungsstörungen.

Die Mittelwertunterschiede der PADA-Adhäsionsindices zwischen den untersuchten Kollektiven sind in Tabelle 13 und der Abb. 11 dargestellt.

Tabelle 13: PADA-AI und binäre Merkmale

Merkmal		Citrat-AI						Signifikanz (2-seitig)
		N	MW	SD	Median	Maximum	Minimum	Mann-Whitney-U-Test
Herzerkrankungen allgemein	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,000***
	positiv	52	56,94	18,02	57,00	90	20	
Z.n. Myokardinfarkt	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,328
	positiv	10	52,90	25,14	49,00	90	20	
KHK	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,005**
	positiv	24	56,75	20,11	58,00	90	20	
Herzinsuffizienz	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,043*
	positiv	12	56,00	19,03	53,50	85	28	
hypertensive Herzkrankheit	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,003**
	positiv	31	55,10	18,45	56,00	88	20	
Kardiomyopathie	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,285
	positiv	5	54,20	20,01	52,00	79	28	
Arrhythmia absoluta	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,070
	positiv	19	53,05	20,35	55,00	85	20	
Klappenvitien	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,172
	positiv	14	50,21	18,19	53,50	73	20	

Ergebnisse

Merkmal	Citrat-AI							Signifikanz (2-seitig)
		N	MW	SD	Median	Maximum	Minimum	Mann-Whitney-U-Test
Koronarverschluss	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,185
	positiv	5	59,40	29,65	52,00	90	20	
AV-Block (atrioventrikulärer Block)	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,335
	positiv	5	51,40	17,04	46,00	74	31	
Nierenerkrankungen								
diabetische Nephropathie	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,000***
	positiv	17	63,71	18,36	66,00	90	20	
chronische Glomerulonephritis	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,009**
	positiv	10	57,80	13,29	56,50	86	43	
interstitielle Nephritis	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,158
	positiv	7	53,57	17,71	53,00	79	24	
mesangioproliferative IgA-Nephritis	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,192
	positiv	9	53,78	20,32	51,00	80	28	
Schrumpfniere	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,009**
	positiv	4	70,00	10,68	69,00	83	59	
polyzystische Nierendegeneration	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,023*
	positiv	7	63,00	19,63	72,00	85	30	
Nierenzell-Karzinom	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,060
	positiv	5	57,60	12,14	64,00	69	43	
Glomerulosklerose	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,032*
	positiv	6	60,17	16,74	60,00	86	37	
Analgetika- nephropathie	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,119
	positiv	3	60,67	18,18	55,00	81	46	
benigne Nephrosklerose	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,072
	positiv	4	56,00	5,94	54,00	64	51	
andere Erkrankungen								
Hypertonie	negativ	94	44,41	18,12	42,00	96	14	0,000***
	positiv	64	60,11	16,28	59,50	90	21	
Diabetes mellitus	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,000***
	positiv	17	63,71	18,36	66,00	90	20	
pAVK	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,136
	positiv	13	52,62	19,68	51	90	28	
maligne Erkrankungen	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,001***
	positiv	18	59,33	15,96	60,50	83	21	
Lebererkrankungen	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,440
	positiv	12	47,00	15,53	45	73	20	
Magenulcera	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,118
	positiv	4	64,75	20,06	74,50	86	24	

Ergebnisse

Merkmal	Citrat-AI							Signifikanz (2-seitig)
		N	MW	SD	Median	Maximum	Minimum	Mann-Whitney-U-Test
Thrombosen Schlaganfall	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,011*
	positiv	22	56,64	21,24	61,50	95	20	
Arteriosklerose	negativ	100	44,42	17,98	42,00	96	14	0,153
	positiv	7	55,71	20,03	52,00	83	32	
Gerinnungsstörungen	negativ	94	43,62	17,14	41,50	84	14	0,251
	positiv	6	50,83	17,12	43,00	83	37	

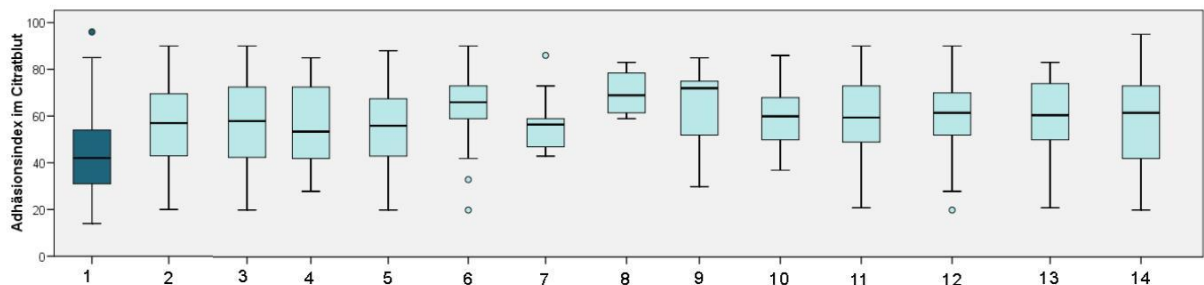


Abb. 11: Boxplots der signifikanten Unterschiede zwischen Gesunden (1) und Dialysepatienten (2 - 14) bezüglich Citrat-AI und binären Merkmalen (1 – Referenz [gesunde Probanden], 2 – Herzerkrankungen, 3 – KHK, 4 – Herzinsuffizienz, 5 – hypertensive Herzkrankheit, 6 – diabetische Nephropathie, 7 – chronische Glomerulonephritis, 8 – Schrumpfnieren, 9 – polyzystische Nierendegeneration, 10 – Glomerulosklerose, 11 – Hypertonie, 12 – Diabetes mellitus, 13 – maligne Erkrankungen, 14 – Thrombosen/Schlaganfall)

4.2 PADA-HIT

Der PADA-HIT ist eine Messmethode, mit der sich eine mögliche Fc_{moc} -Rezeptorbesetzung auf Thrombozyten mit IgG-AK, die während und nach einer Heparinbehandlung entstehen kann, nachweisen lässt.

4.2.1 PADA-HIT der gesunden Probanden

4.2.1.1 Deskriptive Statistik der Heparin-AI der gesunden Probanden

Die deskriptive statistische Auswertung der Heparinblut-AI der gesunden Probanden wird in Tabelle 14/Abb. 12 gezeigt.

Tabelle 14: Deskriptive Statistik der Heparin-AI gesunder Probanden

Merkmal	Heparin-AI der gesunden Probanden
N = 100	
Mittelwert	82,89
Median	89,00
Standardabweichung	15,80
Spannweite	78
Minimum	20
Maximum	98

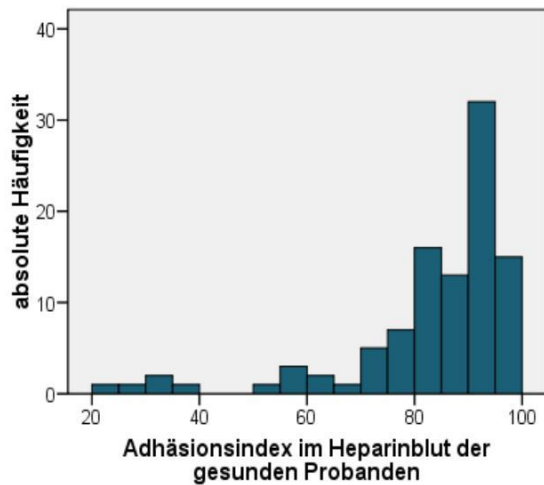


Abb. 12: Histogramm der PADA-HIT-AI im Heparinblut von gesunden Probanden

4.2.1.2 HIT II-Profil der gesunden Probanden

Die Auswertung des PADA-HIT zeigt, dass 85 (85 %) der gesunden Probanden einen HIT II-negativen und 15 (15 %) einen HIT II-positiven Befund aufweisen. Siehe dazu Abb. 13.

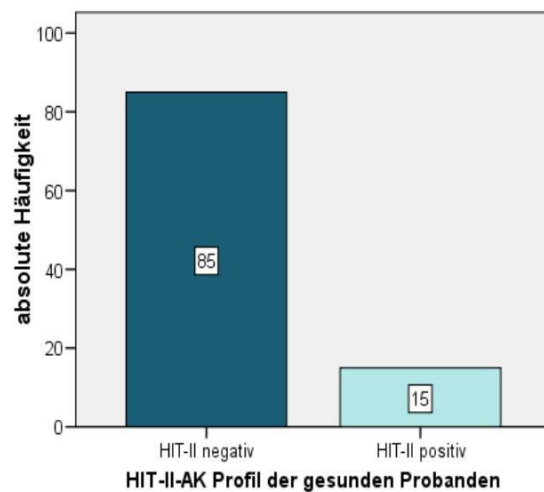


Abb. 13: Häufigkeit von HIT II-Antikörpern im Vollblut von gesunden Probanden

4.2.2 HIT II-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu ausgewählten Biovariablen

4.2.2.1 HIT II-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu metrischen Merkmalen

Die Untersuchungen ergaben keine statistisch signifikanten Zusammenhänge zwischen dem HIT II-Profil der gesunden Probanden und den ermittelten metrischen Variablen (Tabelle 15).

Tabelle 15: HIT II-Status der gesunden Probanden im Zusammenhang zu den ermittelten metrischen Merkmalen

Merkmal	HIT II-Status	N	MW	SD	Median	Maximum	Minimum	Signifikanz (2-seitig)	
								t-Test	Mann-Whitney-U-Test
Ausgangswert PLZ im Citratblut	negativ	81	234,12	42,27	232,00	334	139		0,141
	positiv	15	266,47	70,16	244,00	438	183		
Ausgangswert PLZ im Heparinblut	negativ	81	231,64	42,52	226,00	325	130		0,667
	positiv	15	230,67	59,63	205,00	320	155		
Erythrozytenzahl im Citratblut	negativ	81	4,25	0,40	4,19	5,19	3,57		0,082
	positiv	15	4,03	0,35	4,07	4,68	3,37		
Erythrozytenzahl im Heparinblut	negativ	81	4,73	0,48	4,66	5,81	3,91		0,066
	positiv	15	4,43	0,52	4,53	5,28	2,96		
Leukozytenzahl im Citratblut	negativ	81	5,51	1,21	5,20	8,90	2,90		0,600
	positiv	15	5,69	2,34	5,10	13,10	3,30		
Leukozytenzahl im Heparinblut	negativ	81	6,14	1,32	5,90	9,60	3,20	0,718	
	positiv	15	6,37	2,41	5,80	13,30	3,70		
Alter	negativ	85	33,46	13,22	27,88	68,01	18,57		0,460
	positiv	15	33,10	16,11	23,64	69,50	21,49		

4.2.2.2 HIT II-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu binären Merkmalen

Die Analyse der Zusammenhänge zwischen dem HIT II-Status der gesunden Probanden und den aufgeführten Merkmalen ergibt mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests, dass bezüglich der Geschlechtsverteilung und vorherigen Heparinbehandlungen statistisch signifikante Zusammenhänge bestehen (siehe Tabelle 16).

Die Geschlechtsverteilung bezogen auf den HIT II-Status ergibt bei den Probandinnen 21,8 % HIT II-positive Befunde. Dagegen sind bei den Probanden 6,7 % HIT II-positive Befunde. Dies zeigt auf, dass die gesunden Probandinnen häufiger ein HIT II-positives Profil aufweisen als die gesunden Probanden ($p = 0,048^*$).

Ergebnisse

Bei den 80 Probanden, die keine vorherigen Heparinbehandlungen erhielten, erweisen sich 91,3 % als HIT II-negativ und 8,7 % als HIT II-positiv. Bei den 20 Probanden, die vorherige Heparinbehandlungen erhielten, waren 60 % HIT II-negativ und 40 % HIT II-positiv ($p = 0,002^{***}$) (siehe Abb. 14).

Tabelle 16: HIT II-Status der gesunden Probanden in Bezug zu binären Merkmalen

Merkmal		N	HIT II-Status		Signifikanz (2-seitig)
			negativ [%]	positiv [%]	Exakter Test nach Fisher
Untersucher	Person 1	49	42 [85,7 %]	7 [14,3 %]	1,000
	Person 2	51	43 [84,3 %]	8 [15,7 %]	
Geschlecht	weiblich	55	43 [78,2 %]	12 [21,8 %]	0,048*
	männlich	45	42 [93,3 %]	3 [6,7 %]	
vorherige Heparinbehandlungen	negativ	80	73 [91,3 %]	7 [8,7 %]	0,002**
	positiv	20	12 [60,0 %]	8 [40,0 %]	

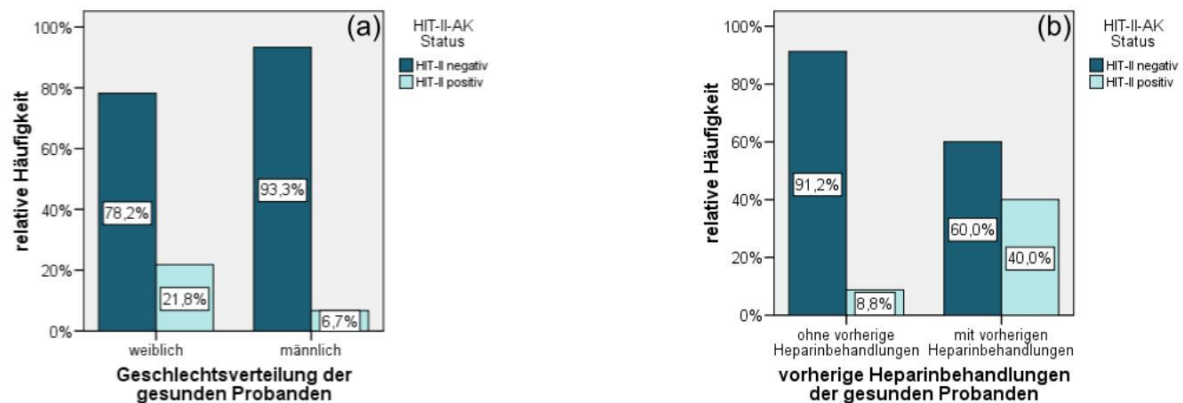


Abb. 14: HIT II-Profil der gesunden Probanden und (a) Geschlechtsverteilung bzw. (b) vorherige Heparinbehandlungen

4.2.3 PADA-HIT der Dialysepatienten

4.2.3.1 Deskriptive Statistik der Heparin-AI der Dialysepatienten

Die deskriptive Auswertung der Adhäsionsindices im Heparinblut der Dialysepatienten ist in Tabelle 17 und Abb. 15 dargestellt.

Tabelle 17: Deskriptive Statistik der Heparin-AI's der Dialysepatienten

Merkmal	Heparin-AI der Dialysepatienten
N = 71	
Mittelwert	69,39
Median	74,00
Standardabweichung	22,17
Spannweite	83
Minimum	14
Maximum	97

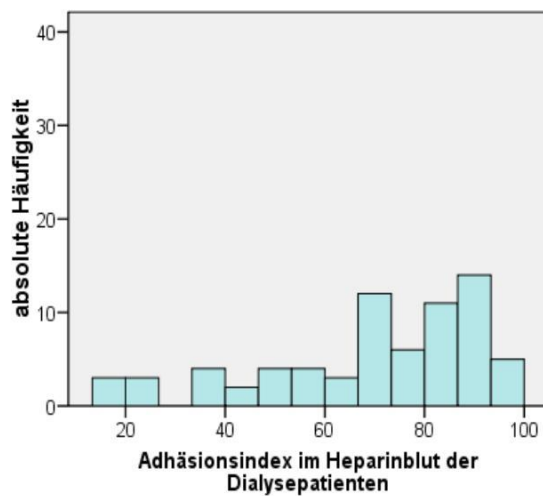


Abb. 15: Histogramm der Heparin-AI-Werte der Dialysepatienten

4.2.3.2 HIT II-Profil der Dialysepatienten

Die HIT II-Häufigkeit von Dialysepatienten ist in Tabelle 18 und Abb. 16 zusammengefasst.

Tabelle 18: Häufigkeitsverteilung HIT II-Status bei Dialysepatienten

Merkmal	absolute Häufigkeit	relative Häufigkeit
HIT II-negativ	44	62 %
HIT II-positiv	27	38 %
Gesamt	71	100 %

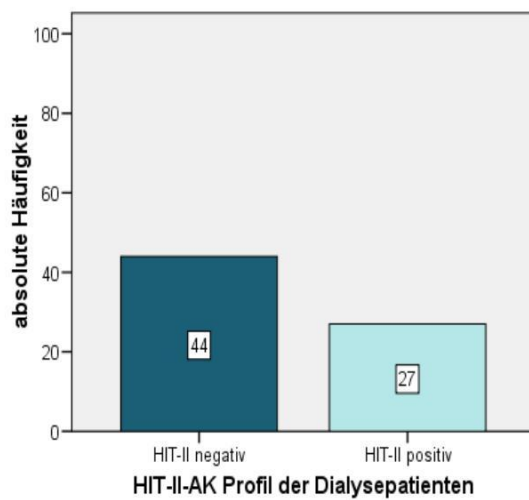


Abb. 16: HIT II-Profil der Dialysepatienten

4.2.4 HIT II-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu ausgewählten Biovariablen

4.2.4.1 HIT II-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu metrischen Merkmalen

Die Analyse des HIT II-Profiles der Dialysepatienten in Bezug auf die in Tabelle 19 angeführten metrischen Variablen ergibt keine signifikanten Ergebnisse.

Tabelle 19: HIT II-Profil der Dialysepatienten in Bezug auf metrische Merkmale

Merkmal	HIT II-Status	N	MW	SD	Median	Maximum	Minimum	Signifikanz (2-seitig)	
								t-Test	Mann-Whitney-U-Test
Erythrozytenzahl im Citratblut	negativ	44	3,32	0,49	3,36	4,42	1,79	0,398	
	positiv	25	3,26	0,43	3,12	4,27	2,70		
Erythrozytenzahl im Heparinblut	negativ	44	3,67	0,65	3,72	4,92	1,97	0,459	
	positiv	25	3,54	0,52	3,47	4,46	2,30		
Leukozytenzahl im Citratblut	negativ	44	5,61	1,38	5,35	9,00	2,80	0,607	
	positiv	25	5,81	1,90	5,90	10,10	2,50		
Leukozytenzahl im Heparinblut	negativ	44	6,37	1,51	6,30	9,80	3,40	0,611	
	positiv	25	6,64	2,33	6,20	12,50	2,80		
Alter	negativ	44	63,08	15,86	65,83	89,12	21,06	0,381	
	positiv	27	60,41	13,14	59,95	83,12	30,57		

4.2.4.2 HIT II-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu binären Merkmalen

Die Geschlechtsverteilung des HIT II-Status der Dialysepatienten ergibt für die 28 Dialysepatientinnen 13 (46,4 %) HIT II-negative und 15 (53,6 %) HIT II-positive Befunde. Unter den 43 männlichen Dialysepatienten waren 31 (72,1 %) HIT II-negativ und 12 (27,9 %) HIT II positiv. Es zeigte sich, dass die Dialysepatientinnen statistisch signifikant häufiger HIT II-AK besitzen als die männlichen Dialysepatienten ($p = 0,045^*$) (siehe Tabelle 20).

Tabelle 20: HIT II-Status und Geschlechtsverteilung der Dialysepatienten

Merkmal		N	HIT II-Status		Signifikanz (2-seitig)
			negativ [%]	positiv [%]	Exakter Test nach Fisher
Geschlecht	weiblich	28	13 [46,4 %]	15 [53,6 %]	0,045*
	männlich	43	31 [72,1 %]	12 [27,9 %]	

Zur Veranschaulichung dieses signifikanten Resultats dient Abb. 17.

Ergebnisse

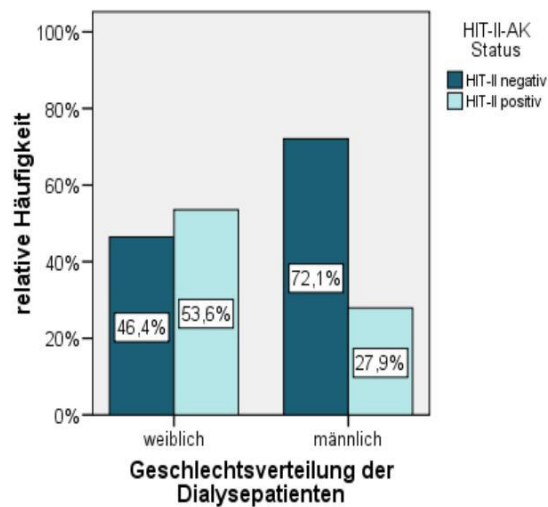


Abb. 17: Geschlechtsverteilung des HIT II-Profiles der Dialysepatienten

4.2.5 Vergleich HIT II-Profil der gesunden Probanden und Dialysepatienten

4.2.5.1 Vergleich der Heparin-Adhäsionsindices zwischen den Studienpopulationen

Der Vergleich der beiden Studienpopulationen zeigt einen höchst signifikanten Unterschied bezüglich der Höhe der Adhäsionsindices im Heparinblut ($p = 0,000^{***}$). Tabelle 21 und Abb. 18 stellen die Unterschiede der Mittelwerte dar.

Tabelle 21: Vergleich der Heparin-AI zwischen den Studienpopulationen

Merkmal	Gruppe	N	MW	SD	Median	Minimum	Maximum	Signifikanz (2-seitig)
								Mann-Whitney-U-Test
Heparin-AI	Gesunde Probanden	100	82,89	15,80	89,00	98	20	0,000^{***}
	Dialysepatienten	71	69,39	22,17	74,00	97	14	

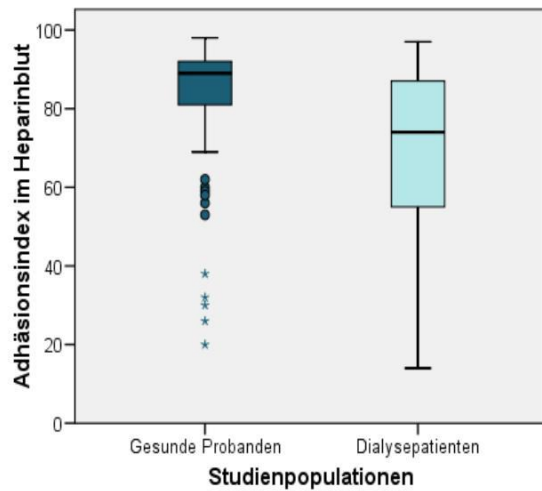


Abb. 18: Vergleich der Heparin-AI der Studienpopulationen

4.2.5.2 Vergleich der Verteilung der Heparin-AI-Werte der beiden Studienkollektive

In der Gegenüberstellung der in Abb. 12 (siehe Seite 55) und Abb. 15 (siehe Seite 60) gezeigten Werte werden die unterschiedlichen Verteilungen der Adhäsionsindices im Heparinblut der beiden Studienpopulationen verdeutlicht. 76 % der Probanden, doch nur 42 % der dialysepflichtigen Patienten zeigen einen „normalen“ Heparin-AI zwischen 80 und 100.

4.2.5.3 HIT II-Häufigkeit im Vergleich der Studienpopulationen

38 % der Dialysepatienten weisen HIT II-positive Befunde auf. Dem gegenüber haben nur 15 % der gesunden Probanden einen HIT II-positiven Befund (Tabelle 22/Abb. 19).

Tabelle 22: Vergleich der deskriptiven Statistiken der beiden Studienpopulationen

Merkmal	N	HIT II-positiv	HIT II-negativ
HIT II-Status der gesunden Probanden	100	15 [15 %]	85 [85 %]
HIT II-Status der Dialysepatienten	71	27 [38 %]	44 [62 %]

Ergebnisse

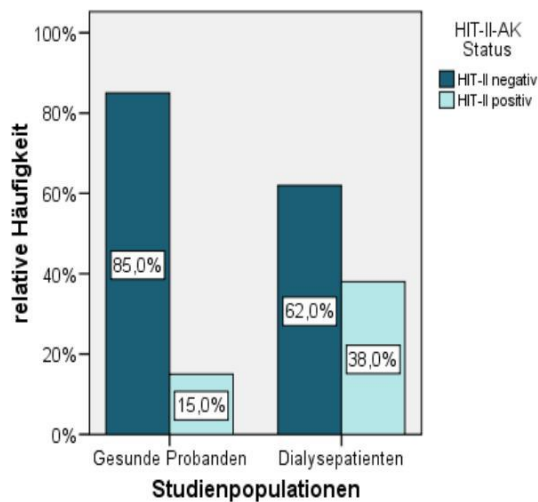


Abb. 19: HIT II-Profil beider Studienpopulationen

Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests wurde der ermittelte Unterschied auf Signifikanz geprüft. Aus Tabelle 23 ist ersichtlich, dass es einen höchst signifikanten statistischen Zusammenhang zwischen dem HIT II-Profil und den untersuchten Kollektiven gibt ($p = 0,001^{***}$).

Tabelle 23: Chi-Quadrat-Test: HIT II-Profil und Studienpopulation

Merkmal	N	HIT II-Status		Signifikanz (2-seitig)
		negativ [%]	positiv [%]	Exakter Test nach Fisher
gesunde Probanden	100	85 [85,0 %]	15 [15,0 %]	0,001^{***}
Dialysepatienten	71	44 [62,0 %]	27 [38,0 %]	

4.2.5.4 Binär logistische Regression zur Überprüfung des Einflusses von Alter und Geschlecht auf den HIT II-Status

Da die Gesamtstudienpopulation hinsichtlich Alter und Geschlecht nicht gematcht war, wurde bezüglich dieser Merkmale eine binär logistische Regression durchgeführt.

Tabelle 24 verdeutlicht, dass die Variable Alter keinen Einfluss auf das HIT II-Profil hat, dass allerdings ein sehr signifikanter Zusammenhang zwischen dem Geschlecht und dem HIT II-Status existiert ($p = 0,003^{**}$). Weiterhin kann aus der Odds Ratio abgeleitet werden, dass die weiblichen im Vergleich zu den männlichen Studienteilnehmern ein 3,3 fach höheres Risiko für eine HIT II haben.

Ergebnisse

Tabelle 24: Binär logistische Regression auf Alter und Geschlecht

Merkmal	Exp(B) Odds Ratio	95%-Konfidenzintervall für Exp(B)		Signifikanz
		Untergrenze	Obergrenze	
Gruppe	0,165	0,053	0,513	0,002**
Alter	0,991	0,964	1,017	0,486
Geschlecht	3,326	1,503	7,361	0,003**

Die Abb. 20 veranschaulicht die Ergebnisse der Tabelle 24. Es zeigt sich, dass die HIT II-negativen Patienten und Probanden einen Altersmittelwert von $43,56 \pm 19,95$ haben. Bei den HIT II-positiven Patienten und Probanden wurde ein Altersmittelwert von $50,66 \pm 19,33$ berechnet. Die Untersuchung des HIT II-Profiles bezüglich des Geschlechts ergab, dass 67,5 % der Patientinnen und Probandinnen einen HIT II-negativen Status haben. Demgegenüber wurden 83,0 % der Patienten und Probanden HIT II-negativ getestet.

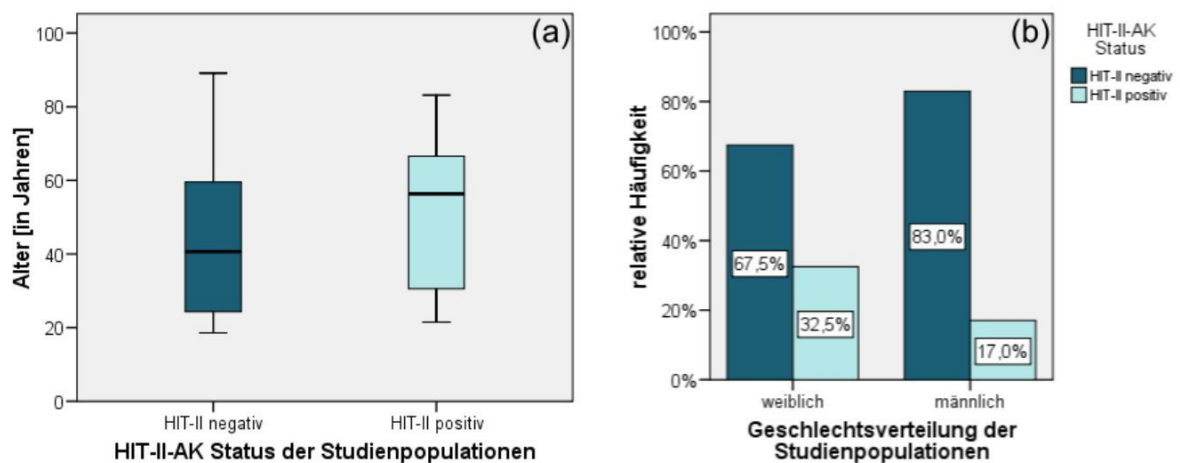


Abb. 20: HIT II-Profil beider Studienpopulationen und (a) Altersverteilung bzw. (b) Geschlechtsverteilung

4.3 PADA-RASS

In einer weiteren Modifikation des PADA, dem PADA-RASS, ist es möglich, die ASS-Antwort auf die Thrombozyten zu untersuchen. Der Test ist dabei unabhängig von einer vorherigen ASS-Einnahme der zu untersuchenden Person.

4.3.1 PADA-RASS-Profil der gesunden Probanden

Das ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden ist in Abb. 21 dargestellt. Dabei ist zu erkennen, dass von 100 Probanden 26 ASS-Responder und 36 ASS-Nonresponder sind. 38 Probanden zeigen eine paradoxe Reaktion auf ASS.

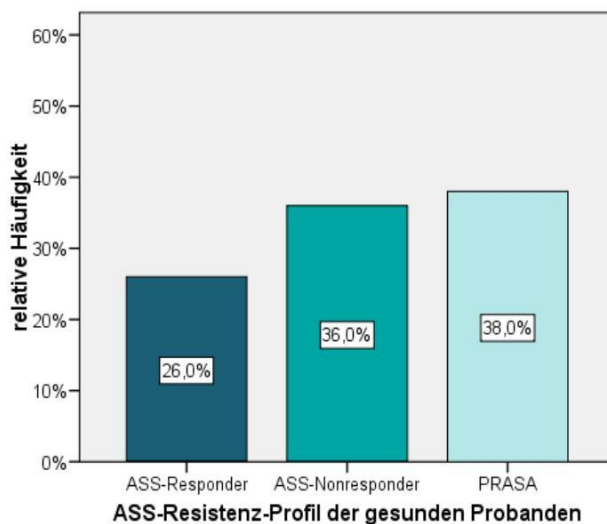


Abb. 21: ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden

4.3.2 ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu ausgewählten Biovariablen

4.3.2.1 ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu metrischen Merkmalen

Die Evaluation auf statistische Zusammenhänge zwischen dem ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden und den in Tabelle 25 aufgeführten Variablen ergibt keine signifikanten Ergebnisse.

Ergebnisse

Tabelle 25: ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu metrischen Merkmalen

Merkmal	ASS-Profil	N	MW	SD	Median	Maximum	Minimum	Signifikanz (2-seitig)	
								ANOVA	Kruskal-Wallis-Test
Ausgangswert PLZ im Heparinblut	Responder	26	221,00	49,90	216,50	325	145	0,08	
	Non-Responder	36	225,64	37,39	220,50	316	162		
	PRASA	38	244,21	46,56	236,00	320	130		
Erythrozytenzahl im Heparinblut	Responder	24	4,70	0,59	4,66	5,81	2,96	0,86	
	Non-Responder	35	4,68	0,46	4,58	5,76	3,99		
	PRASA	37	4,68	0,47	4,61	5,62	3,91		
Leukozytenzahl im Heparinblut	Responder	24	6,28	1,90	6,15	13,30	3,20	0,964	
	Non-Responder	35	6,19	1,56	5,80	9,60	4,00		
	PRASA	37	6,10	1,25	5,80	8,40	3,70		
Alter	Responder	26	33,94	13,52	28,29	65,81	21,34	0,942	
	Non-Responder	36	33,25	14,42	25,72	68,01	18,85		
	PRASA	38	33,18	13,22	28,12	69,50	18,57		

4.3.2.2 ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden in Bezug zu binären Merkmalen

Das ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden wurde auf signifikante Zusammenhänge mit den in Tabelle 26 angeführten Merkmalen überprüft. Hierbei ergaben sich keine statistisch signifikanten Resultate.

Tabelle 26: ASS-Resistenz-Profil gesunder Probanden in Bezug zu binären Merkmalen

Merkmal		N	ASS-Profil			Signifikanz (2-seitig)
			Responder	Non-Responder	PRASA	Chi-Quadrat nach Pearson
Geschlecht	weiblich	55	11 [20,0 %]	22 [40,0 %]	22 [40,0 %]	0,307
	männlich	45	15 [33,3 %]	14 [31,1 %]	16 [35,6 %]	
Hypertonie	negativ	94	24 [25,5 %]	33 [35,1 %]	37 [39,4 %]	0,537
	positiv	6	2 [33,3 %]	3 [50,0 %]	1 [16,7 %]	
Gerinnungsstörungen	negativ	94	25 [26,6 %]	34 [36,2 %]	35 [37,2 %]	0,791
	positiv	6	1 [16,7 %]	2 [33,3 %]	3 [50,0 %]	
HIT II-Status	negativ	85	20 [23,5 %]	32 [37,6 %]	33 [38,8 %]	0,395
	positiv	15	6 [40,0 %]	4 [26,7 %]	5 [33,3 %]	
akute Erkrankungen	negativ	96	25 [26,0 %]	35 [36,5 %]	36 [37,5 %]	0,861
	positiv	4	1 [25,0 %]	1 [25,0 %]	2 [50,0 %]	
Dauermedikation	negativ	61	18 [29,5 %]	19 [31,1 %]	24 [39,4 %]	0,399
	positiv	39	8 [20,5 %]	17 [43,6 %]	14 [35,9 %]	
Einnahme Kontrazeptiva	negativ	24	4 [16,7 %]	9 [37,5 %]	11 [45,8 %]	0,717
	positiv	31	7 [22,6 %]	13 [41,9 %]	11 [35,5 %]	
Rauchen	negativ	79	20 [25,3 %]	31 [39,2 %]	28 [35,4 %]	0,404
	positiv	21	6 [28,6 %]	5 [23,8 %]	10 [47,6 %]	

4.3.3 PADA-RASS-Profil der Dialysepatienten

Tabelle 27 zeigt das ASS-Resistenz-Profil der dialysepflichtigen Patienten. 20 % sind ASS-Responder und 21 % ASS-Nonresponder. 59 % der Dialysepatienten zeigen eine PRASA-Reaktion (Abb. 22).

Tabelle 27: ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten

Merkmal	Häufigkeit	Prozent
ASS-Responder	14	20 %
ASS-Nonresponder	15	21 %
PRASA	42	59 %
Gesamt	71	100 %

Ergebnisse

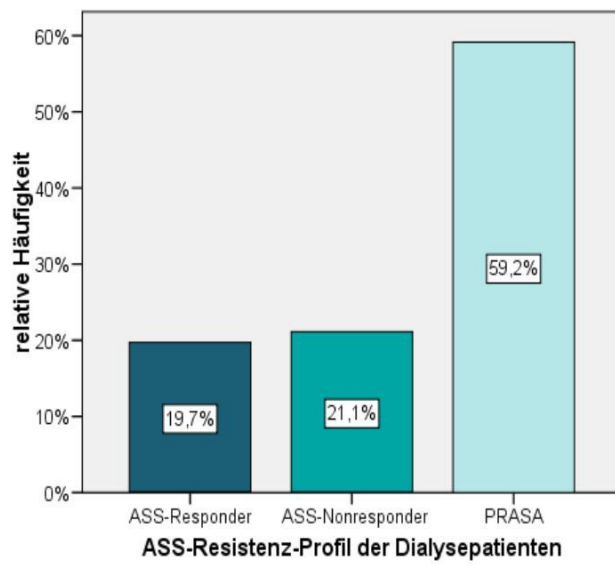


Abb. 22: ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten

4.3.4 ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu ausgewählten Biovariablen

4.3.4.1 ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu metrischen Merkmalen

Die Überprüfung des ASS-Resistenz-Status auf Zusammenhänge mit metrischen Variablen ergibt bezüglich der Thrombozytenzahlen im Heparinblut ein sehr signifikantes Ergebnis ($p = 0,010^{**}$). Anhand des Kruskal-Wallis-Tests zeigt sich, dass der höchste Mittelwert der Thrombozytenzahl (225,13) bei den ASS-Nonrespondern vorliegt, gefolgt von den ASS-Respondern (209,64). Den geringsten Thrombozyten-Mittelwert (175,69) zeigen die Dialysepatienten, die eine PRASA besitzen. In Tabelle 28 und Abb. 23 sind diese Daten zusammengefasst.

Tabelle 28: ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten und metrische Variablen

Merkmal	ASS-Profil	N	MW	SD	Median	Maximum	Minimum	Signifikanz (2-seitig)	
								ANOVA	Kruskal-Wallis-Test
Ausgangswert PLZ im Heparinblut	Responder	14	209,64	63,30	196,50	341	135		0,010**
	Non-Responder	15	225,13	88,54	239,00	352	91		
	PRASA	42	175,69	81,68	158,50	457	52		
Erythrozytenzahl im Heparinblut	Responder	13	3,44	0,58	3,50	4,21	1,97	0,296	
	Non-Responder	15	3,82	0,64	3,80	4,92	2,30		
	PRASA	41	3,60	0,60	3,56	4,80	2,00		
Leukozytenzahl im Heparinblut	Responder	13	6,72	1,44	7,10	8,90	4,20	0,634	
	Non-Responder	15	6,73	2,40	6,50	12,50	3,40		
	PRASA	41	6,29	1,74	6,20	11,70	2,80		
Alter	Responder	14	64,20	13,86	70,42	80,71	37,33		0,692
	Non-Responder	15	58,81	15,06	58,85	76,67	21,06		
	PRASA	42	62,52	15,23	60,11	89,12	30,57		

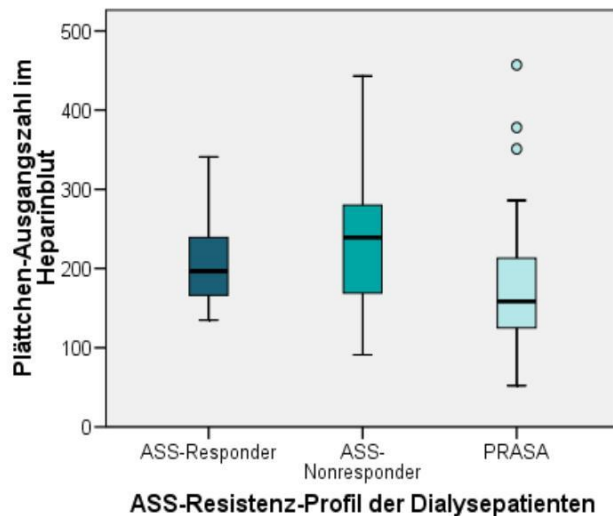


Abb. 23: ASS-Resistenz-Profil und PLZ im Heparinblut

4.3.4.2 ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten in Bezug zu binären Merkmalen

Der Vergleich des ASS-Resistenz-Status der Dialysepatienten mit ausgewählten Merkmalen zeigt, dass Geschlecht, Rauchen und eine Dauermedikation keinen Einfluss auf den ASS-Resistenz-Status haben.

Weiterhin wurden Zusammenhänge bezüglich des ASS-Resistenz-Profils und vorliegender Begleiterkrankungen untersucht. In Tabelle 29 sind nur die signifikanten Ergebnisse dargestellt.

Es zeigt sich, dass von 12 Patienten, die eine Herzinsuffizienz aufweisen, 11 (91,7 %) eine PRASA zeigen und 1 Patient (8,3 %) ASS-Nonresponder ist. Dem gegenüber sind unter den 59 Dialysepatienten ohne eine Herzinsuffizienz 14 (23,7 %) ASS-Responder bzw. ASS-Nonresponder und 31 (52,5 %) wiesen eine PRASA auf.

Ein signifikanter Unterschied besteht ebenfalls beim Auftreten eines Diabetes mellitus. Von 26 dialysepflichtigen Patienten mit einem Diabetes ist nur ein Patient (3,8 %) ASS-Responder, 4 (15,4 %) ASS-Nonresponder und 21 (80,8 %) zeigen eine PRASA. Im Unterschied dazu sind von 45 Dialysepatienten ohne Diabetes mellitus 13 (28,9 %) ASS-Responder, 11 (24,4 %) ASS-Nonresponder und 21 (46,7 %) weisen eine PRASA auf.

Hatten die Patienten Magenerkrankungen ergab sich ebenfalls ein signifikant unterschiedlicher ASS-Resistenz-Status zu den Patienten, die diese Erkrankung nicht zeigen. Von 4 untersuchten Patienten mit Magenerkrankungen sind 2 (50 %) ASS-Responder und 2 (50 %) ASS-

Ergebnisse

Nonresponder, bei keinem Ulkuspatienten war eine PRASA nachweisbar. Dahingegen sind unter den 67 Patienten ohne diese Erkrankung 12 (17,9 %) ASS-Responder, 13 (19,4 %) ASS-Nonresponder und 42 (62,7 %) besitzen eine PRASA. Die Abb. 24 veranschaulicht diese Ergebnisse.

Tabelle 29: ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten im Vergleich zu ausgewählten Merkmalen

Merkmal		N	ASS-Profil			Signifikanz (2-seitig)
			Responder	Non-Responder	PRASA	Chi-Quadrat nach Pearson
Erkrankungen						
Herzinsuffizienz	negativ	59	14 [23,7 %]	14 [23,7 %]	31 [52,6 %]	0,038*
	positiv	12	0	1 [8,3 %]	11 [91,7 %]	
Diabetes mellitus	negativ	45	13 [28,9 %]	11 [24,4 %]	21 [46,7 %]	0,010**
	positiv	26	1 [3,8 %]	4 [15,4 %]	21 [80,8 %]	
Magenulcera	negativ	67	12 [17,9 %]	13 [19,4 %]	42 [62,7 %]	0,046*
	positiv	4	2 [50,0 %]	2 [50,0 %]	0	

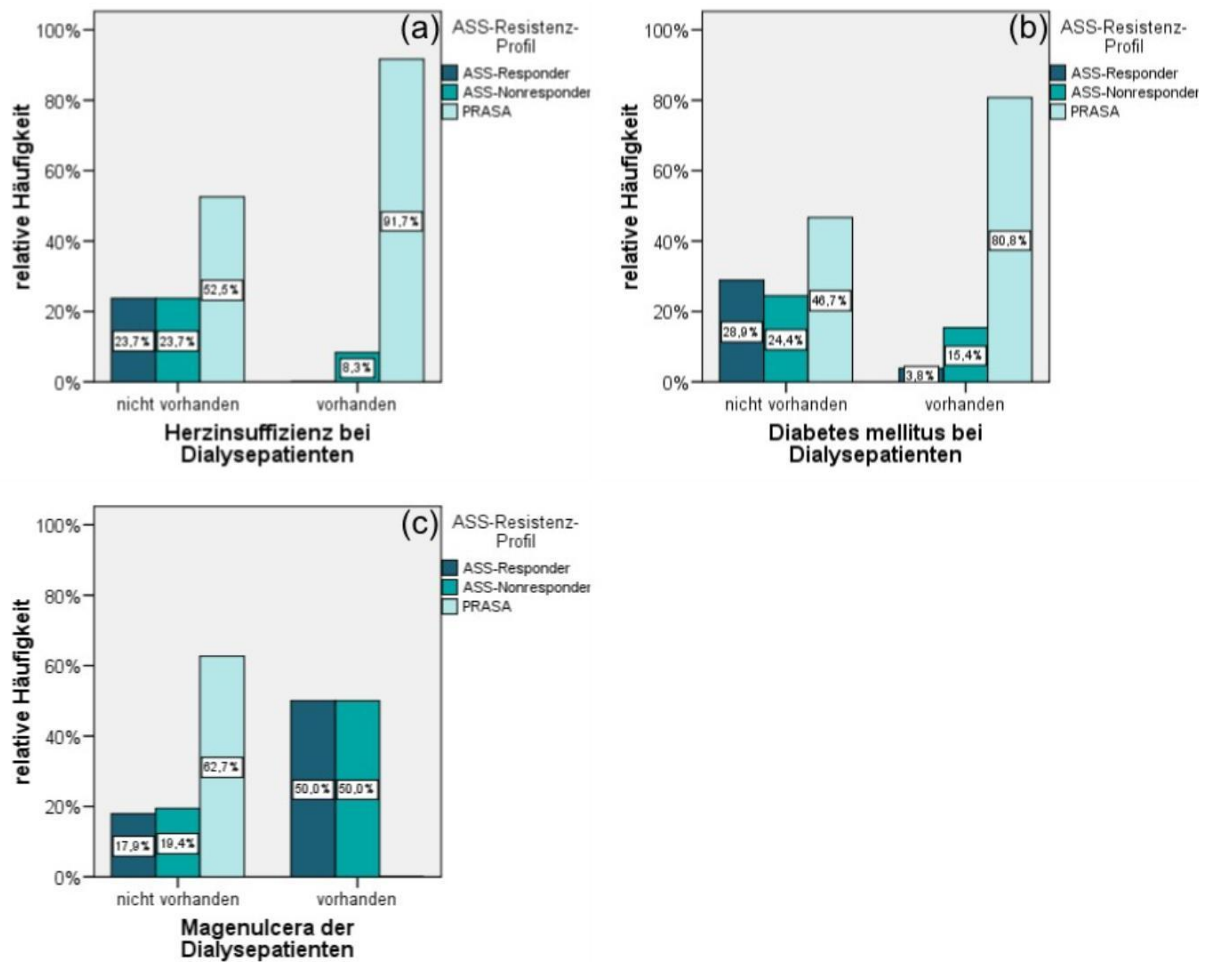


Abb. 24: ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten und (a) Herzinsuffizienz, (b) Diabetes mellitus bzw. (c) Magengeschwüre

4.3.5 ASS-Resistenz-Profil im Vergleich beider Studienpopulationen

4.3.5.1 Verteilung der ASS-Resistenz-Profile

Tabelle 30 zeigt den Vergleich der deskriptiven Statistiken der untersuchten Studienkollektive. Von den 100 gesunden Probanden waren 26 % ASS-Responder, 36 % ASS-Nonresponder und 38 % besitzen eine paradoxe Reaktion auf ASS (PRASA). Im Unterschied dazu sind bei den Dialysepatienten 20 % ASS-Responder, 21 % ASS-Nonresponder und 59 % mit einer PRASA. Die Daten sind in Abb. 25 zusammengefasst.

Tabelle 30: PADA-RASS Profile der beiden Studienpopulationen

Merkmal	N	ASS-Resistenz-Profil			Signifikanz (2-seitig)
		Responder	Nonresponder	PRASA	Chi-Quadrat nach Pearson
gesunde Probanden	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,021*
Dialysepatienten	71	14 [19,7 %]	15 [21,1 %]	42 [59,2 %]	

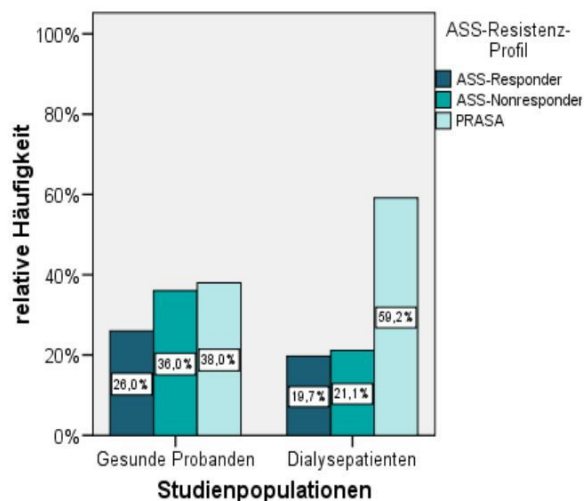


Abb. 25: Verteilung der PADA-RASS-Profile im Vergleich der Studienpopulationen

Mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests konnte evaluiert werden, dass der zwischen den Studienkollektiven ermittelte Unterschied der ASS-Resistenz-Profile statistisch signifikant ist ($p = 0.021^*$) (siehe Tabelle 31).

4.3.5.2 Multinomiale logistische Regression zur Überprüfung des Einflusses von Alter und Geschlecht auf den ASS-Resistenz-Status

Anhand der oben genannten Ergebnisse ist ein signifikanter Unterschied zwischen den Studienpopulationen bezüglich der ASS-Resistenz-Profile gezeigt worden. Da die untersuchten Kollektive hinsichtlich der Variablen Alter und Geschlecht nicht gematcht waren, wurde eine multinomiale logistische Regression durchgeführt, um einen eventuellen Einfluss dieser Merkmale auf den ASS-Resistenz-Status zu evaluieren.

Bei den Berechnungen ergab sich bei Einbeziehen von Alter und Geschlecht kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Merkmalen Gruppe ($p = 0,102$), Alter ($p = 0,764$)

und Geschlecht ($p = 0,152$) zu den Ausprägungen des ASS-Resistenz-Status (siehe Tabelle 31).

Tabelle 31: Multinomiale logistische Regression des ASS-Resistenz-Profils bzgl. Gruppe, Alter und Geschlecht

ASS-Resistenz- Profil ^a	Merkmal	Exp(B) Odds Ratio	95 %-Konfidenzintervall für Exp(B)		Signifikanz
			Untergrenze	Obergrenze	
ASS-Responder	Gruppe	2,523	0,833	7,646	0,102
	Alter	1,004	0,977	1,032	0,764
	Geschlecht	1,789	0,807	3,966	0,152
	(Konstante)				0,069
ASS-Nonresponder	Gruppe	2,170	0,756	6,226	0,150
	Alter	0,994	0,969	1,020	0,650
	Geschlecht	0,839	0,404	1,740	0,637
	(Konstante)				0,527

^a- Die Referenzkategorie lautet: PRASA

4.3.5.3 ASS-Resistenz-Profil der Studienpopulationen in Bezug zu ausgewählten binären Merkmalen

Tabelle 32 zeigt den Vergleich der ASS-Resistenz-Profile zwischen den beiden Untersuchungskollektiven bei Vorhandensein bzw. Nichtvorhandensein der ermittelten relevanten Diagnosen.

Dialysepatienten, bei denen zusätzlich eine Herzerkrankung vorliegt, weisen 23,1 % ASS-Responder, 17,3 % ASS-Nonresponder und 59,6 % PRASAs auf, dem gegenüber zeigen die gesunden Probanden 26 % ASS-Responder, 36 % ASS-Nonresponder und 38 % paradoxe Reaktionen auf ASS. Dieser Unterschied stellt sich als statistisch signifikant dar ($p = 0,022^*$).

Ebenso verhält es sich bei 10 dialysepflichtigen Patienten, die vor den Untersuchungen einen Herzinfarkt hatten. Keiner erwies sich als ASS-Responder, 20 % von ihnen reagierten als ASS-Nonresponder. Die restlichen 80 % zeigten eine PRASA. Das ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden entspricht dem oben genannten. Dies ergibt ein Signifikanzniveau von $p = 0,029^*$.

Weiterhin zeigen 24 der Patienten eine KHK. Unter ihnen sind 4,2 % ASS-Responder, 25 % ASS-Nonresponder und 70,8 % der Patienten weisen eine PRASA auf. Auch in diesem Fall erfolgte der Vergleich gegen die 100 gesunden Probanden (26 % ASS-Responder, 36 % ASS-Nonresponder und 38 % PRASA). Dieses Ergebnis ist sehr signifikant ($p = 0,008^{**}$).

Ergebnisse

Wie schon in Kapitel 4.3.4.2 beschrieben, besteht zwischen den Dialysepatienten, die zusätzlich eine Herzinsuffizienz aufweisen, und den Dialysepatienten ohne diese Erkrankung ein signifikanter Unterschied bezüglich des ASS-Resistenz-Profils. Von 12 dialysepflichtigen Patienten mit Herzinsuffizienz ist kein Patient ASS-Responder, 8,3 % sind ASS-Nonresponder und 91,7 % Patienten haben eine PRASA. Auch im Vergleich mit den gesunden Probanden liegt ein hoch signifikantes Resultat vor ($p = 0,002^{**}$).

Gleichfalls signifikant ($p = 0,033^*$) ist der Unterschied zwischen Dialysepatienten mit einer Herzrhythmusstörung und gesunden Probanden. Dem bekannten ASS-Resistenz-Status der Probanden stehen 19 Patienten gegenüber, von denen 21,1 % ASS-Responder und 10,5 % ASS-Nonresponder sind und 68,4 % eine PRASA zeigen.

Entsprechendes gilt ebenso für Patienten, bei denen eine diabetische Nephropathie die Ursache der terminalen Niereninsuffizienz war. Hier wurde ein signifikanter Unterschied zwischen deren ASS-Resistenz-Status und dem bereits beschriebenen Status der gesunden Probanden gefunden ($p = 0,011^*$). 5,9 % von 17 Patienten sind ASS-Responder, 17,6 % ASS-Nonresponder und 76,5 % weisen eine PRASA auf.

Für den Vergleich der Dialysepatienten mit zusätzlicher Hypertonie mit dem gesunden Studienkollektiv wurden nur die Probanden berücksichtigt, die keinen Bluthochdruck besitzen. Dementsprechend besteht die gesunde Studienpopulation aus 94 Probanden. 25,5 % erweisen sich als ASS-Responder, 35,1 % als ASS-Nonresponder und 39,4 % hatten eine paradoxe Reaktion auf ASS. Im Unterschied dazu ergibt sich bei den 64 dialysepflichtigen Patienten mit Hypertonie folgendes ASS-Resistenz Profil: 20,3 % ASS-Responder, 18,8 % ASS-Nonresponder und 60,9 % PRASAs. Auch dies stellt eine signifikante Differenz dar ($p = 0,021^*$).

Ein weiteres höchst signifikantes Ergebnis ($p = 0,000^{***}$) präsentiert sich beim Vergleich der 100 gesunden Probanden gegen das ASS-Resistenzprofil der Dialysepatienten mit Diabetes mellitus. Unter 26 Patienten waren 3,8 % ASS-Responder, 15,4 % ASS-Nonresponder und 80,8 % PRASA. Bei allen anderen erfassten Merkmalen waren keine signifikanten Unterschiede nachzuweisen. In Abb. 26 sind die hier beschriebenen Ergebnisse noch einmal grafisch dargestellt.

Ergebnisse

Tabelle 32: ASS-Resistenz-Profil und relevante Merkmale im Vergleich der Studienpopulationen

Merkmal		N	ASS-Profil			Signifikanz (2-seitig)
			Responder	Non-Responder	PRASA	Chi-Quadrat nach Pearson
Herzerkrankungen	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,022*
	positiv	52	12 [23,1 %]	9 [17,3 %]	31 [59,6 %]	
Z.n. Myokardinfarkt	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,029*
	positiv	10	0	2 [20,0 %]	8 [80,0 %]	
KHK	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,008**
	positiv	24	1 [4,2 %]	6 [25,0 %]	17 [70,8 %]	
Herzinsuffizienz	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,002**
	positiv	12	0	1 [8,3 %]	11 [91,7 %]	
hypertensive Herzkrankheit	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,097
	positiv	31	9 [29,0 %]	5 [16,1%]	17 [54,8 %]	
Kardiomyopathie	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,138
	positiv	5	1 [20,0 %]	0	4 [80,0 %]	
Arrhythmia absoluta	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,033*
	positiv	19	4 [21,1 %]	2 [10,5 %]	13 [68,4 %]	
Klappenvitien	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,351
	positiv	18	4 [22,2 %]	4 [22,2 %]	10 [55,6 %]	
Koronarverschluss	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,154
	positiv	5	0	1 [20,0 %]	4 [80,0 %]	
AV-Block	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,385
	positiv	5	0	2 [40,0 %]	3 [60,0 %]	
Nierenerkrankungen						
diabetische Nephropathie	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,011*
	positiv	17	1 [5,9 %]	3 [17,6 %]	13 [76,5 %]	
chronische Glomerulonephritis	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,343
	positiv	10	1 [10,0 %]	3 [30,0 %]	6 [60,0 %]	
interstitielle Nephritis	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,924
	positiv	7	2 [28,6 %]	2 [28,6 %]	3 [42,9 %]	
mesangioproliferative IgA-Nephritis	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,565
	positiv	9	2 [22,2 %]	2 [22,2 %]	5 [55,6 %]	
Schumpfnieren	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,300
	positiv	4	2 [50,0 %]	0	2 [50,0 %]	
polyzystische Nierendegeneration	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,154
	positiv	7	0	2 [28,6 %]	5 [71,4 %]	
Nierenzell-Karzinom	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,606
	positiv	5	1 [20,0 %]	1 [20,0 %]	3 [60,0 %]	

Ergebnisse

Merkmal		N	ASS-Profil			Signifikanz (2-seitig)
			Responder	Non-Responder	PRASA	Chi-Quadrat nach Pearson
Glomerulosklerose	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,572
	positiv	6	2 [33,3 %]	3 [50,0 %]	1 [16,7 %]	
Analgetika-nephropathie	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,416
	positiv	3	1 [33,3 %]	0	2 [66,7 %]	
benigne Nephrosklerose	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,300
	positiv	4	2 [50,0 %]	0	2 [50,0 %]	
andere Erkrankungen						
Hypertonie	negativ	94	24 [25,5 %]	33 [35,1 %]	37 [39,4 %]	0,021*
	positiv	64	13 [20,3 %]	12 [18,8 %]	39 [60,9 %]	
Diabetes mellitus	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,000***
	positiv	26	1 [3,8 %]	4 [15,4 %]	21 [80,8 %]	
pAVK	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,097
	positiv	13	2 [15,4 %]	2 [15,4 %]	9 [69,2 %]	
maligne Erkrankungen	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,152
	positiv	18	4 [22,2 %]	3 [16,7 %]	11 [61,1 %]	
Lebererkrankungen	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,675
	positiv	12	2 [16,7 %]	4 [33,3 %]	6 [50,0 %]	
Magenulcera	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,280
	positiv	4	2 [50,0 %]	2 [50,0 %]	0	
Thrombosen/ Schlaganfall	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,703
	positiv	22	4 [18,2 %]	8 [36,4 %]	10 [45,5 %]	
Arteriosklerose	negativ	100	26 [26,0 %]	36 [36,0 %]	38 [38,0 %]	0,148
	positiv	7	3 [42,9 %]	0	4 [57,1 %]	
Gerinnungsstörungen	negativ	94	25 [26,6 %]	34 [36,2 %]	35 [37,2 %]	0,17
	positiv	6	2 [33,3 %]	0	4 [66,7 %]	
	positiv					

Ergebnisse

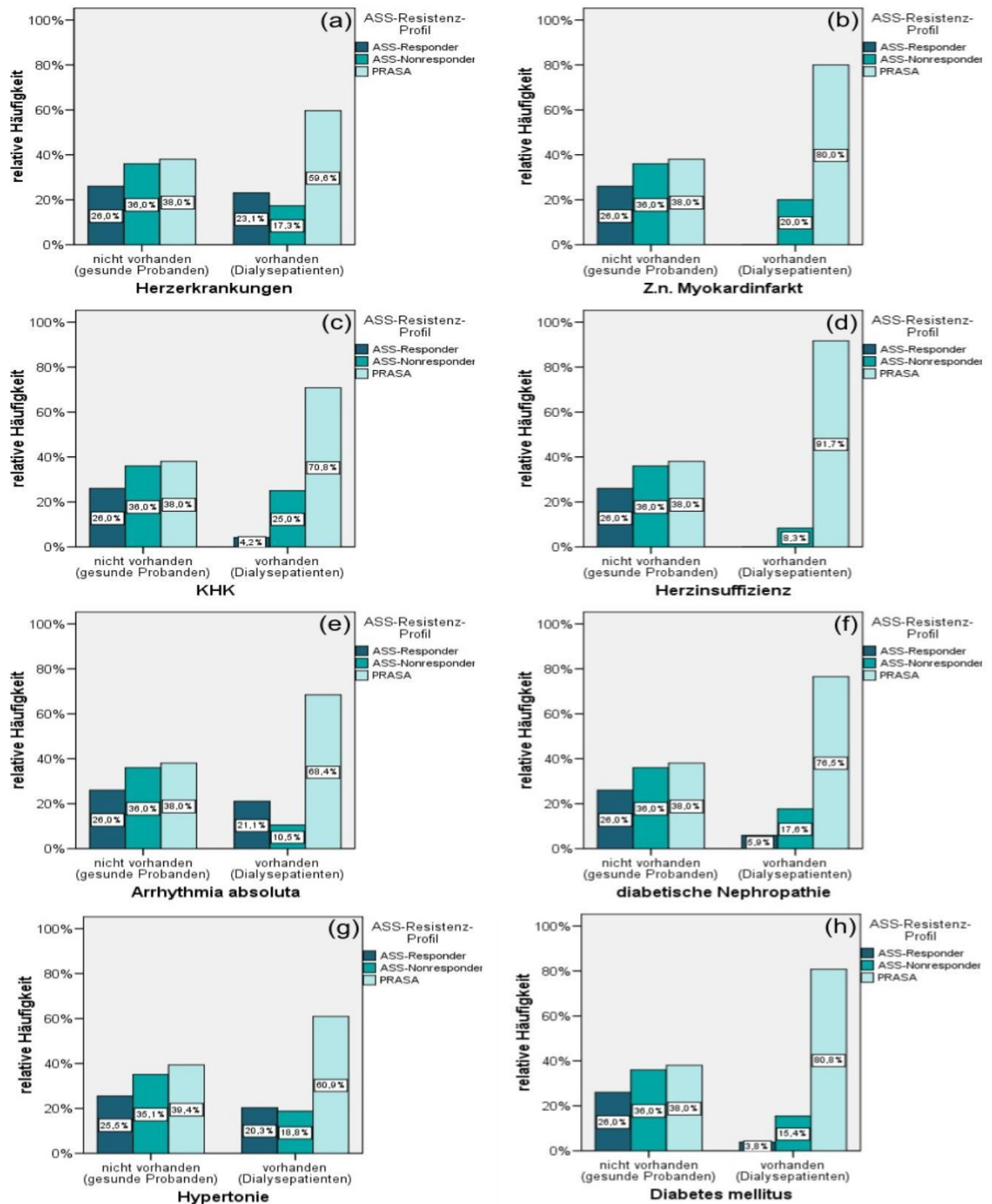


Abb. 26: ASS-Resistenz-Profil beider Studienpopulationen in Bezug auf (a) Herzerkrankungen, (b) Z.n. Myokardinfarkt, (c) KHK, (d) Herzinsuffizienz, (e) Arrhythmia absoluta, (f) diabetische Nephropathie, (g) Hypertonie bzw. (h) Diabetes mellitus

4.4 Überprüfung von Einflussfaktoren auf die Messergebnisse des PADA-RASS

4.4.1 Untersucher

Das ASS-Resistenz-Profil der gesunden Probanden wurde von zwei Untersuchern erfasst. Um einen möglichen Einfluss des Untersuchers auf das Ergebnis auszuschließen, wurde ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt, der verdeutlichte, dass kein statistisch signifikanter Unterschied besteht ($p = 0,543$). Die PADA-Messungen bei den Dialysepatienten wurden nur von einem Untersucher durchgeführt.

4.4.2 Partikelchargen

Im Rahmen der Messungen des gesunden Kollektivs wurden 9 verschiedene Partikelchargen verwendet. Um einen eventuellen Einfluss der Partikelchargen auf das erzielte Messergebnis auszuschließen, wurde ein Chi-Quadrat-Test durchgeführt. Dabei wird deutlich, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Partikelchargen und den erzielten ASS-Resistenz-Profilen besteht ($p = 0,787$). Analog dem Vorgehen innerhalb der gesunden Studienpopulation wurde auch bei den dialysepflichtigen Patienten evaluiert, ob ein Zusammenhang zwischen den verwendeten Partikelchargen und den ermittelten ASS-Resistenz-Profilen vorliegt. Entsprechend dem Ergebnis der gesunden Probanden zeigt sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen den verwendeten Chargen und den ermittelten ASS-Resistenz-Profilen der dialysepflichtigen Patienten.

4.4.3 Zeitpunkt der Messungen

Im Rahmen dieser Untersuchungen wurde evaluiert, ob die ermittelten Messergebnisse in Zusammenhang stehen zu der Tageszeit, in der diese durchgeführt wurden. Mit Hilfe des Kruskal-Wallis-Tests wurde belegt, dass kein signifikanter Zusammenhang des ASS-Resistenz-Profiles der gesunden Studienpopulation mit dem Merkmal Tageszeit besteht ($p = 0,332$). Bei den Dialysepatienten wird von der Prüfung eines Zusammenhangs bezüglich des ermittelten Profils der ASS-Resistenz und der Blutentnahmezeit abgesehen, da die Blutentnahmen in der Dialyseeinrichtung nur von 7:00 Uhr bis 8:00 Uhr bzw. von 13:00 Uhr bis 14:00 Uhr erfolgen konnten.

4.4.3.1 Datum der Blutentnahmen

Es zeigt sich, dass kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Datum der Blutentnahme und dem ASS-Resistenz-Profil der gesunden Studienpopulation besteht ($p = 0,559$). Von der Prüfung des Zusammenhangs zwischen dem Monat der Blutentnahme und dem ASS-Resistenz-Profil der Dialysepatienten wird abgesehen, da alle Messungen während der Monate Februar, März und Juli erfolgten und somit für das Kalenderjahr nicht repräsentativ sind.

5 Diskussion

5.1 Spezifische Einflussfaktoren dialysepflichtiger Patienten auf den PADA-Adhäsionsindex

5.1.1 Die Dialysesituation

Die Thrombozytenfunktion kann im menschlichen Organismus durch verschiedenste Ursachen pathologisch gesteigert sein. Wie im Rahmen dieser Dissertation dargestellt, zeigten die dialysepflichtigen Patienten im Vergleich zu den gesunden Probanden einen signifikant höheren Citrat-AI-Mittelwert, was einem erhöhten Aktivierungszustand der Thrombozyten entspricht. Eine Ursache dieser gesteigerten Aktivierung stellt die Hämodialyse dar. Zu den Risikofaktoren zählt innerhalb des Dialysegerätes, wie bereits in der Einleitung beschrieben, der Kontakt der Thrombozyten mit Fremdoberflächen, der zur Aktivierung und Granulasekretion der Thrombozyten führt. Weiterhin können neben aktivierten auch hyperreagible Thrombozyten entstehen, wobei deren molekulare Ursachen noch nicht eindeutig geklärt werden konnten. Sie zeigen eine gesteigerte Reaktion auf Agonistenstimuli, eine erhöhte Produktion und Freisetzung von Arachidonsäure und eine verkürzte Lebenszeit. Ebenso können erhöhte Plasmafibrinogen-, Faktor VIII- und vWF-Spiegel bei beeinträchtigter Aktivität des fibrinolytischen Systems das Thromboserisiko dialysepflichtiger Patienten steigern und bei chronisch dialysepflichtigen Patienten eine hyperkoagulable Situation erzeugen, die sich in erhöhten Konzentrationen von Prothrombinfragmenten und Thrombin-Antithrombin-Komplexen zeigt (Scharf 2008, Joist und George 2004, Scharf und Schneider 1985, Scharf und Zotz 2006, Joist et al. 1994, Boccardo et al. 2004, Sagripanti et al. 1993, Ambühl et al. 1997). Das Akut-Phase-Protein Fibrinogen kann hierbei nicht nur durch den Dialysevorgang erhöht sein, sondern auch, um den Eiweißverlust im Rahmen einer Proteinurie zu kompensieren. In Studien konnte eine positive Korrelation zwischen dem Grad der Niereninsuffizienz und der Fibrinogenkonzentration im Blut ermittelt werden (van Wyk et al. 1995, Bucha et al. 1999, Ulbricht 2001, Pöschel et al. 2000).

5.1.2 Die Urämie

Neben dem Dialysevorgang kann ebenso die Urämie für eine erhöhte Thrombozytenaktivität und einen prokoagulatorischen Zustand verantwortlich sein. In zahlreichen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass die Urämie einem chronischen geringgradigen Entzündungszustand entspricht. Dabei kommt es innerhalb des Entzündungsgeschehens zu einem erhöhten oxidativen Stress und einer erhöhten Freisetzung proinflammatorischer Zytokine wie beispielsweise Interleukin-6 (IL-6), sowie der Akut-Phase-Proteine CRP und Fibrinogen (Glorieux et al. 2009, Himmelfarb 2009, Vanhoulde et al. 2010, Oberg et al. 2004, Shlipak et al. 2003). Verantwortlich hierfür sind Urämietoxine, die bei chronischer Niereninsuffizienz im Blut akkumulieren. Vor allem proteingebundene Urämietoxin-Moleküle und solche mit einem Molekulargewicht > 500 Da scheinen die Toxizität der Urämie zu induzieren. Dazu zählen unter anderem Adiponectin, Zytokine, Leptin, advanced glycation end products (AGEs), Resistin, Homocystein und Phenylacetylsäure. Bis heute sind 40 verschiedene Urämietoxin-Moleküle dieser Klassen beschrieben worden. Während der Hämodialyse werden vor allem kleine wasserlösliche Substanzen entfernt, es gestaltet sich jedoch ungleich komplizierter, die Moleküle mit einem Molekulargewicht > 500 Da bzw. die, die proteingebunden vorliegen, zu eliminieren (Vanhoulde et al. 2003, Vanhoulde et al. 2008, Vanhoulde et al. 2009). Die Entfernung dieser Substanzen ist für die Prognose der Dialysepatienten jedoch von entscheidender Bedeutung, so dass sich eine Reihe von Studien mit diesem Sachverhalt auseinandergesetzt haben. Zur Eliminierung der Moleküle mit einem Molekulargewicht über 500 Da werden High-Flux-Dialysatoren verwendet. Sie unterscheiden sich von den Low-Flux-Dialysatoren durch einen größeren Porendurchmesser in der semipermeablen Membran, so dass die oben erwähnten Moleküle besser in die Dialysierflüssigkeit übergehen können (Maduell et al. 2002). Diese Methode funktioniert jedoch nicht für die proteingebundenen Substanzen. 2009 zeigten Meert et al., dass zur Entfernung aller Urämietoxine die Postdilution-Hämodiafiltration die geeignetste Methode darstellt. Dass die Entfernung dieser Toxine wichtig ist, konnte in Studien gezeigt werden, die eine Verbesserung des Outcomes bei Verwendung der High-Flux-Dialyse ermitteln konnten. Für die Postdilution-Hämodiafiltration fehlen im Moment noch entsprechende Studien (Vanhoulde et al. 2010).

5.1.3 Der PADA-Adhäsionsindex der dialysepflichtigen Patienten in Korrelation zu verschiedenen Erkrankungen

Bei den Dialysepatienten ergaben sich hinsichtlich des AI unter anderem signifikant höhere Werte bei Patienten mit diabetischer Nephropathie bzw. chronischer Glomerulonephritis. Eine mögliche Ursache hierfür besteht darin, dass den Thrombozyten in der frühen Entwicklungsphase einer glomerulären Erkrankung eine wesentliche Bedeutung zukommt. Dabei werden im Zusammenhang mit der Thrombozytenaktivierung intrazelluläre Produkte aus den Thrombozyten freigesetzt, die die glomeruläre Permeabilität beeinträchtigen und somit das Krankheitsgeschehen vorantreiben (Boccardo et al. 2004). Hierzu zählen insbesondere der Plättchen-aktivierende Faktor (PAF), PF4 und PDGF. PAF führt zu Chemotaxis, Aktivierung von Leukozyten sowie des Komplementsystems, zur Stimulierung der Nierenmesangiumzellen mit Produktion von Eikosanoiden und Sauerstoffradikalen und der Schädigung der Nierenglomeruli. PF4 und β -Thromboglobulin binden an negativ geladene Oberflächen der Glomeruli. Durch die „Neutralisierung“ kommt es zum Verlust der elektrostatischen Barriere der Glomerulum-Zellen gegen zirkulierende Makromoleküle. Zusätzlich führt PDGF zusammen mit weiteren Faktoren zu einer Stimulation der Mesangiumzellproliferation und somit zu einer Progression in der Krankheitsentwicklung (Camussi 1986, Barnes et al. 1984, Tetta et al. 1985, Abboud 1993).

5.1.4 Der PADA-Adhäsionsindex im Vergleich der Studienkollektive in Korrelation zu verschiedenen Erkrankungen

Im Rahmen der Untersuchungen zeigte der Adhäsionsindex der Thrombozyten im Citratblut einen höchst signifikanten Unterschied zwischen den beiden untersuchten Populationen. Mit 44,42 liegt der AI-Mittelwert für die gesunden Probanden deutlich niedriger als für die Dialysepatienten mit einem AI-MW von 58,83, was bei den Patienten auf einen gesteigerten Aktivitätszustand der Thrombozyten hinweist. Da die beiden untersuchten Kollektive hinsichtlich Alter und Geschlecht nicht gematcht werden konnten, schloss sich an die Berechnungen der Citrat-AI eine lineare Regressionsanalyse an. Hier konnte gezeigt werden, dass diese beiden Variablen keinen Einfluss auf das Ergebnis haben.

Die Vergleiche zwischen Dialysepatienten und gesunden Probanden ergaben zusätzlich zu den oben beschriebenen Erkrankungen (diabetische Nephropathie und chronische

Glomerulonephritis) signifikante Unterschiede auch bei Schrumpfnieren, polyzystischer Nierendegeneration und Glomerulosklerose. Ebenso wurde ein gesteigerter Aktivitätszustand der Thrombozyten dialysepflichtiger Patienten bei einigen weiteren Erkrankungen beobachtet, die nachfolgend näher erläutert werden. Bei den vergleichenden Untersuchungen zeigten sich hierfür signifikante Adhäsionsindexunterschiede gegenüber den gesunden Probanden.

5.1.4.1 Hypertonie

94 gesunde Probanden ohne Hypertonie zeigten einen AI-Mittelwert von 44,41. Dahingegen weisen die dialysepflichtigen Patienten mit Hypertonie einen Wert von 60,11 auf. In diesem Zusammenhang lassen sich ebenfalls signifikante AI-Mittelwertunterschiede beim Vorliegen (AI 56,00) bzw. Nichtvorliegen (AI 44,42) einer hypertensiven Herzkrankheit belegen. Dieser Zustand erhöhter Aktivierung konnte in weiteren Studien beobachtet werden (Andrioli et al. 1996). Mögliche Ursachen für diesen Zustand haben El Haouari und Rosado 2009 zusammengestellt. Hierbei werden hoher Scherstress und Endotheldysfunktion als bedeutende Auslöser betrachtet. Weiterhin zeigt sich, wie bereits oben angedeutet, eine gesteigerte Sensitivität der Thrombozyten gegenüber Agonisten, spontane Aggregationen, erhöhte Freisetzung von β -Thromboglobulin, reaktive Sauerstoffradikale und P-Selectin, höhere intrazelluläre Calciumspiegel und eine reduzierte Stickstoffmonoxidproduktion des Endothels sowie der Thrombozyten (Hernandez et al. 1991, Andrioli et al. 1996, Pechan und Okrucka 1991, Kjeldsen et al. 1983, Leoncini et al. 1991, Nomura et al. 2002, Camilletti et al. 2001).

5.1.4.2 Artherosklerose und deren Folgeerkrankungen

Im Rahmen der Hypertonie kommt es zu pathologischen Veränderungen, die sich durch Turbulenzen im Strömungsverhalten des Blutes, Gefäßschädigungen und endothelialer Dysfunktion darstellen. In letzter Konsequenz führt dies zu einer Artherosklerose, die als chronischer Entzündungsprozess des Gefäßbettes interpretiert wird und mit gesteigerter Aktivierung der zirkulierenden Thrombozyten einhergeht. Hierbei kann es zur Entstehung von arteriosklerotischen Plaques bis zum Verschluss des Gefäßes kommen, wovon vor allem das Herz und Gehirn betroffen sind (Ruggeri und Mendolicchio 2007, Jurk und Kehrel 2008). In den hier durchgeführten PADA-Untersuchungen ließ sich ein erhöhter Aktivierungszustand der Thrombozyten ebenfalls nachweisen. Gesunde Probanden zeigten signifikant niedrigere

AI-Werte gegenüber dialysepflichtigen Patienten mit KHK bzw. Herzinsuffizienz. Neben dem erhöhten Aktivitätszustand der Thrombozyten haben ebenfalls die Urämetoxine einen starken Einfluss auf die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen bei dialysepflichtigen Patienten, da diese Substanzen, wie bereits oben beschrieben, ebenfalls einen chronischen Entzündungszustand mit den entsprechenden Folgeschäden verursachen können (Cheung et al. 2000).

5.1.4.3 Diabetes mellitus Typ II

Ein weiterer wichtiger Einflussfaktor auf den erhöhten Aktivitätszustand von Thrombozyten stellt Diabetes mellitus Typ 2 dar (Colwell und Nesto 2009). Der Zusammenhang von Diabetes mellitus und Thrombozytenverhalten konnte auch in dieser Studie nachgewiesen werden. Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 haben mit 63,71 einen signifikant höheren Adhäsionsindex als gesunde Probanden mit einem AI von 44,42. Diese gesteigerte Adhäsivität und die Aggregationstendenz der Thrombozyten entstehen durch verschiedene biochemische Prozesse (Jokl und Colwell 1997). Hierzu zählt ein gesteigerter Arachidonsäurestoffwechsel, der eine erhöhte Thromboxan A₂-Synthese induziert, erhöhte intrazelluläre Magnesiumspiegel, reduzierte Antioxidanslevel sowie eine potenzierte Produktion von aktivierungsabhängigen Adhäsionsmolekülen durch die Thrombozyten. Auch hier kommt es zur reduzierten Produktion von Stickstoffmonoxid und Prostacyclin in den Thrombozyten (Halushka et al. 1981, Gawaz et al. 1994, Sarji et al. 1979, Tschöpe et al. 1997, Martina et al. 1998). Darüber hinaus ist bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 mit einer Veränderung der Lipidzusammensetzung der Thrombozytenmembran bzw. der Glykosilierung der Membranproteine zu rechnen, woraus eine verminderte Membranfluidität resultiert. Dieser Vorgang wird intensiviert durch einen erhöhten intrazellulären Calciumspiegel, der sich infolge gesteigerter Calcium-Mobilisation aus den Thrombozytenpools bildet (Jokl und Colwell 1997, Watala et al. 1998).

5.1.4.4 Maligne Erkrankungen

Des Weiteren konnte ein signifikanter AI-Unterschied zwischen dialysepflichtigen Patienten mit malignen Erkrankungen und gesunden Probanden nachgewiesen werden. Dieser Befund bestätigt andere Studien, die ebenfalls prokoagulatorische Mechanismen bei

Tumorerkrankungen beschreiben (Falanga et al. 2009). Die Ursachen hierfür sind vielfältig. Sie umfassen unter anderem die Expression von Hämostasefaktoren durch maligne Zellen, dazu zählen TF, Mikropartikel und Fibrinolyseinhibitoren (Rak et al. 2006). Darüber hinaus werden unter anderem ADP sowie verschiedenste Zytokine von den Tumorzellen freigesetzt. Hierbei sind vorrangig proinflammatorische und angiogene Faktoren wie Tumornekrosefaktor- α (TNF- α), IL-1 β oder vascular endothelial growth factor (VEGF) zu nennen (Rickles und Falanga 2001). Darüber hinaus sind maligne Zellen in der Lage, Adhäsionsmoleküle und deren Rezeptoren auf ihrer Oberfläche zu exprimieren und somit direkten Kontakt zu Endothelzellen, Thrombozyten und Leukozyten herzustellen. Infolgedessen kommt es zur Aktivierung dieser Zellen und hiermit zur Generierung einer prokaogulanten und proadhäsiven Situation (Falanga et al. 2009).

Zusammenfassend führen die Gesamtheit der verschiedenen Komorbiditäten und die Dialysesituation an sich dazu, dass thrombophile Begleiterkrankungen bei Patienten unter Hämodialyse häufig auftreten (Hammel et al. 1982). Auch in dieser Studie zeigte sich ein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Adhäsionsindex gesunder Probanden und Dialysepatienten mit einer Thrombose oder einem Schlaganfall in der Anamnese.

Bei der Auswertung der Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass die dialysepflichtigen Patienten oftmals mehrere der oben diskutierten Krankheitsbilder aufwiesen. Da jedes von ihnen einen Risikofaktor für eine Thrombophilie darstellt bzw. mit erhöhter Thrombozytenaktivität verbunden ist, könnte es zu potenzierenden Wechselwirkungen und Überlagerungen der pathologischen Einflüsse bei der Dialyse gekommen sein. Dies macht eine differenzierte Ursachenermittlung recht schwierig. Zusätzlich ist kritisch anzumerken, dass bei einigen signifikanten Resultaten recht geringe Fallzahlen vorliegen. Es wäre sinnvoll, diese Ergebnisse an größeren Kohorten zu überprüfen.

5.2 Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II

Die Heparin-induzierte Thrombozytopenie Typ II ist eine erworbene Autoimmunreaktion der Thrombozyten hervorgerufen durch die Gabe von Heparin (Alving 2003, Nowak 2009). Sie wird durch PF4-Heparin-Antikörper getriggert und geht einher mit Thrombozytenaktivierung und endothelialer Dysfunktion. Das sich ergebende Krankheitsbild ist gekennzeichnet durch eine Thrombozytopenie einerseits und ein hohes Risiko für die Entwicklung eines thrombotischen Geschehens andererseits (Walenga et al. 2000, Baldwin et al. 2008).

5.2.1 PADA-HIT im Vergleich der Studienkollektive und Diskussion relevanter Einflussfaktoren

Im Zuge dieser Arbeit wurde mittels PADA-HIT untersucht, wie häufig HIT II-positive Testergebnisse bei gesunden Probanden im Vergleich zu dialysepflichtigen Patienten auftraten. Bei den Probanden ergaben sich 15%, bei den Dialysepatienten 38% HIT II-positive Befunde.

5.2.1.1 Regelmäßige bzw. vorherige Heparinapplikationen

Das vermehrte Vorkommen im Patientenkollektiv kann mit der regelmäßigen Applikation hoher Dosen Heparin erklärt werden, das als Antikoagulanz vor jeder Hämodialyse als Bolus gegeben werden muss (Horsewood et al. 1996, Jang und Hursting 2005). Bei den gesunden Personen kann ein Einfluss von Heparin ebenfalls beobachtet werden. Die Probanden, die anamnestisch schon früher Heparin erhielten, zeigten signifikant häufiger einen HIT II-positiven Befund als jene, die noch nie Kontakt zu Heparin hatten. Des Weiteren beschrieben 2005 Martel et al. Unterschiede in der Erkrankungshäufigkeit bezüglich der verwendeten Heparinklasse. Bei der Verwendung von unfraktioniertem Heparin ergab sich ein höheres Risiko für HIT II als bei Gebrauch von niedermolekularem Heparin.

5.2.1.2 Geschlechtsspezifische Unterschiede

Ein weiteres Ergebnis, das in den Studienkollektiven nachgewiesen wurde, ist ein signifikant häufigeres Auftreten der HIT II-Antikörper bei Probandinnen bzw. Patientinnen. Die Analyse ergab, dass weibliche Personen ein rund 3-fach höheres Risiko besitzen, HIT II-Antikörper zu generieren, als Personen männlichen Geschlechts. Dies wurde ebenso bei Warkentin et al.

2006 beschrieben. Es konnte dabei in drei Studien gezeigt werden, dass Frauen ein zweifach höheres Risiko für einen HIT II-positiven Befund haben als Männer. Über die Ursachen hierfür ist zur Zeit noch relativ wenig bekannt. Ein möglicher Grund könnte ein geschlechtsabhängiger Unterschied in der Pathogenität der gebildeten Antikörper gegenüber den PF4-Heparin-Komplexen sein und infolgedessen im Ausmaß der Immunantwort (Warkentin et al. 2006).

5.2.2 Prävalenz HIT II-positiver Befunde bei verschiedenen Nachweismethoden

Recht kontrovers wird in vielen Studien über die Häufigkeit der HIT II-Befunde diskutiert. Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen 38% HIT II-positive Ergebnisse bei dialysepflichtigen Patienten und 15% bei gesunden Probanden. In anderen Arbeiten wurde mit Hilfe des ELISA-Verfahrens evaluiert, wie häufig PF4-Heparin-Antikörper bei gesunden Probanden nachzuweisen sind. Dabei verzeichneten Newman et al. 1998 21,9%, Eichler et al. 2002 30,0% und Alberio et al. 2003 15% positive Resultate. Dahingegen konnten Arepally und Hursting 2008 nur in 1,0-4,3% der Fälle entsprechende Ergebnisse verzeichnen. Für diese divergenten Werte könnten Kreuzreaktivitäten mit anderen unspezifischen, von Heparin unabhängigen Antikörpern verantwortlich sein, die die Bindungsstellen der PF4-Heparin-IgG-Antikörper besetzen (de Larranaga et al. 2002). Weiterhin könnten neben den klinisch relevanten IgG-Antikörperklassen auch die IgM- und IgA-PF4-Heparin-Antikörper erfasst worden sein, wobei deren Rolle für eine HIT II bisher noch nicht eindeutig nachgewiesen werden konnte. Warkentin et al. 2005 beschrieben, dass nur ca. die Hälfte der detektierten Antikörper zur IgG-Klasse gehört und davon wiederum nur die Hälfte biologische Aktivität aufweisen, das heißt Thrombozyten zu aktivieren und somit eine HIT II hervorzurufen. Neben den ELISA's stehen auch funktionelle Tests zur Verfügung wie beispielsweise der ¹⁴C-SRA, welcher die Freisetzung von Serotonin nach Zugabe von Heparin erfasst und damit indirekt die HIT II-AK misst (Kelton 2005). Das Defizit dieses Verfahrens ist die mangelnde Sensitivität, so dass falsch negative Werte nicht auszuschließen sind (Baldwin et al. 2008). Kritisch zu ehen ist, dass alle der bisher verfügbaren Tests mit Serum arbeiten. Serum stellt den Anteil des Bluts dar, der durch eine spontane Gerinnung von den geformten Bestandteilen befreit wurde, hierbei jedoch auch Gerinnungsproteine wie beispielsweise Fibrinogen fehlen. Im Serum sind daher nur die Antikörper nachzuweisen, die in freier Form vorliegen. Dies

bedeutet, dass die IgG-Antikörper, die an den Fc_{moc}-Rezeptoren der Thrombozyten gebunden sind, nicht erfasst werden. Es ist nicht geklärt, ob zu Beginn der HIT II-Reaktion gebundene und freie Antikörper im Blut gleichverteilt sind. Da aber Thrombozyten hochaffine Rezeptoren für IgG-HIT II-AK haben, ist anzunehmen, dass während der HIT II-Reaktion die IgG-Antikörper vor allem gebunden vorliegen (Nowak 2009).

5.2.3 PADA-HIT

Mit dem PADA-HIT ist ein neues Nachweiskonzept verfügbar, bei dem die IgG-Antikörper detektierbar sind, die an die Thrombozyten gebunden vorliegen. Somit ist es möglich, sehr frühzeitig die gebildeten HIT II-AK vom IgG-Typ zu erfassen. Dieser Umstand spiegelt eine hohe Sensitivität dieses Tests wider. Die Einschränkung des PADA-HIT-Tests besteht in möglichen Kreuzreaktivitäten mit anderen IgG-Antikörpern an den Bindungsstellen der Thrombozyten und eine dadurch reduzierte Spezifität. Im Rahmen der Untersuchungen ergab sich in beiden Gruppen ein überraschend hohes Ergebnis bezüglich der HIT II-positiven Befunde. Dem gegenüber ist eine klinisch relevante HIT II eher selten. Ein Grund hierfür könnte bei den dialysepflichtigen Patienten in der Dialyse selbst zu finden sein. An den semipermeablen Polymermembranen werden Plasmaproteine, vor allem Fibrinogen, gebunden. Dieses wiederum kann als adhärentes Protein Bindungen mit den durch die IgG-AK aktivierten Thrombozyten eingehen. Über diesen Vorgang werden parallel die an die Thrombozyten gebundenen Antikörper eliminiert, so dass deren Titer konstant niedrig bleibt (Nowak 2009). Das könnte bedeuten, dass der resultierende Titer ausreichend ist, um HIT II-positiv Testergebnisse zu bewirken, aber nicht um eine Klinik zu verursachen.

Auch bei den gesunden Probanden könnte es an den Fc γ IIA-Rezeptoren der Thrombozyten, wie oben beschrieben, zu Interaktionen mit anderen IgG-Antikörpern gekommen sein. Weiterhin könnten persistierende HIT II-AK von einer vorherigen einmaligen bzw. kurzzeitigen, niedrig dosierten Heparin-Gabe stammen, so dass die AK zwar nicht in ausreichender Menge gebildet wurden um eine Klinik hervorrufen zu können, aber mittels PADA-HIT noch nachweisbar waren.

5.2.4 Konsequenzen HIT II-positiver Testergebnisse und alternative Möglichkeiten der Antikoagulation

Die Ziele des aktuellen Therapieregimes bei HIT II umfassen die Senkung des Thromboserisikos durch Hemmung der Thrombozytenaktivierung und der Reduzierung der Thrombingenerierung. Die Gabe aller heparinhaltigen Medikamente sollte unverzüglich eingestellt werden, wobei jedoch auf eine alternative Antikoagulation nicht verzichtet werden darf. Als adäquate Ersatztherapie gelten heutzutage die direkten Thrombininhibitoren Lepirudin, Argatroban und Bivalirudin. Die Verwendung von Cumarinen direkt nach Absetzen des Heparins und während der aktiven HIT II ist kontraindiziert, da diese Medikamente vorübergehend einen deutlichen prothrombotischen Zustand hervorrufen können. In mehreren Publikationen wurde eine warfarininduzierte venöse Gangrän im Zusammenhang mit HIT II und der Gabe von Cumarinen beschrieben, der auf einem relativen Mangel an Protein C und S beruht (Baldwin et al. 2008). Die alternative Antikoagulation in Fällen einer klinischen HIT II sollte mit direkten Thrombininhibitoren 2 bis 4 Wochen umfassen bis die Thrombozytenzahlen wieder über $150 \times 10^9/l$ gestiegen sind. Ist dies erreicht, kann die Therapie auf Cumarine umgestellt werden und weitere 3 bis 6 Monate weitergeführt werden. Nach dieser Zeit sollten die heparininduzierten Antikörper aus der Blutzirkulation eliminiert sein. Wurden bei Patienten klinische Symptome einer HIT II beobachtet, sollte für immer auf die Verwendung von Heparin verzichtet werden. Es konnte jedoch in Studien beobachtet werden, dass eine einmalige Heparin-gabe nach Jahren nicht unmittelbar zu einem erneuten Auftreten der symptomatischen HIT II führen muss, wie es bei anderen antikörperbedingten Erkrankungen typisch ist (Baldwin et al. 2008, Matthies et al. 1999).

Da ein routinemäßiges Screening vor einer Heparin-gabe zu teuer wäre und die zur Verfügung stehenden Tests eine unzureichende Sensitivität oder Spezifität besitzen, erscheint es sinnvoll, die Diagnostik und Therapie der HIT II für jeden Patienten individuell zu gestalten.

Generell gilt bei Auftreten einer milden Thrombozytopenie unter Heparin-gabe (30% Abfall der Thrombozyten) bzw. Existenz eines alternativen Grundes für den Thrombozytenabfall, dass von einem geringen Risiko für HIT II gesprochen wird. Heparin sollte abgesetzt werden und sich in den folgenden Tagen eine engmaschige Überwachung bezüglich eventueller Thromboseereignisse anschließen (Baldwin et al. 2008, Matthies et al. 1999).

Zeigt sich unter Heparinabgabe ein akuter Abfall der Thrombozyten ohne plausiblen Grund bzw. eine Thrombozytopenie oder Thrombose, besteht ein moderates HIT II-Risiko. In diesem Fall wird geraten, Heparin abzusetzen und einen Test auf HIT II-Antikörper durchzuführen. Ergibt sich dabei ein positives Ergebnis, wird eine alternative Antikoagulation mit einem direkten Thrombininhibitor zwingend notwendig.

Ein hohes HIT II-Risiko liegt vor, wenn es unter Heparinapplikation zu einer akuten Thrombozytopenie und Thrombose ohne mutmaßliche Ursache kommt. Ein sofortiges Absetzen der Heparintherapie und Prüfung auf HIT II-Antikörper ist hierbei ebenfalls ratsam und eine Umstellung auf direkte Thrombininhibitoren. Bei der Auswertung der Testergebnisse muss jedoch beachtet werden, dass ein positiver ELISA nicht beweisend ist für eine HIT II und bei einem negativen Resultat eines funktionellen Tests eine HIT II nicht ausgeschlossen werden kann (Baldwin et al. 2008, Matthies et al. 1999).

Schlussfolgernd lässt sich sagen, dass es im Moment noch nicht möglich ist, allein aus einem positiven Testergebnis eine HIT II zu diagnostizieren, sondern dass dies nur in Kombination mit klinischen Symptomen erfolgen kann (Nowak 2009). Um den PADA-HIT weiter zu verbessern, sollten sich an diese Arbeit Studien anschließen, die die bereits untersuchten Probanden und Patienten in deren Verlauf erfassen, um potentielle klinische Ereignisse und mögliche Korrelationen zu den hier ermittelten PADA-HIT-Befunden dokumentieren zu können und die klinische Relevanz der Daten zu bestätigen.

5.3 ASS-Resistenz

5.3.1 Diskussion der ASS-Resistenz

ASS stellt seit mehr als 40 Jahren einen Eckpfeiler in der primären und sekundären Prävention von kardiovaskulären Erkrankungen dar. Zahlreiche Studien konnten den Nutzen dieser Therapie im Sinne einer Risikoreduktion darstellen (Patrono et al. 2004). Es wurden jedoch immer wieder Studien publiziert, in denen Patienten kardiovaskuläre Ereignisse erlitten, obwohl sie unter ASS-Therapie standen (Mason et al. 2005). Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurde mit Hilfe des PADA-RASS die Prävalenz und das Profil der ASS-Resistenz bei dialysepflichtigen Patienten im Vergleich zu gesunden Probanden ermittelt.

5.3.2 Prävalenz und Einflussfaktoren der ASS-Resistenz gesunder Probanden

Das PADA-RASS-Profil des gesunden Kollektivs ergab 26 % ASS-Responder, 36 % ASS-Nonresponder und 38 % PRASA. Shen et al. 2009 untersuchten mit Hilfe der Vollblut-Thrombozytenaggregometrie ebenfalls das Resistenzprofil bei gesunden Probanden. Dabei zeigte sich zu 21 % eine ASS-Resistenz. Weiterhin erhoben sie signifikante Zusammenhänge zwischen den ASS-resistenten Probanden und deren Alter, Cholesterinwert, LDL-Wert, Hämatokrit und Thrombozytenzahlen. Darüber hinaus waren die weiblichen Probandinnen signifikant häufiger ASS-resistent als männliche Probanden. Blais et al. 2009 sowie die Untersuchungen im Rahmen dieser Dissertation konnten keine Korrelationen in Bezug auf metrische bzw. binäre Variablen erfassen. Die im Rahmen unserer Untersuchungen ermittelte Unabhängigkeit von den konventionellen Einflussfaktoren könnte für eine genetische Prädisposition der ASS-Resistenz oder für den Einfluss von physischem bzw. psychischem Stress sprechen.

5.3.2.1 Genetische Einflussfaktoren

Mehrere Studien haben sich mit dem Aspekt einer genetischen Ursache auseinandergesetzt und konnten zahlreiche Polymorphismen der COX-Gene und Thrombozytenrezeptoren (beispielsweise GPIIb/IIIa- und ADP-Rezeptoren) ermitteln, die mit einer reduzierten Reaktion auf Acetylsalicylsäure einhergehen (Goodman et al. 2007, Maree et al. 2005). Darüber hinaus könnten durch genetische Prädispositionen die unterschiedlichen

Möglichkeiten der Thrombozytenaktivierung eine stark variierende Relevanz bei den gesunden Probanden haben. ASS hemmt die Thromboxan A₂-abhängigen Mechanismen, die Thrombozyten werden aber auch durch andere Stimuli aktiviert, beispielsweise ADP, Thrombin oder Kollagen. Sind durch genetische Veränderungen diese Möglichkeiten der Thrombozytenaktivierung verstärkt vorhanden, könnte es zu einer unzureichenden Hemmung der Thrombozyten trotz ASS-Einnahme kommen. Doch nicht alle Studien konnten entsprechende Zusammenhänge bestätigen (Halushka et al. 2003).

5.3.2.2 Physischer und psychischer Stress

Sowohl physischer als auch psychischer Stress führen durch eine gesteigerte Aktivität des sympathischen Nervensystems zu einer Abnahme der Effektivität von ASS, wobei die erhöhte Katecholaminkonzentration selbst zwar nur als schwacher Agonist der Thrombozytenaktivierung fungiert, jedoch vor allem die Wirkung anderer Agonisten, wie beispielsweise Thrombin oder ADP verstärkt (Hurlen et al. 2000, Dimsdale und Moss 1980, Keraly et al. 1986). Physischer und psychischer Stress könnten neben den genetischen Faktoren für den überraschend hohen Anteil an ASS-Nonrespondern bzw. PRASA in der Population der gesunden Probanden verantwortlich sein.

Die Limitation liegt darin, die klinische Relevanz der erzielten ASS-Resistenz-Daten an gesunden Probanden zu überprüfen. Weiterhin fehlen eine international anerkannte Definition der ASS-Resistenz und standardisierte Testverfahren. Im Zuge der Ergebnisdiskussion der Dialysepatienten wird noch einmal umfassend auf diese Sachverhalte eingegangen werden. Generell wurden die bisherigen Analysen an gesunden Probanden mit zu kleinen Populationsgrößen durchgeführt, so dass diese einen Rückschluss auf die Gesamtbevölkerung nicht zulassen (Undas et al. 1999, Cooke et al. 1998, Jefferson et al. 2005, Shen et al. 2009). Es sollten sich deshalb weitere Untersuchungen zum ASS-Resistenz-Profil gesunder Probanden anschließen, um eine größere Datensicherheit zu erhalten.

5.3.3 Prävalenz und Einflussfaktoren der ASS-Resistenz dialysepflichtiger Patienten

Die ASS-Resistenzbestimmung der dialysepflichtigen Patienten ergab ein ASS-Resistenz-Profil von 20 % ASS-Respondern, 21 % ASS-Nonrespondern und 59 % PRASA. Im Vergleich erreichten andere Studien Werte zwischen 9 - 65 % bzw. 0 - 57 % (Zytkiewicz et al.

2008, Hoven et al. 2007). Die von uns durchgeführten Untersuchungen bezüglich metrischer und binärer Merkmale zeigten signifikante Korrelationen zwischen dem ASS-Resistenz-Profil und der Thrombozytenzahl, Herzinsuffizienz, Diabetes mellitus und Magengeschwüren. Im Hinblick auf diese Erkrankungen ergab sich, dass bei Dialysepatienten mit Herzinsuffizienz bzw. Diabetes mellitus signifikant häufiger eine PRASA auftrat als bei dialysepflichtigen Patienten ohne diese Begleiterkrankungen. Die ursächlichen Zusammenhänge wurden bereits in den vorherigen Kapiteln im Rahmen der Diskussion bezüglich der erhöhten Thrombozytenaktivitätszustände erörtert. Gegensätzlich stellen sich die Patienten mit Magengeschwüren dar. Hier waren signifikant häufiger ASS-Responder vorzufinden. Dies erscheint schlüssig, da möglicherweise bei vorhandener Wirksamkeit des Medikaments auch gehäuft mit dieser „klassischen“ Nebenwirkung gerechnet werden muss.

5.3.4 ASS-Resistenz im Vergleich der Studienkollektive und in Korrelation zu verschiedenen Erkrankungen

Die Signifikanz hinsichtlich der Begleiterkrankungen Herzinsuffizienz und Diabetes mellitus konnte nicht nur innerhalb des Studienkollektivs der Dialysepatienten nachgewiesen werden, sondern auch im Vergleich der beiden Studienpopulationen miteinander. Es ergaben sich weiterhin bei dem Vergleich der beiden Kohorten signifikante Resultate für KHK, Zustand nach Myokardinfarkt, Arrhythmia absoluta, diabetische Nephropathie und Hypertonie. Mögliche Ursachen für das Versagen der ASS-Therapie bei Vorliegen von renaler Insuffizienz, akutem Koronarsyndrom, Hypertonie, Herzinsuffizienz und Diabetes mellitus könnte eine gesteigerte Thrombozytenaktivität und ein vermehrter Umsatz von aktivierten prothrombotischen Faktoren sein und somit die Prädisposition für das gehäufte Auftreten von ASS-Resistenz erklären (Serebrany et al. 2003, Angiolillo und Suryadevara 2009, Gupta und Gupta 2008). Diese Zusammenhänge wurden bereits in den vorherigen Kapiteln dargelegt.

5.3.5 ASS-Resistenz im Vergleich der Studienkollektive und in Korrelation zu individuellen Einflussfaktoren

Neben den erwähnten Erkrankungen zählen ebenfalls physischer und psychischer Stress (wie bereits in Kapitel 5.3.2.2 dargelegt), Medikamenteninteraktion mit nichtsteroidalen Antirheumatika (NSAR), Variabilität der Pharmakokinetik und -dynamik, unzureichende

Dosierung, Dauer der Einnahme und Noncompliance zu den klinischen Ursachen der ASS-Resistenz, so dass sie ebenfalls diskutiert werden sollen (Wang et al. 2006, Kasotakis et al. 2009).

5.3.5.1 Interaktion von ASS mit NSAR

Die Effizienz von ASS könnte ebenfalls durch die Einnahme von zusätzlichen NSAR reduziert worden sein. Diese Medikamente binden kompetitiv am COX-1-Enzym, somit am Rezeptor der Acetylsalicylsäure und behindern deren kardioprotektive Wirkung. Dies gilt in besonderem Maße für Ibuprofen (Curtis und Krumholz 2004, MacDonald und Wei 2003, Kurth et al. 2003). Im Rahmen dieser Untersuchungen konnte diesbezüglich kein statistisch signifikanter Zusammenhang ermittelt werden.

5.3.5.2 Gestörte Pharmakologie und Noncompliance

Weiterhin kann eine gestörte Pharmakokinetik und -dynamik von ASS Grund für eine unzureichende Wirkung darstellen. ASS wird im Magen und Dünndarm absorbiert. Kommt es in diesen Bereichen zu Veränderungen des pH-Wertes, kann dies die ASS-Aufnahme hemmen. Hierzu fanden Anand et al. 1999, dass bei Einnahme von Protonenpumpenhemmern und den damit verbundenen pH-Veränderungen durch verminderte Freisetzung von Magensäure das Potential von Dünndarmesterasen gesteigert wird, ASS zu hydrolysieren und dadurch zu inaktivieren. Weiterhin wird ASS im Blut durch die Leber, aber auch durch Erythrozyten und Hydrolasen, die im Plasma zirkulieren, deacyliert. Kommt es zu einer Enzym-Überexpressionen der Hydrolasen, könnte auch dies zu einem verminderten Effekt von ASS führen (Pappas et al. 1994). Bezüglich der Dosishöhe von Acetylsalicylsäure besteht ebenfalls Uneinigkeit. Kong 2004 beschreibt in seiner Studie, dass die Möglichkeit nicht ausgeschlossen werden kann, dass höhere Dosen ASS wirkungsvoller seien. Allerdings haben Arbeiten mit klinischem Endpunkt eruiert, dass tägliche Dosen von 75 – 150 mg die gleiche Effektivität besitzen wie höhere Dosen (Quinn et al. 2004, Antithrombotic Trialist`Collaboration 2002). Diesbezüglich ermittelten Alexander et al. 1999 und Santopinto 2001 jedoch, dass der Thrombozytenhemmeffekt mit zunehmender Dauer der Medikamenteneinnahme verloren gehen kann und dass die Abnahme der ASS-Wirkung mit einer Steigerung kardiovaskulärer Ereignisse koinzidiert. Als mögliche Ursachen dafür

werden das Voranschreiten einer Artherosklerose, induzierbare COX-1-Enzyme und sinkende Compliance vermutet (Pulcinelli et al. 2004). Noncompliance tritt bei bis zu 40 % der kardiovaskulären Patienten im Rahmen der ASS-Einnahme auf (Schwartz et al. 2005). Das würde einen wichtigen Hinweis auf die Bedeutung der ASS-Resistenz-Diagnostik geben. Die Noncompliance kann bezüglich der PADA-RASS-Messungen als Störgröße ausgeschlossen werden, da der Test in der Lage ist, das ASS-Resistenz-Profil unabhängig von einer vorherigen ASS-Einnahme darzustellen.

5.3.5.3 Zelluläre Einflussfaktoren

Neben den erwähnten Erkrankungen und den individuellen Faktoren der ASS-Resistenz existieren zelluläre Mechanismen, die die ASS-Wirkung beeinflussen können. Die Aktivierung und Aggregation von Thrombozyten sind komplexe Vorgänge, denen zahlreiche zelluläre Mechanismen vorausgehen. Dazu zählen verschiedene Wege der Thrombozytenaktivierung, die sich unabhängig von Thromboxan A₂ darstellen und somit nicht durch ASS gehemmt werden können, beispielsweise mittels ADP, Thrombin, Epinephrin-Kollagenrezeptoren und Fibrinogen (Roth und Calverley 1994). Hierzu konnten Macchi et al. 2002 und Kawasaki et al. 2000 nachweisen, dass die in-vitro-Aktivierung der Thrombozyten durch ADP und Kollagen bei ASS-resistenten Probanden sehr viel stärker ist und dieser Option damit eine größere Bedeutung zukommen würde. Ursache dafür könnten genetische Veränderungen an den Oberflächenrezeptoren der Thrombozyten sein, die zu einer Verminderung der Wirkung von ASS geführt haben (Goodman et al. 2007). Die Folge wäre, dass dem COX-1-vermittelten Weg eine untergeordnete Rolle zukommen würde und damit ASS eine unzureichende Funktion hätte (Tantry et al. 2009). Ein weiterer wichtiger zellulärer Faktor der ASS-Resistenz besteht in der alternativen Thromboxan A₂-Produktion. Nicht nur die COX-1 der Thrombozyten sondern auch die induzierbare COX-2 sind in der Lage, TXA₂ freizusetzen. COX-2 kann in Makrophagen, Megakaryozyten, Monozyten und unreifen Thrombozyten nachgewiesen werden und ist für die Thrombozytenaktivierung in der Regel von untergeordneter Bedeutung. Weiterhin zeigen die COX-2-Moleküle eine 10 – 100-fach geringere Antwort auf ASS, wodurch sich die Hemmung der COX-2 nach ASS-Gabe nur sehr eingeschränkt darstellt. (Maclouf et al. 1998, Schönbeck et al. 1999, Rocca et al. 2002, Weber et al. 1999, Simmons et al. 2004). Kommt es allerdings zu einem erhöhten

Thrombozytenumsatz bzw. zu einem Anstieg der oben genannten Entzündungszellen, beispielsweise nach Operationen, bei Infektionen, Artherosklerose, artherothrombotischen Ereignissen, Myokardinfarkt, Tumorerkrankungen usw., könnte die Thrombozyten-COX-2 für die TXA₂-Produktion relevant werden und somit die Diagnostik der ASS-Resistenz verfälschen (Weber et al. 1999, Zimmermann et al. 2003, Falanga et al. 2009).

Die angeführte Vielzahl an Ursachen für eine mögliche ASS-Resistenz macht deutlich, dass es momentan sinnvoll erscheint, zwischen einer klinischen und einer diagnostischen ASS-Resistenz zu unterscheiden. Erleiden Patienten unter einer ASS-Prophylaxe kardiovaskuläre Ereignisse, liegt möglicherweise eine klinische ASS-Resistenz vor. Zu variablen Größen, die in diesem Fall überprüft und gegebenenfalls ausgeglichen werden können, zählen unter anderem die Compliance bezüglich der Einnahme, eine optimale Einstellung des Blutdrucks, des Blutzuckers und des Blutcholesterols zur Reduzierung der Thrombozytenreaktivität oder Interaktionen mit anderen Medikamenten, die vermieden werden sollten (Hankey und Eikelboom 2006, Wang et al 2006). Eine effektive Behandlungsalternative stellt die unterstützende Thrombozytenhemmung mit beispielsweise Clopidogrel dar. Dabei muss jedoch auf ein erhöhtes Blutungsrisiko geachtet und ein therapeutisches drug monitoring für Clopidogrel eingeleitet werden (Wang et al. 2006).

5.3.6 Nachweismethoden der ASS-Resistenz

Die diagnostische ASS-Resistenzbestimmung definiert sich als fehlende Thrombozytenhemmung im Rahmen von Testverfahren. Hierbei kommt es nach Einnahme von ASS bzw. bei deren Zugabe zu einer Blutprobe nicht zu einer Thrombozytenhemmung. Bei all den Tests besteht das Problem der fehlenden Standardisierung und einer ausgebliebenen international anerkannten Definition.

5.3.6.1 Licht-Transmissionsaggregometrie

In einigen Publikationen wird die Licht-Transmissionsaggregometrie (LTA) als derzeitiger Goldstandard beschrieben (Michelson 2004). Hierbei wird die Veränderung der Lichtdurchlässigkeit nach Zugabe eines Plättchenagonisten im PRP bestimmt (Nicholson et al. 1998). Die Schwierigkeit dieser Methode besteht darin, dass sie nur in spezialisierten Laboren durchgeführt werden kann und einige Erfahrung hinsichtlich solcher Messungen

benötigt wird. Durch unterschiedliche Messtechniken und fehlende Praxis in der Testdurchführung könnten Ergebnisdifferenzen entstehen, die eine Interpretation erschweren würden (Michelson 2004, Nicholson 1998). Darüber hinaus erscheint es fraglich, in wie weit Ergebnisse auf die in-vivo-Verhältnisse übertragen werden können, wenn sie durch Messungen in PRP und nach Zugabe von unphysiologisch hohen Mengen an Plättchenagonisten entstanden sind (Nowak 2007).

5.3.6.2 Vollblutaggregometrie

Ein weiteres Testverfahren stellt die Vollblutaggregometrie dar. Hierbei werden zwei Elektroden in Vollblut positioniert, welche die Änderung der elektrischen Impedanz nach Zugabe von Thrombozytenagonisten messen (Rand et al. 2003). Der Vorteil besteht im Gebrauch von Vollblut, dem natürlichen Milieu der Thrombozyten. Gegenätzlich argumentieren Perneby et al. 2006. Sie sehen bei Messungen im Vollblut die Gefahr, dass durch Interaktionen der Thrombozyten mit Bestandteilen des Blutes ein vorhandener ASS-Effekt überlagert und somit fälschlicherweise ASS-Resistenz ermittelt werden könnte (Santos et al. 1991). Zudem müssen auch bei der Vollblutaggregometrie hohe technische Voraussetzungen erfüllt werden und darüber hinaus ist sie wie die LTA recht zeitintensiv. Aus diesen Gründen wurden in den letzten Jahren patientennahe Tests, so genannte point-of-care-assays, entwickelt.

5.3.6.3 11-Dehydro-Thromboxan-B₂-Bestimmung im Urin

11-Dehydro-Thromboxan-B₂ (11-dehydro-TXB₂) ist der stabile Metabolit des Thromboxan A₂, wobei die Konzentration im Urin proportional zu der im Serum ist, jedoch um einiges einfacher bestimmt werden kann. Eine reduzierte 11-dehydro-TXB₂-Konzentration im Urin spiegelt somit eine gehemmte COX-1-Aktivität und gleichzeitig die ASS-Wirkung wider (Catella et al. 1986). Die Problematik dieses Tests besteht darin, dass der 11-dehydro-TXB₂-Spiegel im Urin nicht spezifisch der Thrombozytenaktivität zugeordnet werden kann (Eikelboom et al. 2002). Wie oben beschrieben, sind andere Zellen ebenfalls in der Lage, TXA₂ zu produzieren und so zu einem falschen Testergebnis zu führen. Die Vorteile dieses Tests wurden in einer Studie von Eikelboom et al. 2002 dargestellt, bei der eine Korrelation zwischen den TXB₂-Konzentrationen und klinischen Ereignissen gefunden wurde. Der 11-

dehydro-TXB₂-Test zählt zu den sogenannten point-of-care-assays. Wie bereits beschrieben, setzen die LTA und Vollblutaggregometrie hohe technische Voraussetzungen und zeitintensive Messungen voraus. Um diese Sachverhalte zu optimieren, werden „patientennahe“ Tests bzw. point-of-care-assays entwickelt, zu denen unter anderem auch der PADA-RASS zählt.

5.3.6.4 VerifyNow Aspirin[®]-Test

Ebenfalls zu den point-of-care-assays zählt der VerifyNow Aspirin[®]-Test. Hierbei wird durch die Zugabe von Arachidonsäure die Aggregation der Thrombozyten in verdünntem Vollblut an fibrinogenüberzogenen Perlen induziert und anschließend per optischem Messverfahren erfasst (Nicholson et al. 1998).

5.3.6.5 PFA-100[®]

Der zur Zeit am häufigsten verwendete bed-side-Test (point-of-care-assay) ist der Platelet Function Analyzer-100[®]. Bei diesem Verfahren wird Vollblut unter hohem Scherstress in eine Kartusche aspiriert, in der sich eine kapilläre Öffnung befindet, die mit Thrombozytenagonisten umgeben ist. Erfasst wird nun die Zeit, die benötigt wird, um den kapillären Blutfluss durch einen thrombozytenreichen Thrombus zu stoppen. Das Messprinzip soll die Thrombusbildung bei hohem Blutfluss nach Verletzung einer Gefäßwand nachahmen (Rand et al. 2003). Die Vorteile des VerifyNow Aspirin[®]-Tests und des PFA-100[®] liegen in der Automatisierung der Messverfahren und in der Verwendung von Vollblut, da dies die Situation im Organismus mit der Vielzahl der Wechselwirkungen zwischen Blutbestandteilen und Thrombozyten am besten widerspiegelt. Die Schwierigkeiten bestehen, wie bereits oben erwähnt, in der Überlagerung des ASS-Effekts durch diese komplexen Interaktionen im Vollblut und der Zugabe von unphysiologischen Konzentrationen an Thrombozytenagonisten (Santos et al. 1991, Nowak 2007).

Lordkipanidze et al. 2007 überprüften in ihrer Studie alle der oben genannten Tests jeweils an gleichen Probanden und zeigten dabei, dass zwischen den Messverfahren nur eine schwache Korrelation bestand und eine geringe Übereinstimmung bezüglich der Klassifikation der untersuchten Personen als ASS-sensitiv oder -resistent existierte. Eine mögliche Ursache für die negativen Resultate der Studie könnte sein, dass die geprüften Testverfahren meistens in einen anderen Bereich des Thrombozytenmetabolismus eingreifen und Vergleiche somit

schwierig auszuwerten sind. Darüber hinaus sehen Lordkipanidze et al. das Hauptdefizit innerhalb der Nachweismethoden in der willkürlichen und klinisch nicht validierten Festlegung der Grenzwerte, die ASS-Resistenz von ASS-Sensitivität trennen.

5.3.7 PADA-RASS

Die beschriebenen Diskrepanzen mit den bisher zur Verfügung stehenden Testverfahren waren der Anlass, im Rahmen dieser Promotionsarbeit mit Hilfe einer neuen Messmethode vergleichende Untersuchungen an Dialysepatienten und gesunden Probanden durchzuführen, um die ASS-Resistenz-Profile der beiden Kollektive zu ermitteln und den PADA-RASS als ASS-Resistenz-Test zu etablieren. Der PADA-RASS bietet gegenüber den bisher zur Verfügung stehenden ASS-Resistenz-Tests diverse Veränderungen und Vorteile. Unter anderem besteht nicht die Problematik der Compliance, da ASS während der Testdurchführung zugegeben wird und somit das Ergebnis unabhängig von einer eventuellen vorherigen Einnahme ist. Darüber hinaus wird neben der Verwendung von Vollblut gänzlich auf die Zugabe von Thrombozytenagonisten verzichtet, wodurch die PADA-RASS-Bedingungen den Verhältnissen im Organismus besser entsprechen. Weiterhin wurde bei den bisherigen Tests Citrat zur Antikoagulation verwendet. Hierdurch werden die extrazellulären Calciumionen gebunden, was zur Verminderung des Calciumgehalts an der Außenseite der Thrombozytenmembran führt. Daraus resultiert ein störender Einfluss auf die intrazellulären Calciumdepots und als Konsequenz auch auf das Aggregationsverhalten (Bretschneider et al. 1994). Im Rahmen des PADA-RASS finden die Messungen daher im heparinisierten Vollblut statt, das erstens den physiologischen Calciumgehalt und zweitens die zellulären Interaktionen im Umgebungsmilieu der Thrombozyten gewährleisten kann. Weitere Vorteile des PADA-RASS bestehen in der einfachen Durchführung und dem schnellen Zugriff auf die Ergebnisse. Um systematische Fehler in der Testdurchführung zu identifizieren und gegebenenfalls zu beseitigen, wurde im Rahmen der Auswertung auf Zusammenhänge zwischen den Testergebnissen und Untersuchern, Partikelchargen und Zeitpunkt der Messungen geachtet. Hierbei konnten keine signifikanten Korrelationen nachgewiesen werden. Parallel zu den Messungen an Dialysepatienten wurde der PADA-RASS auch bei kardiologischen Patienten des Universitätsklinikums Jena im Vergleich zu gesunden Probanden angewendet (Kaden 2010). Es wurden 14,9% ASS-Responder, 26,4% ASS-Resistenz und 58,6% PRASA bei den

Kardiologiepatienten ermittelt. Auch hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied zu den gesunden Probanden ($p = 0,016^*$). Und im Zuge der Untersuchungen wurden weitere vergleichbare Ergebnisse mit den Analyse der dialysepflichtigen Patienten ermittelt. Beim Vergleich der gesunden Probanden mit den Patienten der kardiologischen Station wurden unter anderem signifikant weniger ASS-Responder und häufiger PRASA bei Kardiologiepatienten mit KHK, Herzinsuffizienz bzw. einen Diabetes mellitus beobachtet. Identische Ergebnisse konnten für die dialysepflichtigen Patienten mit KHK, Herzinsuffizienz bzw. Diabetes mellitus im Vergleich zu den gesunden Probanden gezeigt werden. Diese Resultate sollten Anlass geben zu weiteren Studien, die die klinische Relevanz dieser Daten verifizieren könnten.

Der PADA-RASS ist ein bed-side-Test, der im Vollblut durchgeführt wird. Im Rahmen der Untersuchungen existieren Sachverhalte deren Wertigkeit und Einfluss auf die Testergebnisse diskutiert werden sollen. Dazu zählt die Verwendung von Vollblut, in dem die Thrombozyten vielen Interaktionen ausgesetzt sind. Wie bereits oben beschrieben, könnte ein möglicher ASS-Effekt überlagert sein, da diese Wechselwirkungen die Thrombozyten über COX-1-unabhängige Rezeptoren und Signale aktivieren und die Thrombozyten somit in die Lage versetzen, an den fibrinogenbedeckten Polymerpartikeln in der Probe zu binden (Halushka et al. 2003). Es könnte infolgedessen zur Erfassung einer Thrombozytenaggregation durch den PADA-RASS kommen, die ungeachtet einer ASS-Wirkung resultieren würde. Weiterhin zeigten sich im Zuge der Untersuchungen bei 21 der gesunden Probanden und 10 der dialysepflichtigen Patienten messtechnische Probleme. Diese beinhalteten, dass es in den ohne-ASS-Messansätzen nach der Schüttelinkubation zu einem deutlichen Abfall der Thrombozyten kam, so dass falsch positive PRASA-Ergebnisse die Folge waren. Die Frage nach den Ursachen hierfür konnte im Verlauf der Studie nur hypothetisch beantwortet werden, da keine gemeinsamen laborseitigen oder klinischen Parameter zwischen den Probanden und Patienten eruiert wurden. Eine mögliche Erklärung könnte in einer Stressbelastung der Betroffenen direkt vor der Blutentnahme gesehen werden, Da bekannt ist, dass gesteigerter physischer oder psychischer Stress in die Thrombozytenaktivität und ASS-Wirkung störend eingreifen kann (Hurlen et al. 2000, Dimsdale und Moss 1980, Keraly et al. 1986). Diese Thematik sollte in weiteren Studien aufgearbeitet werden, um den PADA-RASS weiter zu optimieren.

Im Rahmen dieser Studie wurden mit 26 % ASS-Responder, 36 % ASS-Nonresponder und 38 % PRASA bei den gesunden Probanden bzw. 20 % ASS-Responder, 21 % ASS-Nonresponder und 59 % PRASA bei den dialysepflichtigen Patienten in beiden Studienkollektiven eine überraschend hohe Prävalenz der ASS-Nonresponder bzw. PRASA mit Hilfe des PADA-RASS ermittelt. Die Ergebnisse könnten unter anderem durch die oben beschriebenen Gegebenheiten verursacht sein. Allerdings sind in zahlreichen weiteren Studien vergleichbar hohe Prozentzahlen beschrieben worden. Grottemeyer et al. 1993 ermittelten zu 30 % ASS-Resistenz, Andersen et al. 2002 zu 40 %, Zytkeiwicz et al. 2008 sogar zu 65 %. Bei den gefundenen hohen Prozentzahlen, bei denen ASS eine ungenügende bis fehlende Wirkung bezüglich der Thrombozytenhemmung zeigt, stellt sich die Frage, in wie weit diese Ergebnisse klinisch relevant sind. Auch hierzu existieren zahlreiche Publikationen mit unterschiedlichen Thrombozytentests, die sich mit diesem Sachverhalt auseinandergesetzt haben. Grottemeyer et al. 1993 ermittelte mit Hilfe des Plättchenreaktivitätstests ein zehnfach erhöhtes Risiko für ein erneutes vaskuläres Ereignis bei ASS-resistenten Patienten im Vergleich zu ASS-sensitiven Patienten. Eine signifikante Häufung von Myokardinfarkt, Schlaganfall und Tod bei ASS-resistenten Patienten konnten Gum et al. 2003 verzeichnen. Sie verwendeten die optische Aggregationsmessung zur Erfassung von Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen, die über einen Zeitraum von zweieinhalb Jahren mit ASS behandelt wurden. Im Rahmen der HOPE (Heart Outcome Prevention Evaluation)-Studie nutzten Eikelboom et al. 2002 den 11-dehydro-TXB₂-Test und konnten zeigen, dass das Risiko, einen Myokardinfarkt, Schlaganfall oder kardiovaskulären Tod zu erleiden, für die Patienten, die unter ASS-Behandlung die höchsten TXB₂-Level zeigten, am größten war. Zu gleichen Ergebnissen kam in der Folgezeit die CHARISMA (Clopidogrel for high atherothrombotic risk and ischemic stabilization, management and avoidance)-Studie (Eikelboom et al. 2008). Mit Hilfe der Vollblutaggregationsmessung konnte bei Patienten, die unter ASS-Therapie eine Ballonangioplastie erhielten, bezüglich des Auftretens von Reokklusionen ein Anstieg um 87 % bei den ASS-resistenten Patienten verzeichnet werden (Mueller et al. 1997). Darüber hinaus stehen Metaanalysen zur Verfügung, die eine Vielzahl an Studien zusammengefasst haben. Dazu zählt beispielsweise die Metaanalyse von Crescente et al. 2008. Sie erfasste 53 Studien, die alle mit dem PFA-100[®]-Test arbeiteten. Für die ASS-resistenten Patienten bestand im Vergleich zu den ASS-sensiblen Patienten ein relatives

Risiko von 1,63 für ein kardiovaskuläres Ereignis. Weiterhin sind Übersichtsarbeiten zu erwähnen, die Studien mit unterschiedlichen ASS-Resistenz-Tests analysiert haben und dabei für die ASS-Resistenz eine Odds-Ratio von 3,8 bezüglich aller kardiovaskulären Ereignisse ermittelten (Snoep et al. 2007).

Zusammenfassend kann geschlussfolgert werden, dass im Rahmen dieser Promotionsarbeit ebenso wie in zahlreichen weiteren Studien mit unterschiedlichen Labortests bei verschiedenen Krankheitsbildern hohe ASS-Resistenz-Raten gefunden wurden. Aus diesem Grund wäre es ratsam weitergehende Analysen durchzuführen, die die klinische Relevanz der ermittelten PADA-RASS-Daten bestätigen, um Patienten mit einer ASS-Resistenz in Zukunft optimiert und individuell behandeln zu können.

6 Schlussfolgerung

Im Rahmen dieser Dissertation wurde der PADA als neuer Thrombozytenfunktionstest an dialysepflichtigen Patienten und gesunden Probanden geprüft. Die Dialysepatienten zeigten dabei eine gesteigerte Thrombozytenaktivität, die darüber hinaus im Zusammenhang mit Erkrankungen auftrat, die ebenfalls in zahlreichen vorherigen Studien ermittelt werden konnten. Um genauere Angaben zu den einzelnen Erkrankungen treffen zu können, sollte der PADA an Patienten mit nur einer der oben erwähnten Erkrankungen durchgeführt werden, um somit eventuelle Überlagerungen im Rahmen der Thrombozytendiagnostik zu vermeiden. Bei den gesunden Probanden konnten keine signifikanten Ergebnisse in Bezug auf vorhandene Krankheiten gezeigt werden. Allerdings waren die Probandenzahl in Bezug auf die jeweiligen Erkrankung recht gering, so dass in weitergehenden Arbeiten größere Populationen untersucht werden sollten. Grundsätzlich konnte jedoch gezeigt werden, dass der PADA eine gute Möglichkeit zur Erfassung der aktuellen Thrombozytenaktivität darstellt.

Die Auswertung des PADA-HIT zeigte, dass Ergebnisse anderer Studien größtenteils bestätigt werden konnten. Es ließ sich in beiden Studienkollektiven der signifikante Zusammenhang zwischen HIT II-positivem Befund und einer vorherigen Heparinabgabe sowie dem weiblichen Geschlecht nachweisen. Die Problematik besteht in der hohen Prävalenzrate der HIT II-positiven Befunde, sowohl bei den gesunden Probanden als auch bei den dialysepflichtigen Patienten. Obwohl Studien publiziert wurden, die vergleichbar hohe Werte zeigen, bestehen doch in vielen Arbeiten Bedenken hinsichtlich der klinischen Relevanz. Diese beziehen sich vordergründig auf das Vorhandensein von Kreuzantikörpern bzw. das Erfassen von IgM- und IgA-Antikörpern und den damit verbundenen falsch positiven Ergebnissen. Im Rahmen des PADA-HIT-Prinzips werden nur Plättchen-aktive IgG-Antikörper erfasst, was einen Teil der strittigen Punkte sowie die klinische Relevanz von HIT II-Tests positiv beeinflussen könnte. Die Verwendung von ASS zur primären und sekundären Thromboseprophylaxe stellt eine komplexe Therapieform dar, die von vielen unterschiedlichen Faktoren beeinflusst wird. Daher ist es kaum überraschend, dass die Reaktion auf ASS in der Bevölkerung so verschieden ausfällt und es dabei einen nicht unerheblichen Anteil ASS-resistenter Personen gibt. In zahlreichen Studien wurde mit Hilfe unterschiedlicher Tests die Prävalenz der ASS-Resistenz ermittelt und gezeigt, dass diese unter anderem mit einem schlechteren klinischen Outcome korreliert. Obwohl die ASS-Resistenz-Forschung seit langer Zeit existiert, ist die

Schlussfolgerung

Prävalenz bis zum jetzigen Zeitpunkt zwischen 9 - 65 % stark variabel (Zytkiewicz et al. 2008). Dies zeigt, dass nach wie vor Bedarf an innovativen Methoden der ASS-Resistenz-Messung besteht. Dabei sollte der Test ein möglichst hohes Maß an Sensitivität und Spezifität zeigen, einfach und schnell in der Ausführung sein, kostengünstig und standardisiert. Im Rahmen dieser Dissertation wurde untersucht, ob der PADA-RASS eine entsprechende Variante bietet. Es zeigte sich, dass bei den dialysepflichtigen Patienten signifikant häufiger ASS-Resistenz auftritt als bei den gesunden Probanden und dass bestätigend zu vorherigen Studien diese Resistenz mit kardiovaskulären, nephrologischen und metabolischen Erkrankungen korreliert. Schlussfolgernd wäre es sinnvoll, mit diesem Test weitere Untersuchungen durchzuführen, um die bislang erhaltenen Ergebnisse zu verifizieren und deren klinische Relevanz zu überprüfen. Nachfolgend könnten all diese Ergebnisse die Grundlage für eine vollkommen neue Art der Antithrombotherapie darstellen, die individuell auf den einzelnen Erkrankten abgestimmt ist und ihn somit vor einer uneffektiven Behandlung oder darüber hinaus vor einem erneuten kardiovaskulären Ereignis bewahren könnte.

7 Literaturverzeichnis

- Antithrombotic Trialists' Collaboration. 2002. Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*, 324(7329):71-86.
- Abboud HE. 1993. Growth factors in glomerulonephritis. *Kidney Int*, 43(1):252-267.
- Alberio L, Kimmerle S, Baumann A, Taleghani BM, Biasiutti FD, Lammle B. 2003. Rapid determination of anti-heparin/platelet factor 4 antibody titers in the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Med*, 114(7):528-536.
- Alexander JH, Harrington RA, Tuttle RH, Berdan LG, Lincoff AM, Deckers JW, Simoons ML, Guerci A, Hochman JS, Wilcox RG, Kitt MM, Eisenberg PR, Califf RM, Topol EJ, Karsh K, Ruzyllo W, Stepinska J, Widimsky P, Boland JB, Armstrong PW. 1999. Prior aspirin use predicts worse outcomes in patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes. PURSUIT Investigators. Platelet IIb/IIIa in Unstable angina: Receptor Suppression Using Integrilin Therapy. *Am J Cardiol*, 83(8):1147-1151.
- Alving BM. 2003. How I treat heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis. *Blood*, 101(1):31-37.
- Alwall N. 1949. [On the artificial kidney; some clinical experiences and problems in the treatment of uremia.]. *Nord Med*, 41(9):411-416.
- Ambuhl PM, Wuthrich RP, Korte W, Schmid L, Krapf R. 1997. Plasma hypercoagulability in haemodialysis patients: impact of dialysis and anticoagulation. *Nephrol Dial Transplant*, 12(11):2355-2364.
- Amiral J, Wolf M, Fischer A, Boyer-Neumann C, Vissac A, Meyer D. 1996. Pathogenicity of IgA and/or IgM antibodies to heparin-PF4 complexes in patients with heparin-induced thrombocytopenia. *Br J Haematol*, 92(4):954-959.
- Andersen K, Hurlen M, Arnesen H, Seljeflot I. 2002. Aspirin non-responsiveness as measured by PFA-100 in patients with coronary artery disease. *Thromb Res*, 108(1):37-42.
- Andrioli G, Ortolani R, Fontana L, Gaino S, Bellavite P, Lechi C, Minuz P, Manzato F, Tridente G, Lechi A. 1996. Study of platelet adhesion in patients with uncomplicated hypertension. *J Hypertens*, 14(10):1215-1221.
- Angiolillo DJ, Suryadevara S. 2009. Aspirin and clopidogrel: efficacy and resistance in diabetes mellitus. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 23(3):375-388.

- Arepally GM, Hursting MJ. 2008. Platelet factor 4/heparin antibody (IgG/M/A) in healthy subjects: a literature analysis of commercial immunoassay results. *J Thromb Thrombolysis*, 26(1):55-61.
- Baglia FA, Shrimpton CN, Emsley J, Kitagawa K, Ruggeri ZM, Lopez JA, Walsh PN. 2004. Factor XI interacts with the leucine-rich repeats of glycoprotein Iba1 on the activated platelet. *J Biol Chem*, 279(47):49323-49329.
- Baldwin ZK, Spitzer AL, Ng VL, Harken AH. 2008. Contemporary standards for the diagnosis and treatment of heparin-induced thrombocytopenia (HIT). *Surgery*, 143(3):305-312.
- Barnes JL, Levine SP, Venkatachalam MA. 1984. Binding of platelet factor four (PF 4) to glomerular polyanion. *Kidney Int*, 25(5):759-765.
- Barry OP, Pratico D, Savani RC, FitzGerald GA. 1998. Modulation of monocyte-endothelial cell interactions by platelet microparticles. *J Clin Invest*, 102(1):136-144.
- Beumer S, Heijnen HF, MJ IJ, Orlando E, de Groot PG, Sixma JJ. 1995. Platelet adhesion to fibronectin in flow: the importance of von Willebrand factor and glycoprotein Ib. *Blood*, 86(9):3452-3460.
- Bhatt DL, Topol EJ. 2003. Scientific and therapeutic advances in antiplatelet therapy. *Nat Rev Drug Discov*, 2(1):15-28.
- Blais N, Pharand C, Lordkipanidze M, Sia YK, Merhi Y, Diodati JG. 2009. Response to aspirin in healthy individuals. Cross-comparison of light transmission aggregometry, VerifyNow system, platelet count drop, thromboelastography (TEG) and urinary 11-dehydrothromboxane B(2). *Thromb Haemost*, 102(2):404-411.
- Boccardo P, Remuzzi G, Galbusera M. 2004. Platelet dysfunction in renal failure. *Semin Thromb Hemost*, 30(5):579-589.
- Bretschneider E, Glusa E, Schror K. 1994. ADP-, PAF- and adrenaline-induced platelet aggregation and thromboxane formation are not affected by a thromboxane receptor antagonist at physiological external Ca⁺⁺ concentrations. *Thromb Res*, 75(3):233-242.
- Bucha E, Nowak G, Czerwinski R, Thieler H. 1999. R-hirudin as anticoagulant in regular hemodialysis therapy: finding of therapeutic R-hirudin blood/plasma concentrations and respective dosages. *Clin Appl Thromb Hemost*, 5(3):164-170.

- Buchanan MR, Brister SJ. 1995. Individual variation in the effects of ASA on platelet function: implications for the use of ASA clinically. *Can J Cardiol*, 11(3):221-227.
- Camilletti A, Moretti N, Giacchetti G, Faloia E, Martarelli D, Mantero F, Mazzanti L. 2001. Decreased nitric oxide levels and increased calcium content in platelets of hypertensive patients. *Am J Hypertens*, 14(4 Pt 1):382-386.
- Camussi G. 1986. Potential role of platelet-activating factor in renal pathophysiology. *Kidney Int*, 29(2):469-477.
- Catella F, Healy D, Lawson JA, FitzGerald GA. 1986. 11-Dehydrothromboxane B2: a quantitative index of thromboxane A2 formation in the human circulation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 83(16):5861-5865.
- Celi A, Lorenzet R, Furie B, Furie BC. 1997. Platelet-leukocyte-endothelial cell interaction on the blood vessel wall. *Semin Hematol*, 34(4):327-335.
- Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, Dwyer JT, Heyka RJ, Rocco MV, Teehan BP, Levey AS. 2000. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int*, 58(1):353-362.
- Cimino JE. 2007. Historical perspective on more than 60 years of hemodialysis access. *Semin Vasc Surg*, 20(3):136-140.
- Clemetson KJ, Clemetson JM. 1995. Platelet GPIb-V-IX complex. Structure, function, physiology, and pathology. *Semin Thromb Hemost*, 21(2):130-136.
- Coller BS, Anderson K, Weisman HF. 1995. New antiplatelet agents: platelet GPIIb/IIIa antagonists. *Thromb Haemost*, 74(1):302-308.
- Cooke GE, Bray PF, Hamlington JD, Pham DM, Goldschmidt-Clermont PJ. 1998. PIA2 polymorphism and efficacy of aspirin. *Lancet*, 351(9111):1253.
- Crescente M, Di Castelnuovo A, Iacoviello L, Vermylen J, Cerletti C, de Gaetano G. 2008. Response variability to aspirin as assessed by the platelet function analyzer (PFA)-100. A systematic review. *Thromb Haemost*, 99(1):14-26.
- Cullen L, Kelly L, Connor SO, Fitzgerald DJ. 1998. Selective cyclooxygenase-2 inhibition by nimesulide in man. *J Pharmacol Exp Ther*, 287(2):578-582.
- Curtis JP, Krumholz HM. 2004. The case for an adverse interaction between aspirin and non-steroidal anti-inflammatory drugs: is it time to believe the hype? *J Am Coll Cardiol*, 43(6):991-993.

- Cutler DF. 2009. Fishing for platelets. *Blood*, 113(7):1397-1398.
- Dale GL, Friese P, Batar P, Hamilton SF, Reed GL, Jackson KW, Clemetson KJ, Alberio L. 2002. Stimulated platelets use serotonin to enhance their retention of procoagulant proteins on the cell surface. *Nature*, 415(6868):175-179.
- de Larranaga G, Martinuzzo M, Bocassi A, Fressart MM, Forastiero R. 2002. Heparin-platelet factor 4 induced antibodies in patients with either autoimmune or alloimmune antiphospholipid antibodies. *Thromb Haemost*, 88(2):371-373.
- Depner TA. 2008. "Artificial" hemodialysis versus "natural" hemofiltration. *Am J Kidney Dis*, 52(3):403-406.
- Deppisch R. 1997. Anforderungen an Membranen für kontinuierliche Behandlungsverfahren. *Nephrologisches Seminar Heidelberg*.
- Dimsdale JE, Moss J. 1980. Short-term catecholamine response to psychological stress. *Psychosom Med*, 42(5):493-497.
- Dong JF, Moake JL, Nolasco L, Bernardo A, Arceneaux W, Shrimpton CN, Schade AJ, McIntire LV, Fujikawa K, Lopez JA. 2002. ADAMTS-13 rapidly cleaves newly secreted ultralarge von Willebrand factor multimers on the endothelial surface under flowing conditions. *Blood*, 100(12):4033-4039.
- Dorsam RT, Kunapuli SP. 2004. Central role of the P2Y12 receptor in platelet activation. *J Clin Invest*, 113(3):340-345.
- Drummond AH, MacIntyre DE. 1987. Platelet inositol lipid metabolism and calcium flux. *Amsterdam: Elsevier/North Holland*, 373-431.
- Eichler P, Raschke R, Lubenow N, Meyer O, Schwind P, Greinacher A. 2002. The new ID-heparin/PF4 antibody test for rapid detection of heparin-induced antibodies in comparison with functional and antigenic assays. *Br J Haematol*, 116(4):887-891.
- Eichler P, Budde U, Haas S, Kroll H, Loreth RM, Meyer O, Pachmann U, Potzsch B, Schabel A, Albrecht D, Greinacher A. 1999. First workshop for detection of heparin-induced antibodies: validation of the heparin-induced platelet-activation test (HIPA) in comparison with a PF4/heparin ELISA. *Thromb Haemost*, 81(4):625-629.
- Eikelboom JW, Hirsh J, Weitz JI, Johnston M, Yi Q, Yusuf S. 2002. Aspirin-resistant thromboxane biosynthesis and the risk of myocardial infarction, stroke, or

- cardiovascular death in patients at high risk for cardiovascular events. *Circulation*, 105(14):1650-1655.
- Eikelboom JW, Hankey GJ, Thom J, Bhatt DL, Steg PG, Montalescot G, Johnston SC, Steinhubl SR, Mak KH, Easton JD, Hamm C, Hu T, Fox KA, Topol EJ. 2008. Incomplete inhibition of thromboxane biosynthesis by acetylsalicylic acid: determinants and effect on cardiovascular risk. *Circulation*, 118(17):1705-1712.
- El Haouari M, Rosado JA. 2009. Platelet function in hypertension. *Blood Cells Mol Dis*, 42(1):38-43.
- Fabre JE, Nguyen M, Latour A, Keifer JA, Audoly LP, Coffman TM, Koller BH. 1999. Decreased platelet aggregation, increased bleeding time and resistance to thromboembolism in P2Y1-deficient mice. *Nat Med*, 5(10):1199-1202.
- Falanga A, Panova-Noeva M, Russo L. 2009. Procoagulant mechanisms in tumour cells. *Best Pract Res Clin Haematol*, 22(1):49-60.
- Feuring M, Schultz A, Losel R, Wehling M. 2005. Monitoring acetylsalicylic acid effects with the platelet function analyzer PFA-100. *Semin Thromb Hemost*, 31(4):411-415.
- Fitzgerald DJ, Maree A. 2007. Aspirin and clopidogrel resistance. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*:114-120.
- Fratantoni JC, Pollet R, Gralnick HR. 1975. Heparin-induced thrombocytopenia: confirmation of diagnosis with in vitro methods. *Blood*, 45(3):395-401.
- Furie B, Furie BC, Flaumenhaft R. 2001. A journey with platelet P-selectin: the molecular basis of granule secretion, signalling and cell adhesion. *Thromb Haemost*, 86(1):214-221.
- Gabriel SA, Beteli CB, Tanighuchi RS, Tristao CK, Gabriel EA, Job JR. 2007. Aspirin resistance and atherothrombosis. *Rev Bras Cir Cardiovasc*, 22(1):96-103.
- Gachet C. 2001. ADP receptors of platelets and their inhibition. *Thromb Haemost*, 86(1):222-232.
- Gawaz M, Ott I, Reininger AJ, Neumann FJ. 1994. Effects of magnesium on platelet aggregation and adhesion. Magnesium modulates surface expression of glycoproteins on platelets in vitro and ex vivo. *Thromb Haemost*, 72(6):912-918.
- Glorieux G, Cohen G, Jankowski J, Vanholder R. 2009. Platelet/Leukocyte activation, inflammation, and uremia. *Semin Dial*, 22(4):423-427.

- Goodman T, Sharma P, Ferro A. 2007. The genetics of aspirin resistance. *Int J Clin Pract*, 61(5):826-834.
- Greinacher A. 2006. Heparin-induced thrombocytopenia: frequency and pathogenesis. *Pathophysiol Haemost Thromb*, 35(1-2):37-45.
- Greinacher A, Alban S, Dummel V, Franz G, Mueller-Eckhardt C. 1995. Characterization of the structural requirements for a carbohydrate based anticoagulant with a reduced risk of inducing the immunological type of heparin-associated thrombocytopenia. *Thromb Haemost*, 74(3):886-892.
- Greinacher A, Juhl D, Strobel U, Wessel A, Lubenow N, Selleng K, Eichler P, Warkentin TE. 2007. Heparin-induced thrombocytopenia: a prospective study on the incidence, platelet-activating capacity and clinical significance of antiplatelet factor 4/heparin antibodies of the IgG, IgM, and IgA classes. *J Thromb Haemost*, 5(8):1666-1673.
- Grotemeyer KH. 1991. Effects of acetylsalicylic acid in stroke patients. Evidence of nonresponders in a subpopulation of treated patients. *Thromb Res*, 63(6):587-593.
- Grotemeyer KH, Scharafinski HW, Husstedt IW. 1993. Two-year follow-up of aspirin responder and aspirin non responder. A pilot-study including 180 post-stroke patients. *Thromb Res*, 71(5):397-403.
- Gum PA, Kottke-Marchant K, Welsh PA, White J, Topol EJ. 2003. A prospective, blinded determination of the natural history of aspirin resistance among stable patients with cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol*, 41(6):961-965.
- Gupta GP, Massague J. 2004. Platelets and metastasis revisited: a novel fatty link. *J Clin Invest*, 114(12):1691-1693.
- Gupta S, Gupta MM. 2008. Aspirin and clopidogrel resistance-a myth or reality: an update. *Indian Heart J*, 60(3):245-253.
- Haas G. 1926. Über Versuche zur Blutwaschung am Lebenden mit Hilfe der Dialyse. *Naunyn-Schmiedebergs Arch Exp Pathol Pharmacol*, 116: 158-172.
- Halushka MK, Walker LP, Halushka PV. 2003. Genetic variation in cyclooxygenase 1: effects on response to aspirin. *Clin Pharmacol Ther*, 73(1):122-130.
- Halushka PV, Rogers RC, Loadholt CB, Colwell JA. 1981. Increased platelet thromboxane synthesis in diabetes mellitus. *J Lab Clin Med*, 97(1):87-96.
- Hankey GJ, Eikelboom JW. 2006. Aspirin resistance. *Lancet*, 367(9510):606-617.

- Harrison P. 2000. Progress in the assessment of platelet function. *Br J Haematol*, 111(3):733-744.
- Henderson LW. 1979. Pre vs. post dilution hemofiltration. *Clin Nephrol*, 11(2):120-124.
- Henderson LW. 2007. The birth of hemodiafiltration. *Contrib Nephrol*, 158:1-8.
- Henderson LW, Leypoldt JK. 1986. Quantitation and prescription of therapy. In: Henderson LW, Quellhorst EA, Baldamus CA, Lysaght MJ, Hrsg. *Hemofiltration*. Erste Aufl. Berlin: Springer-Verlag, 129-145.
- Hernandez Hernandez R, Carvajal AR, Guerrero Pajuelo J, Armas de Hernandez MJ, Armas Padilla MC, Barragan O, Boada Boada JJ, Roa E. 1991. The effect of doxazosin on platelet aggregation in normotensive subjects and patients with hypertension: an in vitro study. *Am Heart J*, 121(1 Pt 2):389-394.
- Himmelfarb J. 2009. Uremic toxicity, oxidative stress, and hemodialysis as renal replacement therapy. *Semin Dial*, 22(6):636-643.
- Horsewood P, Warkentin TE, Hayward CP, Kelton JG. 1996. The epitope specificity of heparin-induced thrombocytopenia. *Br J Haematol*, 95(1):161-167.
- Hurlen M, Seljeflot I, Arnesen H. 2000. Increased platelet aggregability during exercise in patients with previous myocardial infarction. Lack of inhibition by aspirin. *Thromb Res*, 99(5):487-494.
- Jang IK, Hursting MJ. 2005. When heparins promote thrombosis: review of heparin-induced thrombocytopenia. *Circulation*, 111(20):2671-2683.
- Jefferson BK, Foster JH, McCarthy JJ, Ginsburg G, Parker A, Kottke-Marchant K, Topol EJ. 2005. Aspirin resistance and a single gene. *Am J Cardiol*, 95(6):805-808.
- Jennings LK. 2009. Role of platelets in atherothrombosis. *Am J Cardiol*, 103(3 Suppl):4A-10A.
- Joist JH, George JN. 2004. Hemostatic abnormalities in liver and renal disease. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ et al. (eds), Hrsg. *Hemostasis and Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practise*. Philadelphia: Lippincott, Williams&Wilkins, 955-973.
- Joist JH, Remuzzi G, Mannucci PM. 1994. Abnormal bleeding and thrombosis in renal disease. In: Colman RW, Hirsh J, Marder VJ, Salzman EW, Hrsg. *Hemostasis and*

- Thrombosis. Basic Principles and Clinical Practise. Philadelphia: JB Lippincott, 921-935.
- Jurk K, Kehrel BE. 2005. Platelets: physiology and biochemistry. *Semin Thromb Hemost*, 31(4):381-392.
- Jurk K, Kehrel BE. 2008. [The role of platelets in haemostasis, thrombosis, immune defense and inflammation]. *Dtsch Med Wochenschr*, 133(21):1130-1135.
- Jurk K, Clemetson KJ, de Groot PG, Brodde MF, Steiner M, Savion N, Varon D, Sixma JJ, Van Aken H, Kehrel BE. 2003. Thrombospondin-1 mediates platelet adhesion at high shear via glycoprotein Ib (GPIb): an alternative/backup mechanism to von Willebrand factor. *Faseb J*, 17(11):1490-1492.
- Kaden T. 2010. Häufigkeit und Profil der ASS-Resistenz bei Patienten mit akuten kardiologischen Erkrankungen im Vergleich zu gesunden Probanden [Dissertation]. Jena: Friedrich-Schiller-Universität.
- Kehrel B. 1995. Platelet-collagen interactions. *Semin Thromb Hemost*, 21(2):123-129.
- Kehrel BE. 2008. [Platelets: biochemistry and physiology]. *Hämostaseologie*, 28(5):289-298.
- Kelton JG. 2005. The pathophysiology of heparin-induced thrombocytopenia: biological basis for treatment. *Chest*, 127(2 Suppl):9S-20S.
- Kelton JG, Warkentin TE. 2008. Heparin-induced thrombocytopenia: a historical perspective. *Blood*, 112(7):2607-2616.
- Kelton JG, Sheridan D, Santos A, Smith J, Steeves K, Smith C, Brown C, Murphy WG. 1988. Heparin-induced thrombocytopenia: laboratory studies. *Blood*, 72(3):925-930.
- Kjeldsen SE, Gjesdal K, Eide I, Aakesson I, Amundsen R, Foss OP, Leren P. 1983. Increased beta-thromboglobulin in essential hypertension: interactions between arterial plasma adrenaline, platelet function and blood lipids. *Acta Med Scand*, 213(5):369-373.
- Kolff WJ, Watschinger B. 1956. Further development of a coil kidney; disposable artificial kidney. *J Lab Clin Med*, 47(6):969-977.
- Kurk K, Kehrel B. 2008. Thrombozytensekretion. In: Madlener K, Pötzsch B, Gawaz M et al., Hrsg. *Hämostaseologie*. Erste Aufl. Heidelberg: Springer-Verlag.
- Kurth T, Glynn RJ, Walker AM, Chan KA, Buring JE, Hennekens CH, Gaziano JM. 2003. Inhibition of clinical benefits of aspirin on first myocardial infarction by nonsteroidal antiinflammatory drugs. *Circulation*, 108(10):1191-1195.

- Lagarde M, Menashi S, Crawford N. 1981. Localisation of phospholipase A2 and diglyceride lipase activities in human platelet intracellular membranes. *FEBS Lett*, 124(1):23-26.
- Lalau Keraly C, Kinlough-Rathbone RL, Packham MA, Suzuki H, Mustard JF. 1988. Conditions affecting the responses of human platelets to epinephrine. *Thromb Haemost*, 60(2):209-216.
- Lee DH, Warkentin TE, Denomme GA, Hayward CP, Kelton JG. 1996. A diagnostic test for heparin-induced thrombocytopenia: detection of platelet microparticles using flow cytometry. *Br J Haematol*, 95(4):724-731.
- Leoncini G, Maresca M, Colao C. 1991. Oxidative metabolism of human platelets. *Biochem Int*, 25(4):647-655.
- Lordkipanidze M, Pharand C, Schampaert E, Turgeon J, Palisaitis DA, Diodati JG. 2007. A comparison of six major platelet function tests to determine the prevalence of aspirin resistance in patients with stable coronary artery disease. *Eur Heart J*, 28(14):1702-1708.
- MacDonald TM, Wei L. 2003. Effect of ibuprofen on cardioprotective effect of aspirin. *Lancet*, 361(9357):573-574.
- MacKenzie AB, Mahaut-Smith MP, Sage SO. 1996. Activation of receptor-operated cation channels via P2X1 not P2T purinoceptors in human platelets. *J Biol Chem*, 271(6):2879-2881.
- Maclouf J, Folco G, Patrono C. 1998. Eicosanoids and iso-eicosanoids: constitutive, inducible and transcellular biosynthesis in vascular disease. *Thromb Haemost*, 79(4):691-705.
- Maduell F, Navarro V, Cruz MC, Torregrosa E, Garcia D, Simon V, Ferrero JA. 2002. Osteocalcin and myoglobin removal in on-line hemodiafiltration versus low- and high-flux hemodialysis. *Am J Kidney Dis*, 40(3):582-589.
- Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JH, Islam N, Alyonycheva TN, Safier LB, Hajjar KA, Posnett DN, Schoenborn MA, Schooley KA, Gayle RB, Maliszewski CR. 1997. The endothelial cell ecto-ADPase responsible for inhibition of platelet function is CD39. *J Clin Invest*, 99(6):1351-1360.
- Maree AO, Curtin RJ, Chubb A, Dolan C, Cox D, O'Brien J, Crean P, Shields DC, Fitzgerald DJ. 2005. Cyclooxygenase-1 haplotype modulates platelet response to aspirin. *J Thromb Haemost*, 3(10):2340-2345.

- Martel N, Lee J, Wells PS. 2005. Risk for heparin-induced thrombocytopenia with unfractionated and low-molecular-weight heparin thromboprophylaxis: a meta-analysis. *Blood*, 106(8):2710-2715.
- Martina V, Bruno GA, Trucco F, Zumpano E, Tagliabue M, Di Bisceglie C, Pescarmona G. 1998. Platelet cNOS activity is reduced in patients with IDDM and NIDDM. *Thromb Haemost*, 79(3):520-522.
- Mason PJ, Jacobs AK, Freedman JE. 2005. Aspirin resistance and atherothrombotic disease. *J Am Coll Cardiol*, 46(6):986-993.
- Matthies B, Burger T, Koch B, Bock M. 1999. [Heparin-induced thrombocytopenia type II: reexposure to heparin]. *Dtsch Med Wochenschr*, 124(43):1267-1270.
- McNicol A, Gerrard JM. 1997. Platelet morphology, aggregation and secretion. Greenwich: JAI Press Inc, 1-29.
- McNicol A, Israels SJ. 1999. Platelet dense granules: structure, function and implications for haemostasis. *Thromb Res*, 95(1):1-18.
- McNicol A, Israels SJ. 2003. Platelets and anti-platelet therapy. *J Pharmacol Sci*, 93(4):381-396.
- Meert N, Eloot S, Waterloos MA, Van Landschoot M, Dhondt A, Glorieux G, Ledebro I, Vanholder R. 2009. Effective removal of protein-bound uraemic solutes by different convective strategies: a prospective trial. *Nephrol Dial Transplant*, 24(2):562-570.
- Michelson AD. 2004. Platelet function testing in cardiovascular diseases. *Circulation*, 110(19):e489-493.
- Mueller MR, Salat A, Stangl P, Murabito M, Pulaki S, Boehm D, Koppensteiner R, Ergun E, Mittlboeck M, Schreiner W, Losert U, Wolner E. 1997. Variable platelet response to low-dose ASA and the risk of limb deterioration in patients submitted to peripheral arterial angioplasty. *Thromb Haemost*, 78(3):1003-1007.
- Newman PM, Swanson RL, Chong BH. 1998. Heparin-induced thrombocytopenia: IgG binding to PF4-heparin complexes in the fluid phase and cross-reactivity with low molecular weight heparin and heparinoid. *Thromb Haemost*, 80(2):292-297.
- Nicholson NS, Panzer-Knodle SG, Haas NF, Taite BB, Szalony JA, Page JD, Feigen LP, Lansky DM, Salyers AK. 1998. Assessment of platelet function assays. *Am Heart J*, 135(5 Pt 2 Su):S170-178.

- Nieuwland R, Berckmans RJ, Rotteveel-Eijkman RC, Maquelin KN, Roozendaal KJ, Jansen PG, ten Have K, Eijnsman L, Hack CE, Sturk A. 1997. Cell-derived microparticles generated in patients during cardiopulmonary bypass are highly procoagulant. *Circulation*, 96(10):3534-3541.
- Nomura S, Kanazawa S, Fukuhara S. 2002. Effects of efonidipine on platelet and monocyte activation markers in hypertensive patients with and without type 2 diabetes mellitus. *J Hum Hypertens*, 16(8):539-547.
- Nowak G. 1996. [Activation of blood coagulation in extracorporeal circulation]. *Wien Klin Wochenschr*, 108 Suppl 1:9-14.
- Nowak G. 2009. Heparin-induced thrombocytopenia (HIT II) - a drug-associated autoimmune disease. *Thromb Haemost*, 102(5):887-891.
- Nowak G, Wiesenburg A, Schumann A, Bucha E. 2005. Platelet adhesion assay-a new quantitative whole blood test to measure platelet function. *Semin Thromb Hemost*, 31(4):470-475.
- Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, Himmelfarb J. 2004. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int*, 65(3):1009-1016.
- Oreopoulos DG, Ossareh S, Thodis E. 2008. Peritoneal dialysis: past, present, and future. *Iran J Kidney Dis*, 2(4):171-182.
- Pappas JM, Westengard JC, Bull BS. 1994. Population variability in the effect of aspirin on platelet function. Implications for clinical trials and therapy. *Arch Pathol Lab Med*, 118(8):801-804.
- Patrono C. 1994. Aspirin as an antiplatelet drug. *N Engl J Med*, 330(18):1287-1294.
- Patrono C. 2003. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. *J Thromb Haemost*, 1(8):1710-1713.
- Patrono C, Coller B, FitzGerald GA, Hirsh J, Roth G. 2004a. Platelet-active drugs: the relationships among dose, effectiveness, and side effects: the Seventh ACCP Conference on Antithrombotic and Thrombolytic Therapy. *Chest*, 126(3 Suppl):234S-264S.

- Patrono C, Collier B, Dalen JE, FitzGerald GA, Fuster V, Gent M, Hirsh J, Roth G. 2001. Platelet-active drugs : the relationships among dose, effectiveness, and side effects. *Chest*, 119(1 Suppl):39S-63S.
- Patrono C, Bachmann F, Baigent C, Bode C, De Caterina R, Charbonnier B, Fitzgerald D, Hirsh J, Husted S, Kvasnicka J, Montalescot G, Garcia Rodriguez LA, Verheugt F, Vermeylen J, Wallentin L, Priori SG, Alonso Garcia MA, Blanc JJ, Budaj A, Cowie M, Dean V, Deckers J, Fernandez Burgos E, Lekakis J, Lindahl B, Mazzotta G, Morais J, Oto A, Smiseth OA, Morais J, Deckers J, Ferreira R, Mazzotta G, Steg PG, Teixeira F, Wilcox R. 2004b. Expert consensus document on the use of antiplatelet agents. The task force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the European society of cardiology. *Eur Heart J*, 25(2):166-181.
- Pechan J, Okrucka A. 1991. Diltiazem inhibits the spontaneous platelet aggregation in essential hypertension. *Cardiology*, 79(2):116-119.
- Perneby C, Wallen NH, Rooney C, Fitzgerald D, Hjemdahl P. 2006. Dose- and time-dependent antiplatelet effects of aspirin. *Thromb Haemost*, 95(4):652-658.
- Pollack A. 2004. For some, aspirin may not help hearts. *New York Times*, July 20.
- Poschel KA, Bucha E, Esslinger HU, Nortersheuser P, Jansa U, Schindler S, Nowak G, Stein G. 2000. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of polyethylene glycol-hirudin in patients with chronic renal failure. *Kidney Int*, 58(6):2478-2484.
- Pouplard C, Iochmann S, Renard B, Herault O, Colombat P, Amiral J, Gruel Y. 2001. Induction of monocyte tissue factor expression by antibodies to heparin-platelet factor 4 complexes developed in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*, 97 (10):3300-3302.
- Pulcinelli FM, Pignatelli P, Celestini A, Riondino S, Gazzaniga PP, Violi F. 2004. Inhibition of platelet aggregation by aspirin progressively decreases in long-term treated patients. *J Am Coll Cardiol*, 43(6):979-984.
- Quinn MJ, Aronow HD, Califf RM, Bhatt DL, Sapp S, Kleiman NS, Harrington RA, Kong DF, Kandzari DE, Topol EJ. 2004. Aspirin dose and six-month outcome after an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol*, 43(6):972-978.

- Rak J, Milsom C, May L, Klement P, Yu J. 2006. Tissue factor in cancer and angiogenesis: the molecular link between genetic tumor progression, tumor neovascularization, and cancer coagulopathy. *Semin Thromb Hemost*, 32(1):54-70.
- Rand ML, Leung R, Packham MA. 2003. Platelet function assays. *Transfus Apher Sci*, 28(3):307-317.
- Rickles FR, Falanga A. 2001. Molecular basis for the relationship between thrombosis and cancer. *Thromb Res*, 102(6):V215-224.
- Rinsema TJ. 1999. One hundred years of aspirin. *Med Hist*, 43(4):502-507.
- Roberts HR, Hoffman M, Monroe DM. 2006. A cell-based model of thrombin generation. *Semin Thromb Hemost*, 32 Suppl 1:32-38.
- Rocca B, Secchiero P, Ciabattoni G, Ranelletti FO, Catani L, Guidotti L, Melloni E, Maggiano N, Zauli G, Patrono C. 2002. Cyclooxygenase-2 expression is induced during human megakaryopoiesis and characterizes newly formed platelets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 99(11):7634-7639.
- Rosado JA, Sage SO. 2001. Activation of store-mediated calcium entry by secretion-like coupling between the inositol 1,4,5-trisphosphate receptor type II and human transient receptor potential (hTrp1) channels in human platelets. *Biochem J*, 356 (Pt 1):191-198.
- Roth GJ, Calverley DC. 1994. Aspirin, platelets, and thrombosis: theory and practice. *Blood*, 83(4):885-898.
- Ruggeri ZM. 2002. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med*, 8(11):1227-1234.
- Ruggeri ZM, Mendolicchio GL. 2007. Adhesion mechanisms in platelet function. *Circ Res*, 100(12):1673-1685.
- Sagripanti A, Cupisti A, Baicchi U, Ferdeghini M, Morelli E, Barsotti G. 1993. Plasma parameters of the prothrombotic state in chronic uremia. *Nephron*, 63(3):273-278.
- Santopinto J, Gurfinkel EP, Torres V, Marcos E, Bozovich GE, Mautner B, McCabe CH, Antman EM. 2001. Prior aspirin users with acute non-ST-elevation coronary syndromes are at increased risk of cardiac events and benefit from enoxaparin. *Am Heart J*, 141(4):566-572.
- Santos MT, Valles J, Marcus AJ, Safier LB, Broekman MJ, Islam N, Ullman HL, Eiroa AM, Aznar J. 1991. Enhancement of platelet reactivity and modulation of eicosanoid

- production by intact erythrocytes. A new approach to platelet activation and recruitment. *J Clin Invest*, 87(2):571-580.
- Sarji KE, Kleinfelder J, Brewington P, Gonzalez J, Hempling H, Colwell JA. 1979. Decreased platelet vitamin C in diabetes mellitus: possible role in hyperaggregation. *Thromb Res*, 15(5-6):639-650.
- Scharf RE. 2008. [Acquired platelet function disorders: pathogenesis, classification, frequency, diagnosis, clinical management]. *Hamostaseologie*, 28(5):299-311.
- Schonbeck U, Sukhova GK, Graber P, Coulter S, Libby P. 1999. Augmented expression of cyclooxygenase-2 in human atherosclerotic lesions. *Am J Pathol*, 155(4):1281-1291.
- Schwartz KA, Schwartz DE, Ghosheh K, Reeves MJ, Barber K, DeFranco A. 2005. Compliance as a critical consideration in patients who appear to be resistant to aspirin after healing of myocardial infarction. *Am J Cardiol*, 95(8):973-975.
- Serebruany VL, Malinin AI, Jerome SD, Lowry DR, Morgan AW, Sane DC, Tanguay JF, Steinhubl SR, O'Connor C M. 2003. Effects of clopidogrel and aspirin combination versus aspirin alone on platelet aggregation and major receptor expression in patients with heart failure: the Plavix Use for Treatment Of Congestive Heart Failure (PLUTO-CHF) trial. *Am Heart J*, 146(4):713-720.
- Shen H, Herzog W, Drolet M, Pakyz R, Newcomer S, Sack P, Karon H, Ryan KA, Zhao Y, Shi X, Mitchell BD, Shuldiner AR. 2009. Aspirin Resistance in healthy drug-naive men versus women (from the Heredity and Phenotype Intervention Heart Study). *Am J Cardiol*, 104(4):606-612.
- Sheridan D, Carter C, Kelton JG. 1986. A diagnostic test for heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*, 67(1):27-30.
- Shlipak MG, Fried LF, Crump C, Bleyer AJ, Manolio TA, Tracy RP, Furberg CD, Psaty BM. 2003. Elevations of inflammatory and procoagulant biomarkers in elderly persons with renal insufficiency. *Circulation*, 107(1):87-92.
- Simmons DL, Botting RM, Hla T. 2004. Cyclooxygenase isozymes: the biology of prostaglandin synthesis and inhibition. *Pharmacol Rev*, 56(3):387-437.
- Sims PJ, Wiedmer T, Esmon CT, Weiss HJ, Shattil SJ. 1989. 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*, 264(29):17049-17057.
- Singbartl K, Forlow SB, Ley K. 2001. Platelet, but not endothelial, P-selectin is critical for neutrophil-mediated acute postischemic renal failure. *Faseb J*, 15(13):2337-2344.
- Sneider W. 2000. The discovery of aspirin: a reappraisal. *BMJ*, 321(7276):1591-1594.
- Snoep JD, Hovens MM, Eikenboom JC, van der Bom JG, Huisman MV. 2007. Association of laboratory-defined aspirin resistance with a higher risk of recurrent cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *Arch Intern Med*, 167(15):1593-1599.
- Stewart MW, Etches WS, Boshkov LK, Gordon PA. 1995. Heparin-induced thrombocytopenia: an improved method of detection based on lumi-aggregometry. *Br J Haematol*, 91(1):173-177.
- Suh JS, Malik MI, Aster RH, Visentin GP. 1997. Characterization of the humoral immune response in heparin-induced thrombocytopenia. *Am J Hematol*, 54(3):196-201.
- Tantry US, Mahla E, Gurbel PA. 2009. Aspirin resistance. *Prog Cardiovasc Dis*, 52(2):141-152.
- Teitel JM, Gross P, Blake P, Garvey MB. 1996. A bioluminescent adenosine nucleotide release assay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Thromb Haemost*, 76(3):479.
- Tetta C, Coda R, Camussi G. 1985. Human platelet cationic proteins bind to rat glomeruli, induce loss of anionic charges and increase glomerular permeability. *Agents Actions*, 16(1-2):24-26.
- Tschoepe D, Rauch U, Schwippert B. 1997. Platelet-leukocyte-cross-talk in diabetes mellitus. *Horm Metab Res*, 29(12):631-635.
- Undas A, Sanak M, Musial J, Szczeklik A. 1999. Platelet glycoprotein IIIa polymorphism, aspirin, and thrombin generation. *Lancet*, 353(9157):982-983.
- van Wyk V, Badenhorst PN, Luus HG, Kotze HF. 1995. A comparison between the use of recombinant hirudin and heparin during hemodialysis. *Kidney Int*, 48(4):1338-1343.
- Vane JR. 1971. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for aspirin-like drugs. *Nat New Biol*, 231(25):232-235.
- Vanholder R, Glorieux G, Van Biesen W. Advantages of new hemodialysis membranes and equipment. *Nephron Clin Pract*, 114(3):c165-172.

- Visentin GP, Ford SE, Scott JP, Aster RH. 1994. Antibodies from patients with heparin-induced thrombocytopenia/thrombosis are specific for platelet factor 4 complexed with heparin or bound to endothelial cells. *J Clin Invest*, 93(1):81-88.
- Walenga JM, Jeske WP, Messmore HL. 2000. Mechanisms of venous and arterial thrombosis in heparin-induced thrombocytopenia. *J Thromb Thrombolysis*, 10(Suppl 1):S13-S20.
- Wang TH, Bhatt DL, Topol EJ. 2006. Aspirin and clopidogrel resistance: an emerging clinical entity. *Eur Heart J*, 27(6):647-654.
- Warkentin TE. 1998. Clinical presentation of heparin-induced thrombocytopenia. *Semin Hematol*, 35(4 Suppl 5):9-16; discussion 35-16.
- Warkentin TE, Chong BH, Greinacher A. 1998. Heparin-induced thrombocytopenia: towards consensus. *Thromb Haemost*, 79(1):1-7.
- Warkentin TE, Sheppard JA, Moore JC, Moore KM, Sigouin CS, Kelton JG. 2005. Laboratory testing for the antibodies that cause heparin-induced thrombocytopenia: how much class do we need? *J Lab Clin Med*, 146(6):341-346.
- Warkentin TE, Sheppard JA, Sigouin CS, Kohlmann T, Eichler P, Greinacher A. 2006. Gender imbalance and risk factor interactions in heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*, 108(9):2937-2941.
- Warkentin TE, Hayward CP, Boshkov LK, Santos AV, Sheppard JA, Bode AP, Kelton JG. 1994. Sera from patients with heparin-induced thrombocytopenia generate platelet-derived microparticles with procoagulant activity: an explanation for the thrombotic complications of heparin-induced thrombocytopenia. *Blood*, 84(11):3691-3699.
- Warkentin TE, Levine MN, Hirsh J, Horsewood P, Roberts RS, Gent M, Kelton JG. 1995. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin. *N Engl J Med*, 332(20):1330-1335.
- Watala C, Boncer M, Golanski J, Koziolkiewicz W, Trojanowski Z, Walkowiak B. 1998. Platelet membrane lipid fluidity and intraplatelet calcium mobilization in type 2 diabetes mellitus. *Eur J Haematol*, 61(5):319-326.
- Watson S, Berlanga O, Best D, Frampton J. 2000. Update on collagen receptor interactions in platelets: is the two-state model still valid? *Platelets*, 11(5):252-258.
- Weber AA, Zimmermann KC, Meyer-Kirchrath J, Schror K. 1999. Cyclooxygenase-2 in human platelets as a possible factor in aspirin resistance. *Lancet*, 353(9156):900.

Literaturverzeichnis

- Zimmermann N, Wenk A, Kim U, Kienzle P, Weber AA, Gams E, Schror K, Hohlfeld T. 2003. Functional and biochemical evaluation of platelet aspirin resistance after coronary artery bypass surgery. *Circulation*, 108(5):542-547.
- Zytkiewicz M, Gielwanowska L, Wojtasinska E, Psuja P, Zawilska K. 2008. Resistance to acetylsalicylic acid in patients after ischemic stroke. *Pol Arch Med Wewn*, 118(12):727-733.

8 Anhang

8.1 Probandenaufklärungen

Name des Teilnehmers:

.....

Lieber Proband,

Sie werden gebeten an folgender Studie teilzunehmen:

Untersuchungen zur Wirkung von Acetylsalicylsäure (ASS, Aspirin®) bei gesunden Probanden im Vergleich zu Patienten mit einer kardiovaskulären Erkrankung.

Die medikamentöse Therapie in der kardiovaskulären Medizin zur Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes erfolgt durch die Gabe von sogenannten Thrombozytenaggregationshemmern, wie beispielsweise ASS. Durch diese Behandlung wird das Risiko einer Thrombose und eines dadurch entstehenden Herzinfarktes und Schlaganfalls gesenkt.

Die medikamentöse Wirkung von ASS ist jedoch nicht bei allen Patienten identisch.

In Studien konnte gezeigt werden, dass ASS bei bestimmten Patienten keine Blutplättchenhemmung bewirkt.

Im Rahmen dieser Untersuchungen wird ein neuer Test zur Erfassung der Wirksamkeit von ASS auf die Blutplättchen sowie zur generellen Untersuchung der Thrombozytenfunktion angewendet. Mit Hilfe einer einmaligen Blutentnahme kann im Labor festgestellt werden, ob ASS bei Ihnen eine ausreichende Wirkung erzielt.

Das Ergebnis dieser Untersuchung zieht keine therapeutische Konsequenz nach sich.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig.

Die Nichtteilnahme an der Studie ergibt für Sie keine Nachteile.

Es besteht das generelle Risiko einer Blutentnahme.

Anhang

Name des Teilnehmers:

.....

Lieber Proband,

Sie werden gebeten an folgender Studie teilzunehmen:

Untersuchungen zur Wirkung von Acetylsalicylsäure (ASS, Aspirin®) bei gesunden Probanden im Vergleich zu Patienten mit einer kardiovaskulären Erkrankung.

Die medikamentöse Therapie in der kardiovaskulären Medizin zur Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes erfolgt durch die Gabe von sogenannten Thrombozytenaggregationshemmern, wie beispielsweise ASS. Durch diese Behandlung wird das Risiko einer Thrombose und eines dadurch entstehenden Herzinfarktes und Schlaganfalles gesenkt.

Die medikamentöse Wirkung von ASS ist jedoch nicht bei allen Patienten identisch.

In Studien konnte gezeigt werden, dass ASS bei bestimmten Patienten keine Blutplättchenhemmung bewirkt.

Im Rahmen unserer Untersuchungen wird ein neuer Test zur Erfassung der Wirksamkeit von ASS auf die Blutplättchen sowie zur generellen Untersuchung der Thrombozytenfunktion angewendet. Mit Hilfe einer einmaligen Blutentnahme kann im Labor festgestellt werden, ob ASS bei Ihnen eine ausreichende Wirkung erzielt. *Dies wird mit zwei verschiedenen Labortests ermittelt und verglichen werden.*

Das Ergebnis dieser Untersuchung zieht keine therapeutische Konsequenz nach sich.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig.

Die Nichtteilnahme an der Studie ergibt für Sie keine Nachteile.

Es besteht das generelle Risiko einer Blutentnahme.

Anhang

Name des Teilnehmers:

.....

Lieber Proband,

Sie werden gebeten an folgender Studie teilzunehmen:

Untersuchungen zur Wirkung von Acetylsalicylsäure (ASS, Aspirin®) bei gesunden Probanden im Vergleich zu Patienten mit einer kardiovaskulären Erkrankung.

Die medikamentöse Therapie in der kardiovaskulären Medizin zur Verbesserung der Fließeigenschaften des Blutes erfolgt durch die Gabe von sogenannten Thrombozytenaggregationshemmern, wie beispielsweise ASS. Durch diese Behandlung wird das Risiko einer Thrombose und eines dadurch entstehenden Herzinfarktes und Schlaganfalles gesenkt.

Die medikamentöse Wirkung von ASS ist jedoch nicht bei allen Patienten identisch.

In Studien konnte gezeigt werden, dass ASS bei bestimmten Patienten keine Blutplättchenhemmung bewirkt.

Im Rahmen unserer Untersuchungen wird ein neuer Test zur Erfassung der Wirksamkeit von ASS auf die Blutplättchen sowie zur generellen Untersuchung der Thrombozytenfunktion angewendet. Mit Hilfe einer einmaligen Blutentnahme kann im Labor festgestellt werden, ob ASS bei Ihnen eine ausreichende Wirkung erzielt.

Zur Beurteilung der Reproduzierbarkeit des neuen Tests erfolgt die Laboruntersuchung Ihrer Blutprobe mehrmalig.

Das Ergebnis dieser Untersuchung zieht für Sie keine therapeutische Konsequenz nach sich.

Die Teilnahme an dieser Studie ist freiwillig.

Sie können diese Einwilligung jederzeit ohne Angabe von Gründen entziehen.

Die Nichtteilnahme an der Studie ergibt für Sie keine Nachteile.

Es besteht das generelle Risiko einer Blutentnahme.

8.2 Probandeninformation und Einverständniserklärung

AG „Pharmakologische Hämostaseologie“
Medizinische Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena
Herr Prof. Dr. med. Götz Nowak
cand. med. Julia Hentrich, cand. med. Tina Kaden
Drackendorfer Straße 1
07747 Jena
Tel.: 03641/9325701

Untersuchung von Gerinnungsparametern - ASS-Resistenzmessung

Probandeninformation

Sehr geehrter Proband/ Sehr geehrte Probandin,

im Rahmen unserer Doktorarbeit möchten wir die Häufigkeit der ASS-Resistenz bei Patienten mit akuten kardiologischen Erkrankungen bzw. nephrologischen Erkrankungen mit Dialysepflicht ermitteln. Um einen Vergleich mit gesunden Probanden herstellen zu können, benötigen wir eine sogenannte gesunde Kontrollgruppe. Hierfür werden Ihnen max. 15 ml Blut aus der Vene entnommen, um Ihre Gerinnungsparameter mit denen der schwer kranken Patienten vergleichen zu können. Selbstverständlich werden bei dieser Studie die Vorschriften über die ärztliche Schweigepflicht und den Datenschutz eingehalten. Es werden persönliche Daten und Befunde über Sie erhoben, gespeichert und nur in verschlüsselter Form weitergegeben. Es kann Einsicht in die Originaldaten nur durch autorisierte Personen genommen werden. Im Falle von Veröffentlichungen der Ergebnisse bleibt die Vertraulichkeit Ihrer persönlichen Daten gewährleistet.

Probandeneinverständniserklärung

Auf Grundlage der Probandeninformation und mündlicher Erläuterung erkläre ich mich zur Teilnahme an der ASS-Resistenzmessung bereit und gebe mein Einverständnis, dass die über mich erhobenen Daten in verschlüsselter Form für wissenschaftliche Zwecke genutzt werden. Etwaige Fragen meinerseits wurden beantwortet.

Name:

Vorname:

.....
Ort/Datum

.....
Unterschrift Proband

.....
Unterschrift Doktorand

8.3 Fragebogen

AG „Pharmakologische Hämostaseologie“
Medizinische Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena
Herr Prof. Dr. med. Götz Nowak
cand. med. Julia Hentrich, cand. med. Tina Kaden
Drackendorfer Straße 1
07747 Jena
Tel.: 03641/9325701

Untersuchung von Gerinnungsparametern - ASS-Resistenzmessung Gesunde Probanden

Sehr geehrte Probandin/ Sehr geehrter Proband,

hiermit möchten wir uns zunächst für Ihre Teilnahme an unseren Messungen zur ASS-Resistenz bedanken.

Um ein wissenschaftlich relevantes Ergebnis erzielen zu können, benötigen wir zusätzlich einige Angaben von Ihnen und bitten Sie daher, die folgenden Fragen zu beantworten:

Name:

Vorname:

1. Besteht bzw. bestand bei Ihnen eine Erkrankung des Herzens, beispielsweise Herzrhythmusstörungen, Erkrankungen der Herzkranzgefäße (sogenannte Koronare Herzerkrankung, KHK) oder ein Herzinfarkt?

Nein Ja

Wenn ja, welche?
.....

2. Leiden Sie an Bluthochdruck?

Nein Ja

3. Leiden Sie an Diabetes mellitus?

Nein Ja

4. Besteht bei Ihnen eine Erkrankung der Nieren, beispielsweise eine Niereninsuffizienz mit Dialysepflicht, eine chronische Entzündung oder zystische Veränderungen der Nieren?

Nein Ja

Wenn ja, welche?
.....

5. Ist bei Ihnen oder in Ihrer Familie eine Gerinnungsstörung bekannt?

Nein Ja

Wenn ja, welche?

.....

6. Sind bei Ihnen bisher operative Eingriffe erfolgt?

- Nein Ja

Wenn ja, welche?

.....

7. Besteht eine Allergie (z.B. Asthma, Heuschnupfen) oder eine Überempfindlichkeitsreaktion, beispielsweise gegen Medikamente?

- Nein Ja

Wenn ja, welche?

.....

8. Erfolgte bei Ihnen in der Vergangenheit eine Behandlung mit Heparin, beispielsweise zur Thromboseprophylaxe im Zuge eines Krankenhausaufenthaltes?

- Nein Ja

9. Nehmen Sie regelmäßig Medikamente, insbesondere ASS (Aspirin®), Antikoagulantien (z.B. Falithrom) oder hormonelle Kontrazeptiva („die Pille“ zur Verhütung)?

- Nein Ja

Wenn ja, welche?

.....

10. Bestanden bei Ihnen zum Untersuchungszeitpunkt bzw. unmittelbar davor akute Erkrankungen, eine Schwangerschaft bzw. andere Besonderheiten?

- Nein Ja

Wenn ja, welche?

.....

11. Rauchen Sie regelmäßig?

- Nein Ja

Wir bedanken uns herzlich für Ihre Bemühung.

8.4 Veröffentlichungen im Rahmen dieser Arbeit

- J. Hentrich, T. Kaden, G. Nowak: Prevalence and profile of aspirin resistance in hemodialysis patients in comparison to healthy volunteers. *Hämostaseologie* 2009; 29:A63.
- T. Kaden, J. Hentrich, G. Nowak: Prevalence and Profile of Aspirin Resistance in Patients with Cardiovascular Diseases in Comparison to Healthy Volunteers. *J Thromb Haemost* 2009; 7 (Suppl. 2): PP-WE-739.
- G. Nowak, J. Hentrich, T. Kaden: Is heparin-induced thrombocytopenia type II (HIT II) an autoimmune disease? *J Thromb Haemost* 2009; 7 (Suppl. 2): PP-MO-700.

8.5 Tabellarischer Lebenslauf

Schulbildung

08/1995 – 06/2003 Tilesius-Gymnasium, Mühlhausen/Thüringen
Abschluss: Allgemeine Hochschulreife
Note: „Sehr gut“ (1,1)

Studium

10/2003 – 06/2010 Studium der Humanmedizin an der Friedrich-Schiller-Universität
Jena (FSU)

09/2005 Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung FSU Jena,
Note: „Befriedigend“ (3,0)

06/2010 Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung FSU Jena,
Note: „gut“ (2,0),
Gesamtnote „gut“ (2,3)

07/2010 Approbation als Ärztin

Famulaturen

02/2006 – 03/2006 Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe, Hufeland-Klinikum
Mühlhausen

07/2006 – 08/2006 Klinik für Augenheilkunde, Universitätsklinikum Jena

Anhang

- 09/2007 – 10/2007 Gemeinschaftspraxis für Radiologie/ Neuroradiologie/
Nuklearmedizin, Mühlhausen, Dr. Schuchard, Dr. Bürger,
Dr. Schuchard
- 02/2008 – 03/2008 Klinik für Kinder- und Jugendmedizin, Universitätsklinikum Jena

Praktisches Jahr

- 02/2009 – 06/2009 Klinik für Gynäkologie und Geburtshilfe
Robert-Koch-Krankenhaus Apolda GmbH
- 06/2009 – 08/2009 Department of Surgery
Kenyatta National Hospital, University of Nairobi
- 08/2009 – 10/2009 Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie
Sophien- und Hufeland-Klinikum Weimar
- 10/2009 – 01/2010 Klinik für Innere Medizin
Abteilung für Nephrologie
HELIOS Klinikum Erfurt

Promotion

- Seit 10/2006 „Prävalenz und Profil der ASS-Resistenz bei Dialysepatienten im
Vergleich zu gesunden Probanden“

Betreuung durch Prof. Dr. med. G. Nowak,
ehemalige „AG für Pharmakologische Hämostaseologie“,
Universitätsklinikum Jena, Abgabetermin: 11/2010

Veröffentlichungen

- Hentrich J, Kaden T, Nowak G. Prevalence and profile of aspirin resistance in haemodialysis patients in comparison to healthy volunteers. *Hämostaseologie* 2009;29:A63 (53. Jahrestagung GTH, Wien)
- Kaden T, Hentrich J, Nowak G. Prevalence and profile of aspirin resistance in patients with cardiovascular diseases in comparison to healthy volunteers. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2009; Volume 7, Supplement 2: Abstract PP-WE-739 (XXII ISTH Congress, Boston)
- Nowak G, Kaden T, Hentrich J. Is heparin-induced thrombocytopenia Type II (HIT II) an autoimmune disease?. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2009; Volume 7, Supplement 2: Abstract PP-MO-700 (XXII ISTH Congress, Boston)

8.6 Danksagung

Ich danke ganz herzlich Herrn Prof. Dr. med. Götz Nowak für die Bereitstellung des Themas und die Ermöglichung der Durchführung der experimentellen Arbeit in der Arbeitsgruppe „Pharmakologische Hämostaseologie“, für die umfangreiche Unterstützung sowie intensive Betreuung in allen Phasen meiner Promotion.

Dem gesamten Laborteam danke ich für die Einweisung am Arbeitsplatz und für die vielen wertvollen Ratschläge im Laboralltag. Besonderer Dank gilt hierbei Frau Dipl.-Ing. Ines Neubauer für ihre stets hilfreiche Beratung und Unterstützung in allen Belangen der Promotionsarbeit und dabei besonders für die weitreichende und geduldige Korrektur der Arbeit. Hierfür möchte ich auch meiner Tante Elke Brannys meinen herzlichen Dank aussprechen.

Weiterhin danke ich sehr Frau Prof. Dr. med. Heide Sperschneider für die Ermöglichung der Durchführung der Studie und ihre kontinuierliche Unterstützung. Auch dem gesamten Team des KfH-Nierenzentrums Jena-Drackendorf danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Ein großes Dankeschön gilt weiterhin Peter Lutzke für die große Hilfe von Anfang bis Ende der Promotion, Robert Eckardt für die vielen Tipps bei der technischen Umsetzung der Arbeit, sowie Manuela Seifert für ihre stetige Aufmunterung und die vielen hilfreichen Hinweise.

Tina Kaden möchte ich für ihre konstruktiven Ideen, die Unterstützung, die stetige Diskussionsbereitschaft und ihre Freundschaft ganz besonders danken.

Abschließend gebührt Marco Grundtner für seine Zuversicht, Motivation und Hilfe, sowie meiner Mutter Roswitha, die mir das Studium und so vieles mehr ermöglicht hat, mein größter Dank.

8.7 Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass

- mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität Jena bekannt ist,
- ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,
- mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskriptes unterstützt haben:

Herr Professor Dr. med. Götz Nowak

Frau Dipl.-Ing. Ines Neubauer

Frau Antje Brandstädt

- die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde,
- Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen und
- ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe

Jena, den

Julia Hentrich, Verfasserin