

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I  
Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München  
Vorstand: Prof. Dr. med. Steffen Massberg

**Die Genotypisierungssubstudie der TROPICAL-ACS-Studie (Testing RespOnsiveness to Platelet Inhibition on Chronic Antiplatelet treatment for Acute Coronary Syndromes trial)**

Zusammenhang zwischen CYP2C19-Genotyp und Thrombozytenaggregationshemmung  
unter einer Therapie mit Clopidogrel bzw. Prasugrel bei Patienten mit akutem  
Koronarsyndrom

Dissertation  
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin  
an der Medizinischen Fakultät der  
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von  
Anne Lena Krieg

aus München

2019

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dirk Sibbing

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Thomas M. Schiele  
Prof. Dr. Andreas May

Mitbetreuung durch die  
promovierte Mitarbeiterin: Dr. med. Lisa Gross

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard HICKEL

Tag der mündlichen Prüfung: 07.02.2019

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	5
Abbildungsverzeichnis	6
Tabellenverzeichnis	6
1. Einleitung	8
1.1. Akutes Koronarsyndrom	9
1.2. Thrombozytenaggregation	10
1.3. Pharmakologische Hemmung der Thrombozytenaggregation	11
1.3.1. Acetylsalicylsäure	11
1.3.2. P2Y <sub>12</sub> -Rezeptorantagonisten	12
1.4. Interventionelle Therapie	13
1.5. Gründe für eine Deeskalationstherapie	14
1.6. Ansprechrate auf Clopidogrel	15
1.6.1. Interindividuelle Variabilität der Thrombozytenaggregationshemmung	15
1.6.2. HPR-Status	15
1.6.3. CYP2C19-Polymorphismus	16
1.7. TROPICAL-ACS-Studie	17
2. Fragestellung und Zielsetzung	18
3. Material und Methoden	19
3.1. Studiendesign und Studienpopulation	19
3.2. Randomisierung und Studienarme	20
3.3. Studienablauf	21
3.4. Messgeräte	24
3.4.1. Multiplate Analyzer	24
3.4.2. Spartan RX	25
3.5. Studienendpunkte	26
3.6. Statistische Auswertung	28
4. Ergebnisse	28
4.1. Studienpopulation	28
4.2. Zusammenhang zwischen Genotyp und Phänotyp	31
4.3. Klinische Ergebnisse	35

5. Diskussion	36
5.1. Stellenwert dieser Studie	36
5.2. Limitationen	40
5.3. Schlussfolgerung	41
6. Zusammenfassung	42
7. Literaturverzeichnis	43
8. Anhang	51
8.1. Fragebogen Follow-Up	51
9. Danksagung	54

## Abkürzungsverzeichnis

ACC = American College of Cardiology

ACE = Angiotensin converting enzyme

ACS = Akutes Koronarsyndrom

ADP = Adenosindiphosphat

AHA = American Heart Association

ARC = Academic Research Consortium

BARC = Bleeding Academic Research Consortium

BMS = Bare metal stent

BVS = Bioresorbable vascular scaffold

COX = Cyclooxygenase

CYP = Cytochrom P450

DES = Drug-eluting stent

EKG = Elektrokardiogramm

FDA = U.S. Food and Drug Association

GoF = Gain of function

HPR = High on treatment platelet reactivity

KHK = Koronare Herzerkrankung

LoF = Loss of function

MEA = Multiple electrode aggregometry

NSTEMI = Nicht-ST-Hebungsinfarkt

PCI = Perkutane Koronarintervention

PFT = Plättchenfunktionstest

PTCA = Perkutane transluminale Koronarangioplastie

STEMI = ST-Hebungsinfarkt

TIMI = Thrombolysis in myocardial infarction

TROPICAL-ACS-Studie = Testing Responsiveness to Platelet Inhibition on Chronic Antiplatelet treatment for Acute Coronary Syndromes trial

TxA<sub>2</sub> = Thromboxan A<sub>2</sub>

vWF = Von-Willebrand-Faktor

wt = Wildtyp

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Todesursachen nach Krankheitsarten 2015 [1]	8
Abbildung 2: Häufigste Todesursachen 2015 [1]	8
Abbildung 3: Primäre Hämostase durch Thrombozytenaggregation. Modifiziert nach [6]	10
Abbildung 4: Pharmakologische Ansatzpunkte zur Hemmung der Thrombozytenaggregation. Modifiziert nach [10]	11
Abbildung 5: Metabolisierung von Prasugrel. Modifiziert nach [19]	13
Abbildung 6: Änderung der ADP-induzierten Plättchenhemmung bei 544 Patienten unter Clopidogrel Therapie. Modifiziert nach [43]	15
Abbildung 7: Metabolisierung von Clopidogrel. Modifiziert nach [19]	16
Abbildung 8: Studienablauf der TROPICAL-ACS-Studie	18
Abbildung 9: Studienablauf der Genotypisierungssubstudie	22
Abbildung 10: Multiplate Analyzer [91]	24
Abbildung 11: Spartan RX [100]	25
Abbildung 12: ADP-induzierte Plättchenaggregation und CYP2C19*2-Trägerstatus	32
Abbildung 13: ADP-induzierte Plättchenaggregation und CYP2C19*17 Trägerstatus	33
Abbildung 14: Genotyp und Umstellungsraten in der Monitoringgruppe	34

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Einteilung der Koronardurchblutung nach der TIMI-Klassifikation [90]	19
Tabelle 2: Ausschlusskriterien TROPICAL-ACS und Genotypisierungssubstudie	20
Tabelle 3: Blutungsereignisse nach den BARC-Kriterien [102]	27
Tabelle 4: Stentthrombose nach Wahrscheinlichkeit nach den ARC-Kriterien [103]	28
Tabelle 5: Basischarakteristika der Studiengruppen	29
Tabelle 6: Charakteristika der angiographischen Intervention	31
Tabelle 7: Klinische Ergebnisse nach 12 Monaten Follow Up	35

# 1. Einleitung

Herz-Kreislauf-Erkrankungen sind seit Jahren die häufigste Todesursache in Deutschland. Knapp 40% der Todesfälle waren 2015 laut dem Statistischen Bundesamt auf Erkrankungen aus diesem Bereich zurückzuführen [1].

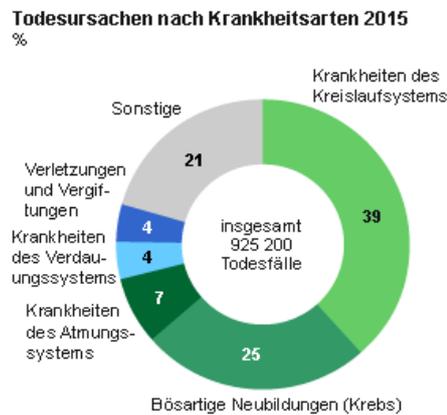


Abbildung 1: Todesursachen nach Krankheitsarten 2015 [1]

Die Lebenszeitprävalenz für das Auftreten einer koronaren Herzerkrankung (KHK) bei 40 – 79-Jährigen liegt bei 9.3% [2]. Klinisch äußert sich eine KHK häufig als akutes Koronarsyndrom (ACS).

Häufigste Todesursachen 2015  
in Tsd.

■ Männlich ■ Weiblich

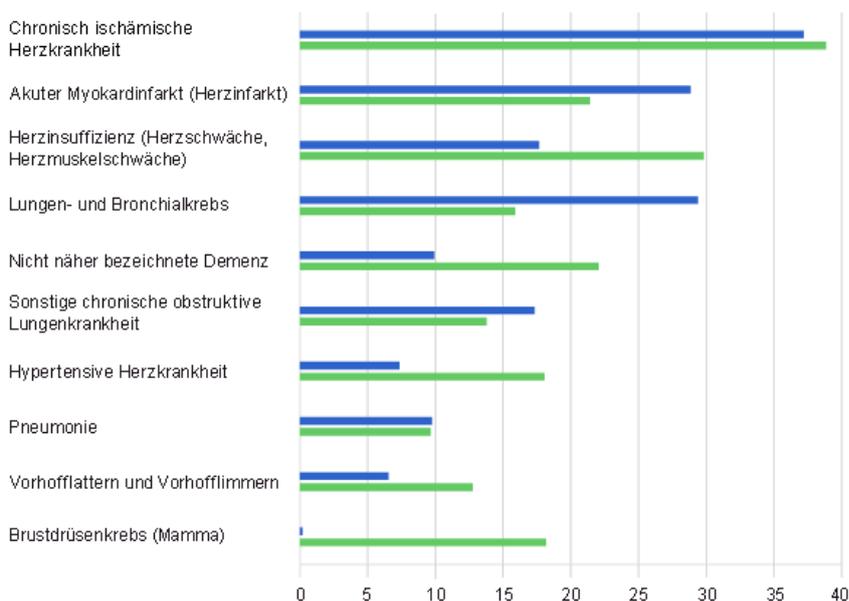


Abbildung 2: Häufigste Todesursachen 2015 [1]

## 1.1. Akutes Koronarsyndrom

Unter dem Begriff „Akutes Koronarsyndrom“ (ACS) werden mehrere Krankheitsbilder zusammengefasst, denen ein Verschluss bzw. eine Stenosierung der Koronargefäße gemein ist.

Pathophysiologisch liegt dem ACS eine Atherosklerose zugrunde, bei der es zu einer Verhärtung, Elastizitätsabnahme und Lumeneinengung der Koronararterien kommt. Die Ruptur von instabilen Plaques kann zu einem Gefäßverschluss führen. Hierdurch entsteht ein Missverhältnis zwischen myokardialem Sauerstoffangebot und Sauerstoffverbrauch. Es kommt zu einer regionalen Minderperfusion des durch die Koronararterie versorgten Myokardabschnitts.

Für das Auftreten eines ACS sind eine Reihe von Risikofaktoren bekannt. Hier sind insbesondere Nikotinabusus, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und Hyperlipidämie zu nennen. Weitere Risikofaktoren sind eine kardiovaskuläre Grunderkrankung, eine positive Familienanamnese, Adipositas oder ein Lebensalter über 45 Jahre bei Männern bzw. über 55 Jahre bei Frauen.

Das klinische Leitsymptom des ACS ist ein akut einsetzender, über mindestens 20 Minuten anhaltender Thoraxschmerz, teilweise mit Ausstrahlung in den linken Arm, den Hals, den Kiefer, den Rücken oder in das Epigastrium. Begleitend können vegetative Symptome, Atemnot, Unruhe oder Angstzustände auftreten.

Der Begriff ACS umfasst den plötzlichen Herztod sowie die drei Kategorien instabile Angina pectoris, Nicht-ST-Hebungsinfarkt (NSTEMI) und ST-Hebungsinfarkt (STEMI) [3]. Die Erstmanifestation eines ACS ist häufig ein Myokardinfarkt.

Die Einteilung in die drei Kategorien erfolgt über das Elektrokardiogramm (EKG) und kardiale Biomarker, insbesondere Troponin. Die instabile Angina pectoris ist gekennzeichnet durch die typische Klinik über mindestens 20 Minuten, jedoch ohne ST-Hebungen im EKG und ohne Troponin-Anstieg. Bei einem NSTEMI findet man einen Troponin-Anstieg im Labor ohne ST-Hebungen im EKG. Dagegen treten bei einem STEMI sowohl ST-Hebungen im EKG als auch ein Troponin-Anstieg im Labor auf.

Die Akuttherapie des ACS sieht nach den aktuellen Leitlinien [4, 5] an erster Stelle eine duale Thrombozytenaggregationshemmung mittels Acetylsalicylsäure und einem P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten sowie Antikoagulation vor. Zusätzlich erfolgt meist die Gabe von Sauerstoff, Morphin, Nitraten sowie Betablockern. Bei dem Vorliegen eines STEMI sowie

einen NSTEMIs wird nach der Akutversorgung eine perkutane Koronarintervention (PCI) durchgeführt, meistens mit Stent-Implantation, um den Fluss in der betroffenen Koronararterie wieder zu verbessern.

Nach der PCI stehen zur Rezidivprophylaxe eines ACS neben der Reduktion von Risikofaktoren eine Reihe an medikamentösen Optionen zur Verfügung. Neben der lebenslangen Gabe von Acetylsalicylsäure wird in den aktuellen Leitlinien [4, 5] bei Patienten mit einem ACS die Gabe eines potenten P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten über 12 Monate nach Koronarintervention empfohlen. Zudem kommen Statine, ACE-Hemmer und Betablocker zum Einsatz.

## 1.2. Thrombozytenaggregation

Wird das Gefäßendothel verletzt, zum Beispiel durch die Ruptur eines instabilen Plaques, aber auch iatrogen durch die PCI, läuft die primäre Hämostase in mehreren Schritten ab (siehe Abbildung 3).

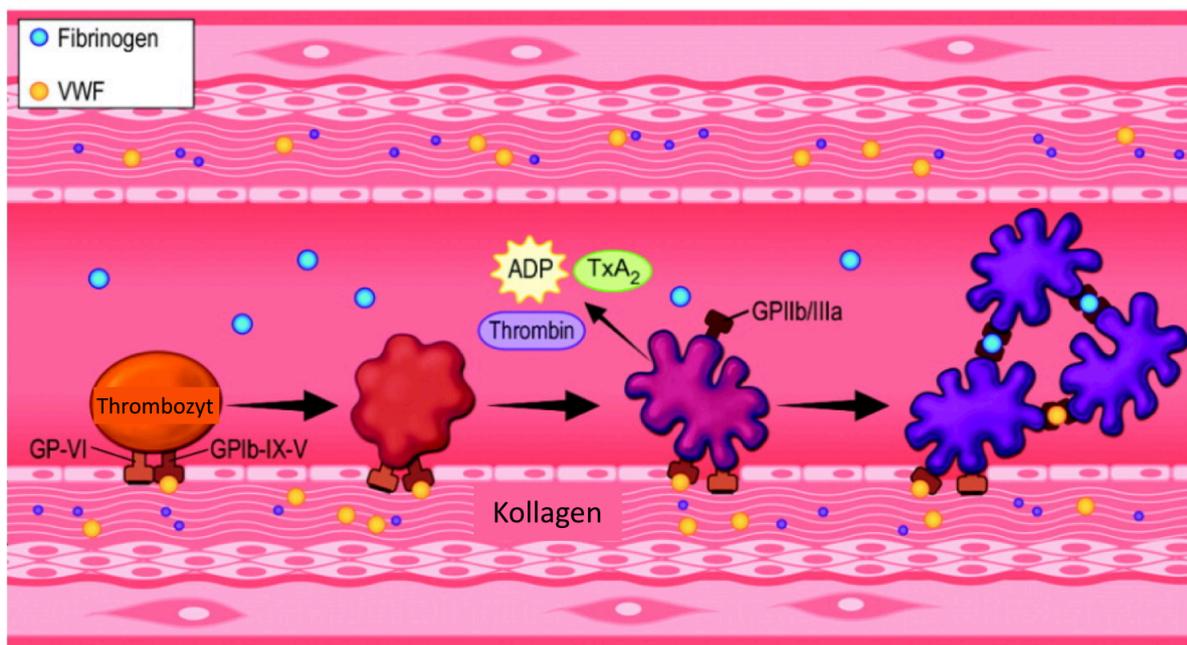


Abbildung 3: Primäre Hämostase durch Thrombozytenaggregation. Modifiziert nach [6]

Durch die Freilegung von Gewebsproteinen wie Kollagen erfolgt über den von-Willebrand-Faktor (vWF) einerseits die Bindung an Kollagen, andererseits kommt es über den vWF-Rezeptor (GPIb-IX-V-Rezeptor) an der Thrombozytenoberfläche zur Adhäsion von Thrombozyten. Dadurch wird das freigelegte Epithel bedeckt.

Über die Sekretion von Adenosindiphosphat (ADP) aus den Thrombozyten kommt es zur Ausschüttung von Thromboxan A<sub>2</sub> (TxA<sub>2</sub>), was wiederum die Ausschüttung weiterer

Mediatorstoffe bewirkt. Hierdurch kommt es zur Aktivierung weiterer Thrombozyten sowie zu einer Vasokonstriktion [7].

Anschließend werden die Thrombozyten durch Fibrin zu einem Thrombozytenaggregat vernetzt. Dies erfolgt über die Bindung an den GPIIb/IIIa-Rezeptor [8, 9].

### 1.3. Pharmakologische Hemmung der Thrombozytenaggregation

Abbildung 4 gibt einen Überblick über die Wirkmechanismen verschiedener Medikamente, die eine Thrombozytenaggregationshemmung zur Folge haben.

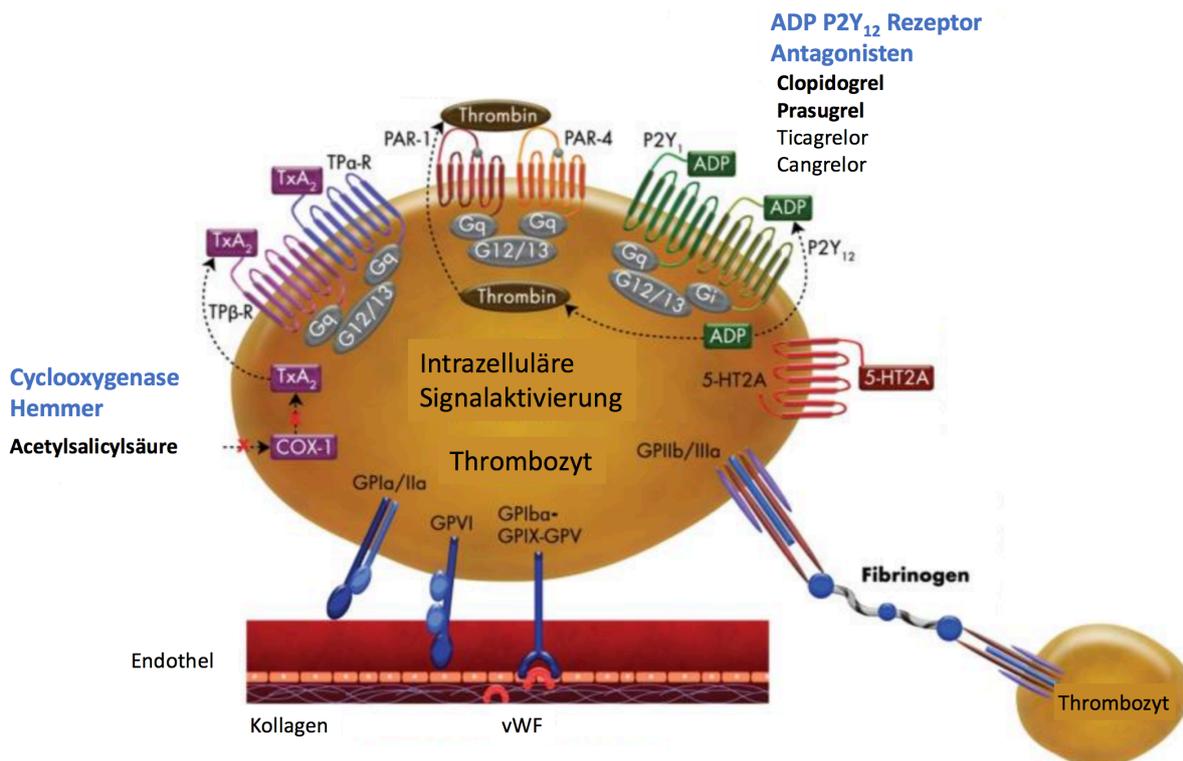


Abbildung 4: Pharmakologische Ansatzpunkte zur Hemmung der Thrombozytenaggregation. Modifiziert nach [10]

COX-1 (Cyclooxygenase-1), TxA<sub>2</sub> (Thromboxan A<sub>2</sub>), GP (Glykoprotein), ADP (Adenosindiphosphat), vWF (von-Willebrand-Faktor), PAR (Protease-aktivierter Rezeptor), G (GTPbindende Proteine, kurz G)

#### 1.3.1. Acetylsalicylsäure

Die antithrombotische Wirkung der Acetylsalicylsäure ist auf eine irreversible Hemmung der COX-1 zurückzuführen (siehe Abbildung 4). Hierdurch kommt es zu verminderten Freisetzung von TxA<sub>2</sub> und in der Folge zu einer verminderten Thrombozytenaggregation [11]. Die Hemmung des Isoenzym COX-1 durch Acetylsalicylsäure erfolgt bereits in niedriger Dosierung [12]. In der Therapie und Prophylaxe des ACS wird Acetylsalicylsäure daher in einer niedrigen Dosierung von 100 mg p.o./Tag verwendet.

### 1.3.2. P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten

Die Gruppe der P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten umfasst mehrere Medikamente, die ebenfalls eine Hemmung der Thrombozytenaggregation bewirken. Als Medikamente sind hier in der Ticlopidin, Clopidogrel, Prasugrel, Ticagrelor und Cangrelor zu nennen.

Ticlopidin wird inzwischen aufgrund des Nebenwirkungsspektrums nicht mehr verwendet.

#### 1.3.2.1. Clopidogrel

Clopidogrel ist ein Thienopyridin der zweiten Generation. Die Wirkung von Clopidogrel beruht auf einer Hemmung der Bindung von ADP an den ADP-Rezeptor P2Y<sub>12</sub> an der Thrombozytenoberfläche (siehe Abbildung 4). Hierdurch kommt es zu einer Hemmung der ADP-vermittelten Thrombozytenaggregation [13-17]. Diese P2Y<sub>12</sub>-Rezeptor-Inhibierung ist irreversibel.

Clopidogrel liegt als inaktives Prodrug vor. 85% des aufgenommenen Medikaments werden durch Esterasen im Blut prähepatisch zu einem inaktiven Metaboliten verstoffwechselt. Die restlichen 15% werden über das hepatische Zytochrom P450-System in den aktiven Metaboliten umgewandelt. Dadurch ist der Wirkeintritt verzögert [18]. Bei der Umwandlung der inaktiven Prodrugs in den aktiven Metaboliten nimmt das CYP2C19-Enzym, das über das CYP2C19-Gen codiert ist, eine entscheidende Rolle ein [19, 20]. Auch bei der Resorption von Clopidogrel spielen genetische Faktoren, wie das ABCB1 Gen, eine Rolle [21].

Die typische Erhaltungsdosis von Clopidogrel liegt bei 75 mg, hier wird das Wirkmaximum nach fünf bis sieben Tagen erreicht [22]. Um einen schnelleren Wirkeintritt zu erzielen, hat sich bei der Durchführung einer PCI die Gabe einer Loading-Dose als vorteilhaft erwiesen. Bei Clopidogrel wird bei einer Loading-Dose von 300 mg das Wirkmaximum nach sechs Stunden, bei 600 mg nach zwei Stunden erreicht [23].

Clopidogrel ist in seiner Potenz den anderen P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten unterlegen.

#### 1.3.2.2. Prasugrel

Prasugrel ist ein Thienopyridin der dritten Generation.

Auch bei Prasugrel erfolgt die P2Y<sub>12</sub>-Rezeptor-Inhibierung irreversibel (siehe Abbildung 4). Eine weitere Gemeinsamkeit zu Clopidogrel ist, dass Prasugrel ebenso als Prodrug vorliegt. Allerdings ist bei der Metabolisierung von Prasugrel in seinen aktiven Metaboliten nur ein Schritt notwendig, sodass es seine Wirkung deutlich schneller als Clopidogrel entfalten kann.

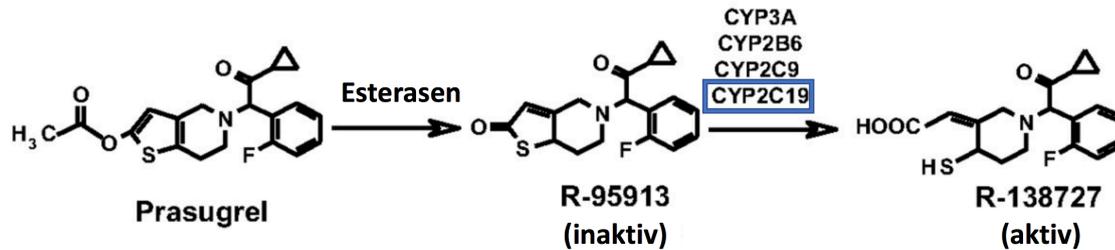


Abbildung 5: Metabolisierung von Prasugrel. Modifiziert nach [19]

Bei der Gabe von 60 mg Prasugrel als Loading-Dose und einer anschließenden Dosierung von 10 mg als Erhaltungsdosis wird bereits nach 30 Minuten die volle Wirkung erzielt [24]. Prasugrel ist deutlich potenter als Clopidogrel, dies hat zum einen eine Reduktion der ischämischen Ereignisse nach einer PCI bei einem ACS zur Folge, zum anderen bedingt dies auch ein höheres Risiko für das Auftreten von Blutungskomplikationen [24].

#### 1.4. Interventionelle Therapie

Die Revaskularisierung wird bei einem ACS interventionell durch die Durchführung einer PCI erreicht. Die PCI ist eine minimalinvasive Methode und umfasst ein breites Spektrum an Verfahren. Das gemeinsame Ziel dieser Verfahren ist die Wiederherstellung der Myokardperfusion. Die PCI umfasst die perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA), erstmals angewendet von Grüntzig 1977.

Die Implantation von Stents, erstmals von Sigwart und Puel 1986 durchgeführt, verbesserte die Akutergebnisse und verminderte die Restenoserate [25]. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle werden daher bei einer PCI ein oder mehrere Stents implantiert.

Standen früher nur unbeschichtete bare metal stents (BMS) zur Verfügung, werden heutzutage fast ausschließlich drug eluting stents (DES) verwendet.

Die Einführung der DES hat die Restenoserate und damit die Reinterventionsrate nach PCI im Vergleich zu den BMS deutlich senken können [26-28].

Die erste Generation der DES hatte eine Medikamentenschicht mit antiproliferativ wirkenden Substanzen wie Sirolimus oder Paclitaxel. 2008 kam die zweite Generation der DES auf den Markt, diese verwendeten Zotarolimus oder Everolimus. Bei diesen konnte zudem die Stentdicke reduziert werden [29, 30].

Zur Verhinderung von Stentthromosen ist nach Stentimplantation eine duale Thrombozytenaggregationshemmung notwendig. Die Einheilungsphase des Stents dauert bei

den DES jedoch länger, sodass eine längere Einnahme von Medikamenten zur dualen Plättchenhemmung nötig ist. Anfangs zeigte sich bei der Verwendung von DES im Vergleich zu BMS eine erhöhte Rate von späten Stentthrombosen. Unter der aktuellen leitliniengerechten dualen Plättchenhemmung ist die Rate an Stentthrombosen bei den DES nicht mehr erhöht, sodass sie die BMS nahezu abgelöst haben [31, 32].

#### 1.5. Gründe für eine Deeskalationstherapie

Der Einsatz von potenten P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten konnte das Ischämie- und Thromboserisiko nach PCI deutlich reduzieren, ging jedoch mit einem höheren Blutungsrisiko einher [24, 33-35]. Der positive Effekt der potenten P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten tritt vor allem zu Beginn der Therapie nach PCI auf, in der chronischen Anwendung kommt es zu einer Zunahme des Blutungsrisikos [24, 34].

Hier konnte in der TRITON-TIMI-38-Studie gezeigt werden, dass in den ersten drei Tagen nach Therapiebeginn das Blutungsrisiko von Clopidogrel und Prasugrel vergleichbar war. Bei einer längeren Anwendung über drei Tage hinweg überwog jedoch das Risiko für Blutungen bei Prasugrel [34].

Diese Beobachtungen machen ein Deeskalationsregime interessant, bei dem potente P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten nur in der Anfangsphase zum Einsatz kommen und anschließend durch das weniger potente Clopidogrel ersetzt werden. Hierzu gibt es bislang nur wenige Studien mit zum Teil widersprüchlichen Ergebnissen [36-38].

Im klinischen Alltag findet dennoch häufig ein Wechsel auf das weniger potente Clopidogrel anstelle von Prasugrel oder Ticagrelor innerhalb des ersten Jahres nach PCI statt. Gründe hierfür sind medizinischer, aber auch ökonomischer Natur [33, 36, 39-42].

Prasugrel ist in etwa zehnmal teurer als Clopidogrel. Dies ist unter anderem dadurch bedingt, dass für Clopidogrel im Gegensatz zu Prasugrel mehrere Generika zur Verfügung stehen. Bei Prasugrel kostet eine Tablette zurzeit 2,81 € (98 Stück 275,06 €). Clopidogrel kostet dagegen nur 0,26 € pro Tablette (100 Stück 25,97 €, Clopidogrel der Firma Denk).

## 1.6. Ansprechrate auf Clopidogrel

### 1.6.1. Interindividuelle Variabilität der Thrombozytenaggregationshemmung

Bei der Anwendung von Clopidogrel konnte eine breite interindividuelle Variabilität der Thrombozytenaggregationshemmung und damit der Wirksamkeit von Clopidogrel beobachtet werden [43-47].

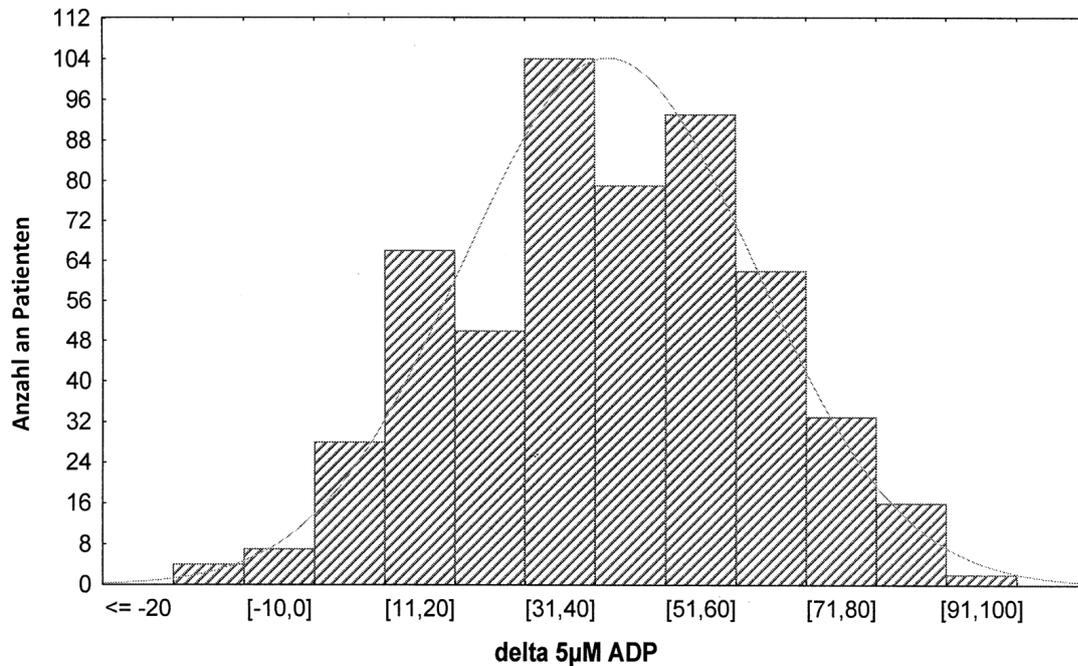


Abbildung 6: Änderung der ADP-induzierten Plättchenhemmung bei 544 Patienten unter Clopidogrel Therapie. Modifiziert nach [43]

5 – 30% der Patienten zeigten ein vermindertes Ansprechen auf Clopidogrel [48-50], gemessen im Plättchenfunktionstest (PFT).

Patienten mit einem inadäquaten Ansprechen auf Clopidogrel hatten im weiteren Verlauf ein erhöhtes Risiko für ischämische Ereignisse [45, 49, 51-54].

Die Variabilität des Ansprechens auf Clopidogrel ist bedingt durch verschiedene Faktoren wie das Alter, ein erhöhter Body-Mass-Index [55], Diabetes mellitus [56], Medikamenteninteraktionen wie durch Protonenpumpeninhibitoren [50, 57] und Unterschiede in der Resorptionsrate. Eine wichtige Rolle spielen auch genetische Ursachen wie der CYP2C19 Polymorphismus.

### 1.6.2. HPR-Status

Um Patienten mit einem verminderten Ansprechen auf Clopidogrel zu identifizieren, gibt es verschiedene Messmethoden. Die Messung der ADP-induzierten Thrombozytenaggregation

mittels Impedanzaggregometrie hat sich als schnelle und genaue Messmethode erwiesen [58].

Die Arbeitsgruppe „high on treatment platelet reactivity“ legte die folgenden Grenzwerte, für den Multiplate Analyzer fest [59-61]. Ein Testwert  $\geq 46$  Units entspricht einem „high on treatment platelet reactivity“-Status, kurz HPR-Status [48, 62]. Patienten mit einem HPR-Status zeigen ein vermindertes Ansprechen auf Clopidogrel und weisen daher ein erhöhtes Risiko für ischämische Ereignisse wie Stentthrombose oder Myokardinfarkt auf [50, 59-61, 63]. Ein Testwert  $< 46$  Units ist als no-HPR-Status definiert [59, 60].

### 1.6.3. CYP2C19-Polymorphismus

Der genetische Polymorphismus des CYP2C19-Gens hat ebenfalls einen Einfluss auf die Wirkung von Clopidogrel. CYP2C19 ist ein hepatisches Enzym aus der Gruppe der Zytochrom P450-Proteine, das an der Metabolisierung einer Reihe von Medikamenten beteiligt ist. Auch bei der Umwandlung des Prodrugs Clopidogrel in seinen aktiven Metaboliten spielt CYP2C19 eine wichtige Rolle [19].

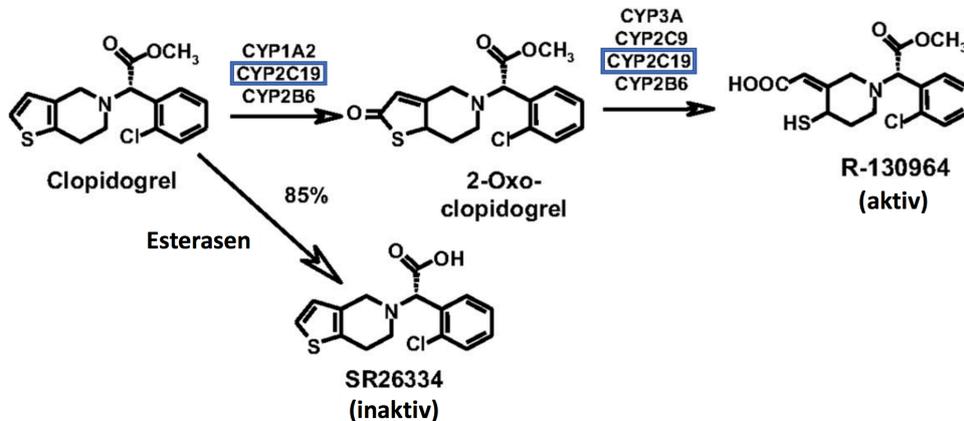


Abbildung 7: Metabolisierung von Clopidogrel. Modifiziert nach [19]

Hierfür werden zwei Schritte benötigt. Bei der Metabolisierung von Clopidogrel zu 2-Oxo-clopidogrel ist CYP2C19 zu 45%, für den zweiten Schritt zum aktiven Metaboliten zu 20% verantwortlich [19].

Es sind über 20 Polymorphismen des CYP2C19-Gens bekannt, der Wildtyp wird als CYP2C19\*1 bezeichnet. Die Mutationen CYP2C19\*2 und CYP2C19\*3 sind als sogenannte loss of function-Allele (LoF) bekannt, die zu einer verminderten Umwandlung von Clopidogrel und somit einer verminderten Thrombozytenaggregationshemmung führen [64-67].

Die CYP2C19\*2 Variante weist eine Punktmutation von Guanin zu Adenin an der Position 681 des Exons 5 auf, wodurch es zu einem Funktionsverlust des Enzyms kommt [68]. Bei der CYP2C19\*3 Variante kommt es durch einen Austausch von Guanin zu Adenin an Stelle 636 im Exon 4 zum Auftreten eines Stoppcodons [69].

Das Vorliegen der Varianten CYP2C19\*2 oder CYP2C19\*3 erhöht das Thromboserisiko [57, 65-67, 70-80].

In der kaukasischen Bevölkerung ist das LoF-Allel CYP2C19\*2 mit knapp 15 % am häufigsten vertreten. In der asiatischen Bevölkerung tritt es sogar in bis zu 35% der Fälle auf [81-83]. In der TRITON-TIMI-38-Studie traten LoF-Träger mit einer Häufigkeit von 27% auf [65].

Die Variante CYP2C19\*17 des CYP2C19-Gens dagegen ist ein gain of function-Allel (GoF) und führt zu einer verstärkten Clopidogrel-Wirkung [71, 72, 84, 85]. Hier kommt es durch das Vorliegen von zwei Mutationen in der 5' flankierenden Region zu einer verstärkten Enzymfunktion [86, 87]. Beim Vorliegen der Variante CYP2C19\*17 liegt ein erhöhtes Blutungsrisiko vor [71, 72, 84, 88].

### 1.7. TROPICAL-ACS-Studie

Da die TROPICAL-ACS-Studie die Grundlage der Genotypisierungssubstudie war, wird im Folgenden zunächst die TROPICAL-ACS-Studie vorgestellt.

Die TROPICAL-ACS-Studie war eine prospektive, randomisierte, offene, parallele, multizentrische Nicht-Unterlegenheitsstudie von Patienten mit Troponin-positivem ACS, die mittels einer PCI an 33 europäischen Zentren behandelt wurden.

Es wurde die leitliniengerechte Standardtherapie mit Prasugrel über 12 Monate nach der Koronarintervention bei ACS-Patienten mit einem individualisierten, plättchenfunktionsgesteuerten Therapieschema verglichen.

Ziel der TROPICAL-ACS-Studie war es, nachzuweisen, dass ein individualisiertes, plättchenfunktionsgesteuertes Therapieschema mit früher Deeskalation von Prasugrel zu Clopidogrel („Monitoringgruppe“) bei gutem Ansprechen auf Clopidogrel der leitliniengerechten Standardtherapie mit 12 Monaten Prasugrel („Kontrollgruppe“) bei Patienten mit erfolgreicher PCI bei ACS nicht unterlegen ist.

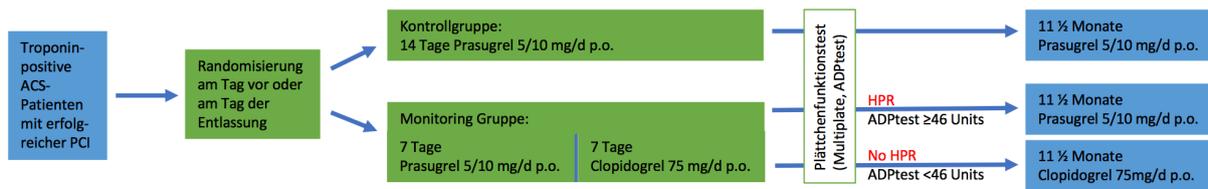


Abbildung 8: Studienablauf der TROPICAL-ACS-Studie

Die Abbildung zeigt die Kontroll- und die Monitoring Gruppe der TROPICAL-ACS-Studie. Die Randomisierung erfolgt im 1:1 Modus nach der PCI und vor Entlassung. In beiden Studienarmen wird ein PFT durchgeführt. In der Monitoringgruppe erhalten Patienten mit ausreichender Plättchenhemmung (no-HPR) für die restliche Studiendauer Clopidogrel, Patienten mit HPR-Status werden auf Prasugrel umgestellt.

In die Tropical-ACS-Studie wurden 2610 Patienten an 33 europäischen Studienzentren eingeschlossen, von denen 1306 Patienten in die Kontrollgruppe und 1304 Patienten in die Monitoringgruppe randomisiert wurden.

Als primärer Endpunkt der TROPICAL-ACS-Studie war ein kombinierter Endpunkt aus ischämischen Ereignissen und Blutungsereignissen definiert. Innerhalb der zwölfmonatigen Nachbeobachtungszeit wurde der primäre Endpunkt in der Monitoringgruppe bei 95 Patienten (7%) erreicht und in der Kontrollgruppe bei 118 Patienten (9%) (Hazard ratio 0.81, 95% CI 0.62 – 1.06, p-value non-inferior 0.0004). Bei den ischämischen Ereignissen lag für die Monitoringgruppe kein erhöhtes Risiko vor.

Insgesamt konnte gezeigt werden, dass die individualisierte Deeskalationstherapie bei suffizienter Plättchenhemmung der Standardtherapie mit Prasugrel nicht unterlegen war [89].

## 2. Fragestellung und Zielsetzung

In zahlreichen Studien wurde beschrieben, dass sowohl ein Zusammenhang zwischen den CYP2C19-Genotypen als auch zwischen der Plättchenreaktivität unter Therapie (Phänotyp) und den klinischen Ergebnissen besteht [60, 64, 70, 71, 84]. Ausgehend von diesen Beobachtungen hatte die Genotypisierungssubstudie der TROPICAL-ACS-Studie das Ziel, zu untersuchen, ob bei invasiv behandelten ACS-Patienten unter medikamentöser Therapie mit Prasugrel oder Clopidogrel die CYP2C19-Genotypen mit den Phänotypen korrelieren und somit diese Information nützlich sein könnte, um eine Vorauswahl von Patienten zu treffen, die für eine frühe kontrollierte Deeskalation der plättchenhemmenden Therapie in Frage kommen und hiervon profitieren könnten.

### 3. Material und Methoden

#### 3.1. Studiendesign und Studienpopulation

Da die Genotypisierungsstudie eine Substudie der TROPICAL-ACS-Studie ist, waren alle Teilnehmer der Genotypisierungssubstudie Teilnehmer der Hauptstudie, einer prospektiven, randomisierten, offenen, parallelen, multizentrischen Nicht-Unterlegenheitsstudie (siehe Kapitel 1.7).

Die Genotypisierungssubstudie wurde an vier deutschen Zentren der insgesamt 33 TROPICAL-ACS-Studienzentren durchgeführt, in der Abteilung für Kardiologie der Ludwigs-Maximilians-Universität München, der Klinik für Kardiologie und Angiologie II des Universitätsherzzentrums Freiburg, Bad Krozingen, der Abteilung für Kardiologie und Pneumologie des Herzzentrums Göttingen, Universitätsmedizin Göttingen, und der Abteilung für Kardiologie und Kreislauferkrankungen des Universitätsklinikums Tübingen.

Die Ein- und Ausschlusskriterien der Genotypisierungssubstudie entsprachen denen der TROPICAL-ACS-Hauptstudie. Patienten konnten eingeschlossen werden, wenn sie alle Einschlusskriterien erfüllten und keine Ausschlusskriterien vorlagen.

Die Einschlusskriterien waren ein Troponin-positives ACS, eine erfolgreich durchgeführte PCI und eine Indikation für eine Therapie mit Prasugrel für 12 Monate nach Intervention. Als erfolgreiche PCI wurde ein post-PCI Stenosen-Durchmesser  $< 20\%$  sowie ein TIMI-Fluss  $\geq 2$  (Thrombolysis in myocardial infarction) definiert [90]. Zudem musste eine schriftliche Einverständniserklärung vorliegen. Die Einteilung der Koronardurchblutung nach der TIMI-Klassifikation ist in Tabelle 1 dargestellt [90].

Fluss 0	Verschluss mit fehlender Darstellung im distalen Gefäßanteil
Fluss 1	Verschluss mit Darstellung von wenigen Teilen des distalen Gefäßabschnittes
Fluss 2	Darstellung des Gefäßes distal der Stenose mit verlangsamtem Fluss des Kontrastmittels im Vergleich zu anderen Gefäßarealen
Fluss 3	Normaler Ein- und Abstrom des Kontrastmittels

Tabelle 1: Einteilung der Koronardurchblutung nach der TIMI-Klassifikation [90]

Die Ausschlusskriterien können Tabelle 2 entnommen werden.

Alter < 18 Jahre oder > 80 Jahre
Kontraindikation für Clopidogrel: Unverträglichkeit gegenüber dem Wirkstoff oder einem Bestandteil des Produkts, aktive Blutung
Kontraindikation für Prasugrel: Unverträglichkeit gegenüber dem Wirkstoff oder einem Bestandteil des Produkts, aktive Blutung, TIA oder Schlaganfall in Vorgeschichte
Patienten mit kompliziertem oder prolongiertem kardiogenem Schock in den letzten zwei Wochen vor Beginn der Studie. Ein komplizierter oder prolongierter kardiogener Schock ist definiert als kardiogener Schock, der den Einsatz einer invasiven Beatmung oder die Gabe von Katecholaminen $\geq 7$ Tage erfordert
Patienten, die eine begleitende Behandlung mit einem Antikoagulant benötigen (Vitamin K-Antagonisten, neue orale Antikoagulantien wie Rivaroxaban, Dabigatran, Apixaban)
Indikation für eine große Operation innerhalb der geplanten Studiendauer (nach Entscheidung des behandelnden Arztes)
Gleichzeitige Teilnahme an einer klinischen Studie mit Einnahme einer Studienmedikation innerhalb der letzten 30 Tage vor Studienbeginn
Bekannter oder andauernder Alkohol-, Medikamenten- oder Drogenabusus
Schwangere Frauen oder Frauen, die eine Schwangerschaft planen. Stillende Frauen, Frauen innerhalb 90 Tage post partum. Frauen im gebärfähigen Alter, die für die Dauer der Studie keine effektiven Kontrazeptiva (orale, injizierbare oder implantierte Kontrazeptiva oder IUP) anwenden oder nicht anwenden wollen, abgesehen von chirurgisch sterilisierten Frauen oder Frauen nach Hysterektomie oder bei Vorliegen anderer Kriterien, die vom Prüfarzt im Einzelfall als ausreichend effektiv bewertet werden
Signifikante aktive neuropsychiatrische Erkrankung, nach Einschätzung des Prüfarztes

Tabelle 2: Ausschlusskriterien TROPICAL-ACS und Genotypisierungssubstudie

Die Studie hatte das Klinikum der Universität München als akademischen Sponsor und wurde durch ein unabhängiges Daten- und Sicherheitskontrollgremium überwacht. Ein externes Monitoring wurde durch das Münchner Studienzentrum (MSZ, München, Deutschland) durchgeführt. Die Ethikkommissionen der Studienzentren sowie die zuständigen nationalen Agenturen hatten der Durchführung der Studie sowie der Substudie zugestimmt. Die Studie wurde in Übereinstimmung mit den Prinzipien der Deklaration von Helsinki durchgeführt.

### 3.2. Randomisierung und Studienarme

Die teilnehmenden Patienten wurden am Tag vor oder am Tag der Entlassung in einem 1:1 Muster in die zwei Studienarme randomisiert. Die Randomisierung erfolgte internetbasiert und computergeneriert als Blockrandomisierung mit einer Stratifizierung über die

Studienzentren. Als Programm wurde nQuery-Advisor 6.01 (Copyright 1995-2005, Janet D. Elashoff) verwendet.

Mit dem Zeitpunkt der Randomisierung galten die Patienten als in die Studie aufgenommen und ihre Daten wurden für die abschließende statistische Analyse verwertbar. Die Aufnahme in die Genotypisierungssubstudie und die TROPICAL-ACS-Studie fand bei Vorliegen der jeweiligen Einverständniserklärungen zeitgleich statt.

In der Kontrollgruppe erhielten die Patienten leitliniengerecht [4, 5] eine Standardtherapie mit Prasugrel über 12 Monate nach PCI zusätzlich zur Gabe von Acetylsalicylsäure. Die Dosierung von Prasugrel betrug 10 mg/Tag oral (p.o.). Patienten, die älter als 75 Jahre waren oder ein Körpergewicht < 60 kg hatten, erhielten eine reduzierte Prasugrel-Dosis von 5mg/Tag oral. Die Dosierung von Acetylsalicylsäure betrug 80-325 mg/Tag p.o.

Bei dem individualisierten Therapieschema der Monitoring-Gruppe erfolgte in der ersten Woche nach Entlassung die Gabe von Prasugrel zusätzlich zu der Gabe von Acetylsalicylsäure, in der zweiten Woche erfolgte dann die Umstellung auf Clopidogrel 75 mg/Tag oral.

### 3.3. Studienablauf

Am Tag vor oder am Tag der Entlassung erfolgte mit der Randomisierung in einen der Studienarme die Aufnahme in die TROPICAL-ACS-Hauptstudie sowie in die Genotypisierungssubstudie.

Die Abbildung 9 stellt den Studienablauf dar.

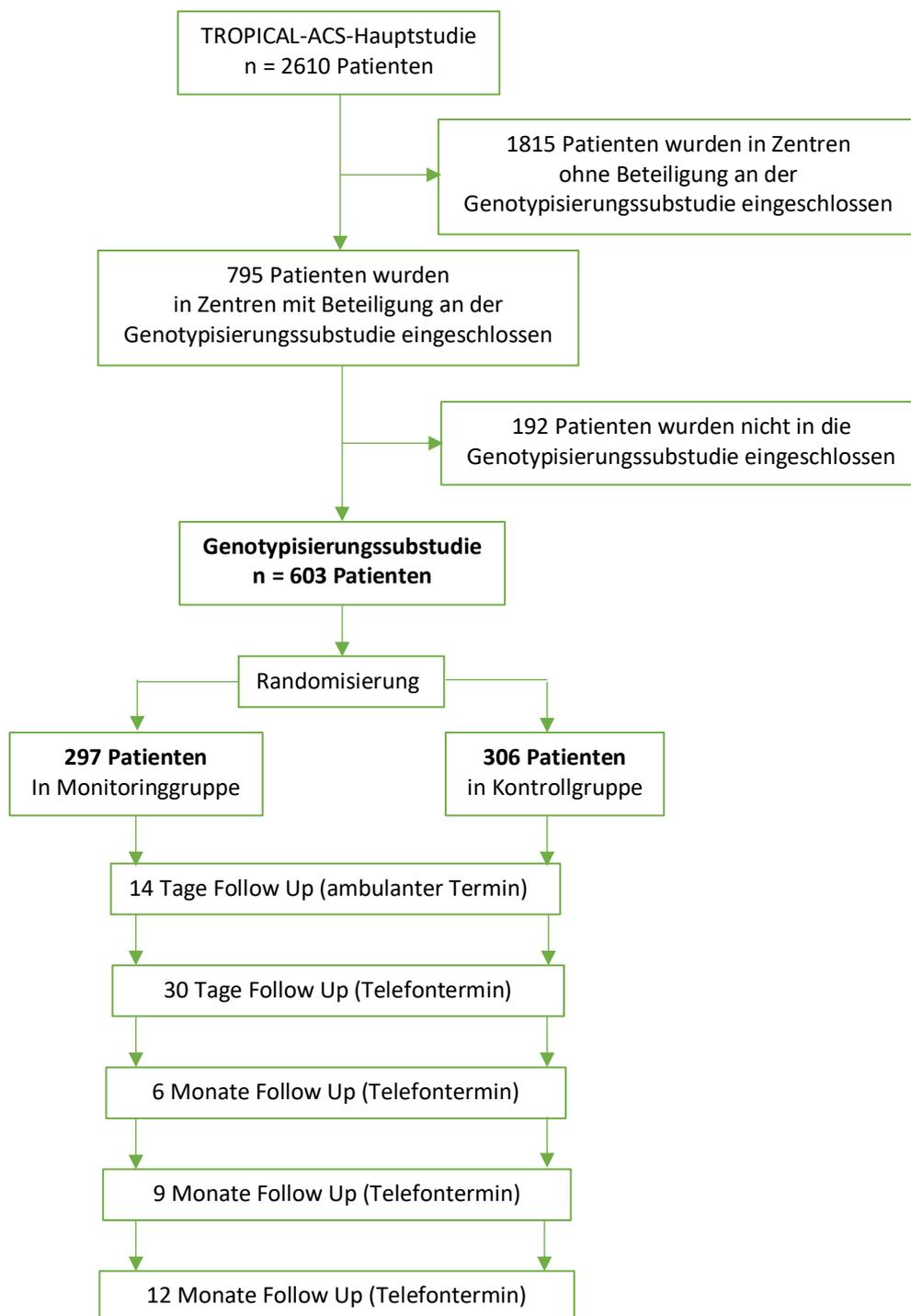


Abbildung 9: Studienablauf der Genotypisierungssubstudie

Am Tag der Randomisierung erfolgte eine Blutentnahme zur Durchführung eines Plättchenfunktionstests unter Prasugreltherapie mittels Multiplate-Analyser. Vor Entlassung wurde mittels Wangenabstrich eine genetische Testung auf die loss-of-function Allele (LoF)

CYP2C19\*2 und CYP2C19\*3 und das gain-of-function Allel (GoF) CYP2C19\*17 mittels Spartan RX der Firma Spartan Bioscience Inc., Ontario, Kanada durchgeführt.

Basisdaten wie Vitalparameter, 12-Kanal-EKG, Routine-Blutentnahme und PCI-assoziierte Daten wurden bereits vor Randomisierung nach dem Standard des jeweiligen Studienzentrums erhoben. Bei Frauen im gebärfähigen Alter wurde zudem zum Ausschluss einer Schwangerschaft ein Schwangerschaftstest durchgeführt.

Zwei Wochen nach Entlassung wurde in einem ambulanten Follow-Up Termin ein Plättchenfunktionstest (PFT) mittels Multiplate Analyzer als Bedside Test durchgeführt. Der PFT erfolgte in beiden Gruppen, hatte aber in der Kontrollgruppe keinerlei Einfluss auf die Therapie.

In der Monitoringgruppe hingegen wurde die weitere Therapie an den PFT angepasst. Bei einem Plättchenaggregationswert  $< 46$  Units, der ein gutes Ansprechen auf Clopidogrel anzeigt, wurde für die restliche Therapiedauer von insgesamt 12 Monaten weiterhin Clopidogrel gegeben. Bei einem Plättchenaggregationswert  $\geq 46$  Units, also dem Vorliegen eines HPR-Status, erfolgte die Umstellung zurück auf Prasugrel.

Zudem wurden bei diesem Termin Vitalparameter wie Blutdruck und Herzfrequenz und die aktuelle Begleitmedikation erhoben.

Bei Entlassung wurden den Patienten die Studienmedikamente für die ersten 14 Tage mitgegeben, um eine lückenlose Medikamenteneinnahme zu gewährleisten. Die Verpackung der Medikamente erfolgte durch die Apotheke des Klinikums der Universität München, Campus Großhadern.

Die Patienten erhielten zwei Boxen, die mit Woche 1 und Woche 2, sowie dem Namen des jeweils enthaltenen Medikaments und der Dosierung beschriftet waren. Box 1 enthielt Prasugrel in der dem Patienten entsprechenden Dosierung, Box 2 enthielt in der Kontrollgruppe weiterhin Prasugrel, in der Monitoringgruppe Clopidogrel. Die Einnahme der ersten Tablette der Studienmedikamente erfolgte am Tag nach Entlassung. Zudem erhielten die Patienten drei zusätzliche Tabletten in der zweiten Box, um eine flexiblere Terminvereinbarung für den ambulanten Termin nach zwei Wochen und damit eine bessere Compliance der Patienten zu ermöglichen.

Die konsequente Tabletteneinnahme wurde beim ambulanten Termin einerseits über einen Fragebogen, aber auch durch die Kontrolle der mitgebrachten Medikamentenboxen überprüft. Nach dem ambulanten Termin wurde eine Empfehlung für den niedergelassenen

behandelnden Arzt über die weitere medikamentöse Therapie je nach Ergebnis des Multiplate Analyzers mitgeben.

Weitere Follow-Up-Termine erfolgten per Telefonanruf nach 30 Tagen, sowie nach sechs und 12 Monaten. Hier wurde die Compliance des Patienten sowie das Auftreten unerwünschter Ereignisse per standardisiertem Fragebogen abgefragt und erhoben (siehe Anhang). Falls Studienendpunkte erreicht wurden oder unerwünschte Ereignisse wie Blutungen aufgetreten waren, wurden sämtliche Quellendaten zur weiteren Analyse eingeholt.

### 3.4. Messgeräte

#### 3.4.1. Multiplate Analyzer



Abbildung 10: Multiplate Analyzer [91]

Mit dem Multiplate Analyzer der Firma Roche Diagnostics steht ein einfaches, schnelles, standardisiertes und zuverlässiges Testverfahren zur Thrombozytenfunktionstestung zur Verfügung. Die Messung erfolgt über Vollblut. Die Dauer pro Test beträgt 10 Minuten, sodass bei fünf Kanälen bis zu 30 Tests pro Stunde durchgeführt werden können [91].

Das Signal für die Messung entsteht durch die Adhäsion von aktivierten Thrombozyten an die Oberfläche der Sensordrähte, was eine Erhöhung des elektrischen Widerstands zur Folge hat. Als integrierte Qualitätskontrolle bei jeder Messung enthält jede Testzelle zwei Sensorenpaare (multiple electrode aggregometry = MEA). Die Aggregation der Thrombozyten wird quantitativ in Units angegeben.

Die Impedanzaggregometrie ist bei der Thrombozytenaggregationsdiagnostik eine Standardmethode und in der klinischen Praxis bereits weit verbreitet [92-94]. Eine aufwändige Präanalytik wie bei anderen Messmethoden entfällt hier [58].

Diese Methode und insbesondere der hohe prädiktive Wert bezüglich des Outcomes von ACS-Patienten, die mit einer PCI behandelt wurden, wurde bereits in vielen Studien untersucht [48, 50, 59, 60, 63, 95-98].

Ein HPR-Status war mit einer erhöhten Rate an schweren kardialen Komplikationen verbunden [50, 99]

#### 3.4.2. Spartan RX



Abbildung 11: Spartan RX [100]

In der Genotypisierungssubstudie erfolgte die Analyse des CYP2C19-Gens mittels Spartan RX der Firma Spartan Bioscience Inc., Ontario, Kanada. Dieses Gerät basiert auf einer Polymerase-Ketten Reaktion und steht als Bedside-Test zur Verfügung. Hierfür wird lediglich ein Wangenabstrich benötigt. Dieses Testsystem gewährleistet eine schnelle und einfache Durchführung durch die bereits ins System integrierte Extraktion und Vervielfältigung der DNA des Wangenabstrichs. Die Detektion der Genotypen erfolgt mittels PCR und Fluoreszenz. Spartan RX bietet eine rasche und zuverlässige Methode, um CYP2C19-Mutationen zu detektieren, die Analyse dauert 60 Minuten [100].

Es wurde eine hohe Übereinstimmung verglichen mit dem Goldstandard der DANN-Sequenzierung mit einer Sensitivität von 100 % und einer Spezifität von 99.4 % nachgewiesen [101].

### 3.5. Studienendpunkte

Ziel der Genotypisierungssubstudie war es, zu untersuchen, ob ein Zusammenhang zwischen CYP2C19 Genotyp und der Plättchenreaktivität unter Therapie, dem Phänotyp, besteht. Die weiteren Endpunkte entsprachen den Endpunkten der TROPICAL-ACS-Hauptstudie.

Als primärer Endpunkt der TROPICAL-ACS-Hauptstudie wurde eine Kombination aus kardiovaskulärem Tod, Myokardinfarkt, Schlaganfall und höhergradigen Blutungen  $\geq$  Grad 2 nach den Bleeding Academic Research Consortium-Kriterien (BARC-Kriterien) definiert [102]. Die Einteilung der Blutungsereignisse nach den BARC-Kriterien kann Tabelle 3 entnommen werden.

Typ 0	Keine Blutung
Typ 1	Nicht behandlungsbedürftige Blutung, die keine zusätzlichen Untersuchungen, Hospitalisierung oder medizinische Behandlung benötigt
Typ 2	Jedes Zeichen einer klinisch manifesten, behandlungsbedürftigen Blutung (z. B. größere Blutung als für die klinische Situation zu erwarten; auch Blutung, die nur mittels Bildgebung identifiziert wurde), die nicht zu den Typen 3, 4 oder 5 gehört, aber mindestens eins der folgenden Kriterien erfüllt: (1) benötigt eine nicht-chirurgische medizinische Intervention, (2) führt zu einer Hospitalisierung oder intensiveren Behandlung oder (3) braucht dringende Abklärung
Typ 3 Typ 3a	Klinisch manifeste Blutung mit einem Hämoglobinabfall von 3 bis < 5 g/dL (wenn der Hämoglobinabfall mit der Blutung zusammenhängt) Bluttransfusion bei klinisch manifester Blutung
Typ 3b	Klinisch manifeste Blutung mit einem Hämoglobinabfall von $\geq$ 5 g/dL, (wenn der Hämoglobinabfall mit der Blutung zusammenhängt) Herzbeutelamponade Blutung, die eine chirurgische Intervention benötigt (ausgenommen dental, nasal, Haut oder Hämorrhoiden) Blutung, die intravenöse vasoaktive Substanzen benötigt
Typ 3c	Intrakranielle Blutung (ausgenommen Mikroblutungen und hämorrhagische Infarzierung; einschließlich intraspinale Blutungen) Subkategorien, bestätigt durch Autopsie, Bildgebung oder Lumbalpunktion Intraokulare Blutung, die das Sehen beeinträchtigt
Typ 4	Blutung nach einer Koronararterien Bypass-Operation: Perioperative intrakranielle Blutung innerhalb von 48 Stunden Re-Operation nach Sternotomie-Verschluss zwecks Blutungskontrolle

	Transfusion von $\geq 5$ Einheiten Vollblut oder Erythrozyten-Konzentrat innerhalb von 48 Stunden Fördermenge der Thoraxdrainage von $\geq 2$ L innerhalb von 24 Stunden Falls eine Blutung nach Bypass-Operation nicht als mindestens Typ 3-Blutung auftritt, wird sie nicht als Blutungsereignis definiert
Typ 5	Fatale Blutung
Typ 5a	Wahrscheinliche fatale Blutung: keine Autopsie oder Bestätigung mittels Bildgebung, aber Kausalität anzunehmen
Typ 5b	Gesicherte fatale Blutung: klinisch manifeste Blutung oder Autopsie oder Bestätigung mittels Bildgebung

Tabelle 3: Blutungsereignisse nach den BARC-Kriterien [102]

Als sekundäre Endpunkte wurden Blutungen  $\geq$  Grad 2 nach den BARC-Kriterien [102], eine koronare Stentthrombose nach den Academic Research Consortium-Kriterien (ARC), eine dringliche Ischämie-getriggerte Revaskularisation sowie Tod jeglicher Ursache definiert [103]. Die Einteilung der koronaren Stentthrombose nach den ARC-Kriterien kann Tabelle 4 entnommen werden [103]. Das Auftreten einer Stentthrombose wird hierbei einerseits nach dem zeitlichen Auftreten und andererseits nach der Wahrscheinlichkeit eingeteilt. Unter einer frühen Stentthrombose wird das Auftreten 0 bis 30 Tage nach Stentimplantation verstanden, späte Stentthrombosen treten zwischen 31 Tagen und einem Jahr nach Stentimplantation auf, sehr späte Stentthrombosen erst nach über einem Jahr.

Definitive Stentthrombose	Angiographischer Nachweis eines okklusiven (TIMI 0 oder 1) oder nicht okklusiven Thrombus (im Stent oder $\pm 5$ mm proximal oder distal des Stents) bei Vorliegen mindestens eines der folgenden Kriterien, die innerhalb eines 48 Stunden Intervalls aufgetreten sind: <ul style="list-style-type: none"> <li>- Akute Herzbeschwerden in Ruhe</li> <li>- Neue ischämische EKG-Veränderungen</li> <li>- Typischer Anstieg und Abfall von kardialen Biomarkern</li> </ul> Pathologischer Nachweis <ul style="list-style-type: none"> <li>- eines neu entstandenen Thrombus im Stent bei der Autopsie</li> <li>- eines Thrombus im Thrombektomiematerial</li> </ul>
Wahrscheinliche Stentthrombose	Jeder ungeklärte Todesfall innerhalb von 30 Tagen nach Stentimplantation

	Jeder Myokardinfarkt im Versorgungsbereich des implantierten Stents, wenn keine angiographische Bestätigung vorliegt und eine offensichtliche andere Ursache fehlt
Mögliche Stentthrombose	Jeder ungeklärte Todesfall ab 30 Tage nach Stentimplantation

Tabelle 4: Stentthrombose nach Wahrscheinlichkeit nach den ARC-Kriterien [103]

### 3.6. Statistische Auswertung

Alle Variablen sind in dieser Arbeit als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung oder als absolute Zahl mit entsprechenden Prozentsätzen dargestellt. Normalverteilte kontinuierliche Daten wurden mittels einfaktorieller Varianzanalyse (oneway ANOVA) untersucht. Der Chi-Quadrat-Test wurde verwendet, um binäre und andere kategorische Variablen zu vergleichen. Für kontinuierliche Daten wurde der zweiseitige ungepaarte Wilcoxon-Test oder der t-Test verwendet. Die Korrelation zwischen primären und sekundären Endpunkten der TROPICAL-ACS-Studie und dem Trägerstatus von CYP2C19\*2, CYP2C19\*3 und CYP2C19\*17 wurde durch monovariante Cox proportionale Modelle untersucht. Um eine Assoziation zwischen CYP2C19\*2 Trägerstatus und ADP-induzierter Plättchenaggregation zu untersuchen wurde ein multivariates lineares Regressionsmodell verwendet. Unabhängige Variablen waren CYP2C19\*2 Trägerstatus und Alter, Geschlecht, Body Mass Index, Diabetes mellitus und Rauchen. Abweichungen zwischen beobachteter und erwarteter Häufigkeit von Allel-Varianten und Genotypen von CYP2C19\*2 und CYP2C19\*17 wurden mittels Hardy-Weinberg-Equilibriums-Berechnungen untersucht [104]. Für alle statistischen Auswertungen wurde ein p-Wert von  $\leq 0.05$  als signifikant angesehen. Die Daten wurden mit dem Programm R Version 3.3.0 ausgewertet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Studienpopulation

In die TROPICAL-ACS-Studie wurden zwischen Dezember 2013 und Mai 2016 an 33 Studienzentren 2610 Patienten eingeschlossen. Von diesen wurden 603 Patienten an den vier Studienzentren, die an der Genotypisierungssubstudie teilnahmen, zeitgleich zum Einschluss in die Hauptstudie auch in die Genotypisierungssubstudie aufgenommen. Von den Teilnehmern der Genotypisierungssubstudie wurden 306 Patienten (51%) in die Kontrollgruppe randomisiert und 297 Patienten (49%) in die Monitoringgruppe.

In der Genotypisierungssubstudie lag das durchschnittliche Alter der Patienten bei 59.8 Jahren in der Kontrollgruppe und bei 59.4 Jahren in der Monitoringgruppe. In der Kontrollgruppe betrug der Anteil an Frauen 18.6%, in der Monitoringgruppe 18.5%. Als häufigster Risikofaktor war bei 55.9% der Patienten der Kontrollgruppe und 53.5% der Patienten der Monitoringgruppe eine arterielle Hypertonie vertreten.

Weitere Basischarakteristika können Tabelle 5 entnommen werden. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Basischarakteristika zwischen Kontroll- und Monitoringgruppe.

	<b>Kontrollgruppe n = 306</b>	<b>Monitoringgruppe n = 297</b>	<b>P-Wert</b>
Alter (Jahre)	59.8 (10.2)	59.4 (10.2)	0.63
Frauen	57 (18.6)	55 (18.5)	1.00
Body-Mass-Index (kg/m <sup>2</sup> )	27.5 (4.1)	27.8 (4.4)	0.27
Kaukasier	301 (98.4)	294 (99.0)	0.80
PCI in der Vorgeschichte	43 (14.1)	34 (11.4)	0.39
Koronararterien Bypass-Operation in der Vorgeschichte	5 (1.6)	11 (3.7)	0.13
Myokardinfarkt in der Vorgeschichte	31 (10.1)	29 (9.8)	0.89
KHK in der Vorgeschichte	43 (14.1)	38 (12.8)	0.72
Niereninsuffizienz	10 (3.3)	12 (4.0)	0.67
Diabetes mellitus	47 (15.4)	50 (16.8)	0.66
Aktueller Nikotinabusus	125 (40.8)	138 (46.5)	0.38
Arterielle Hypertension	171 (55.9)	159 (53.5)	0.85
Hyperlipidämie	134 (43.8)	115 (38.7)	1.00
KHK in Familienanamnese	85 (27.8)	76 (25.6)	0.58
Hämoglobin (g/dL)	15.1 (11.0)	15.2 (9.9)	0.91
Kreatinin (mg/dL)	1.0 (0.2)	1.0 (0.7)	0.27
<b>Vormedikation</b>			
Acetylsalicylsäure	72 (23.5)	62 (20.9)	0.49
ADP-Rezeptorantagonist	10 (3.3)	11 (3.7)	0.83
Betablocker	76 (24.8)	73 (24.6)	1.00
ACE-Hemmer	62 (20.3)	67 (22.6)	0.55
Angiotensin <sub>1</sub> -Rezeptor-Antagonist	45 (14.7)	37 (12.5)	0.48
Calciumantagonist	19 (6.2)	28 (9.4)	0.17
Protonenpumpeninhibitor	30 (9.8)	30 (9.8)	0.89
Statin	60 (19.6)	61 (20.5)	0.84

Tabelle 5: Basischarakteristika der Studiengruppen  
Die Daten sind angegeben in n (%) oder Mittelwert (SD)

In Tabelle 6 sind die Daten der angiographischen Intervention dargestellt, auch hier unterschieden sich die beiden Studienarme nicht. In der Kontrollgruppe wurde bei 52% der Patienten die PCI aufgrund eines STEMI durchgeführt, in der Monitoringgruppe bei 50.2%.

	<b>Kontrollgruppe</b> n = 306	<b>Monitoringgruppe</b> n = 297	<b>P-Wert</b>
Grund der PCI			0.68
STEMI	159 (52.0)	149 (50.2)	
NSTEMI	147 (48.0)	148 (49.8)	
Zugangsweg			0.23
Brachial	2 (0.7)	0 (0.0)	
Femoral	210 (68.6)	194 (65.3)	
Radial	94 (30.7)	103 (34.7)	
Anzahl der erkrankten Koronararterien			0.33
1	124 (40.5)	103 (34.7)	
2	82 (26.8)	89 (30.0)	
3	100 (32.7)	105 (35.4)	
Verwendetes Antikoagulanz bei PCI			0.76
Bivalirudin	23 (7.5)	25 (8.4)	
Niedermolekulares Heparin	1 (0.3)	2 (0.7)	
Unfraktioniertes Heparin	282 (92.2)	270 (90.9)	
Verwendung von Glycoprotein IIb/IIIa Antagonisten	14 (4.6)	17 (5.7)	0.58
TIMI Fluss-Grad vor PCI			0.78
0	113 (36.9)	111 (37.4)	
1	41 (13.4)	35 (11.8)	
2	78 (25.5)	70 (23.6)	
3	74 (24.2)	81 (27.3)	
Mittels PCI behandelte Koronararterien			0.07
Linker Hauptstamm	2 (0.7)	9 (3.0)	
Ramus intraventricularis anterior	141 (46.1)	133 (44.8)	
Ramus circumflexus	52 (17.0)	64 (21.5)	
A. coronaria dextra	106 (34.6)	89 (30.0)	
Bypass	5 (1.6)	2 (0.7)	
AHA / ACC Klassifikation der Stenose			0.63
A	17 (5.6)	14 (4.7)	
B1	67 (21.9)	67 (22.6)	
B2	68 (22.2)	78 (26.3)	
C	154 (50.3)	138 (46.5)	

Ostiumläsion	27 (8.8)	25 (8.4)	0.89
Bifurkationsläsion	41 (13.4)	43 (14.5)	0.73
Stenttyp			0.63
DES	267 (87.3)	267 (89.9)	
BMS	0 (0.0)	1 (0.3)	
BVS	36 (11.8)	29 (9.8)	
Keiner (nur PTCA)	3 (1.0)	0 (0.0)	
TIMI Fluss-Grad nach PCI			0.49
2	8 (2.6)	11 (3.7)	
3	298 (97.4)	286 (96.3)	

Tabelle 6: Charakteristika der angiographischen Intervention  
Die Daten sind angegeben in n (%).

Bei 90 Patienten (30%) der Monitoringgruppe war aufgrund eines HPR-Status im Multiplate Analyser entsprechend des Studienprotokolls an Tag 14 nach Entlassung eine Umstellung auf Prasugrel notwendig.

#### 4.2. Zusammenhang zwischen Genotyp und Phänotyp

In der Genotypisierungssubstudie wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen CYP2C19 Genotyp und der Plättchenreaktivität unter Therapie, dem Phänotyp, besteht.

In der Analyse der Genotypen fanden sich 186 Patienten (31%) mit LoF-Allelen. Die Mehrzahl der Patienten waren Träger der CYP2C19\*2-Variante, lediglich drei Patienten waren Träger der CYP2C19\*3-Variante. Wegen der zu geringen Anzahl an CYP2C19\*3-Trägern wurden die Daten dieser Patienten nicht gesondert untersucht.

169 Patienten (28%) waren heterozygote Träger für das LoF-Allel CYP2C19\*2 und 17 Patienten (3%) homozygote Träger.

Es gab 232 Patienten (38%), die Träger der CYP2C19\*17 GoF-Mutation waren. 213 Patienten (35%) waren heterozygote und 19 Patienten (3%) homozygote Träger für das GoF-Allel CYP2C19\*17. Alle Genotyphäufigkeiten des CYP2C19\*2 und CYP2C19\*17 Polymorphismus waren im Hardy-Weinberg-Gleichgewicht [104].

In der Monitoringgruppe differierte die Plättchenreaktivität unter Clopidogrel-Therapie signifikant in Abhängigkeit vom CYP2C19\*2-Genotyp ( $p < 0.001$ ). In dieser Gruppe wiesen homozygote Träger der CYP2C19\*2-LoF-Mutation die höchsten Werte bei der ADP-induzierten Plättchenaggregation im Multiplate Analyser auf und hatten somit eine ineffektive

Plättchenhemmung durch Clopidogrel. Die niedrigsten Werte – und somit eine gute Plättchenhemmung durch Clopidogrel – wurden bei homozygoten Trägern des Wildtypen gefunden. Der Mittelwert der Plättchenreaktivität bei homozygoten Wildtyp-Trägern in der Monitoringgruppe lag bei 37.3 Units, der für homozygote CYP2C19\*2-Mutationsträger bei 58.1 Units und der für heterozygote Wildtyp/\*2-Träger bei 44.8 Units (siehe Abbildung 12, B).

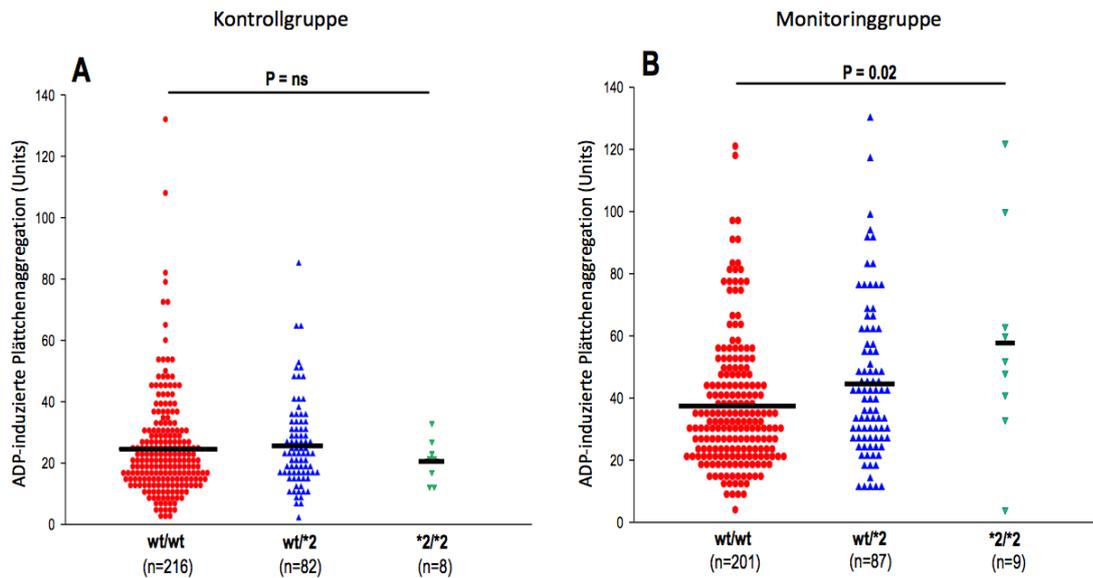


Abbildung 12: ADP-induzierte Plättchenaggregation und CYP2C19\*2-Trägerstatus

ADP-induzierte Plättchenaggregationswerte in der Kontrollgruppe (A) und Monitoringgruppe (B) an Tag 14 nach Entlassung. Wildtyp (wt/wt) versus heterozygote (wt/\*2) versus homozygote (\*2/\*2) CYP2C19\*-Träger. Der schwarze Balken entspricht dem Mittelwert der Plättchenreaktivität.

Auch in Bezug auf den GoF-CYP2C19\*17 Genotypen fanden sich in der Monitoringgruppe Unterschiede in der Plättchenhemmung (p=0.05). Die effektivste Plättchenhemmung mit den niedrigsten ADP-induzierten Plättchenaggregationswerten fand sich bei homozygoten Trägern der CYP2C19\*17-GoF-Mutation mit einem Mittelwert von 31.4 Units. Der Mittelwert der Plättchenreaktivität für homozygote Wildtyp-Träger lag bei 42.0 Units, der für heterozygote Wildtyp/\*17-Träger bei 37.7 Units (Abbildung 13, B).

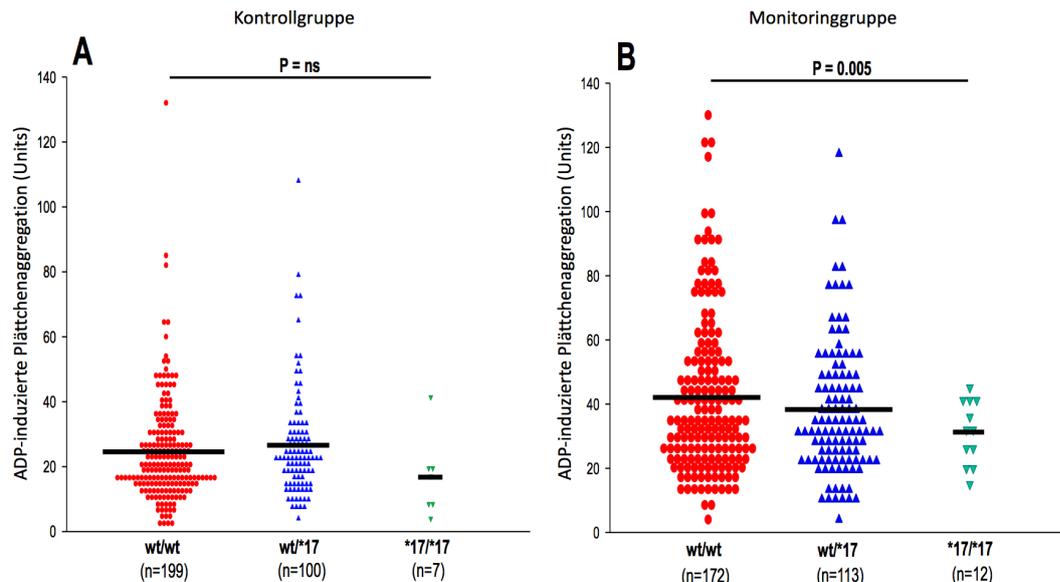


Abbildung 13: ADP-induzierte Plättchenaggregation und CYP2C19\*17 Trägerstatus

ADP-induzierte Plättchenaggregationswerte in der Kontrollgruppe (A) und Monitoringgruppe (B) an Tag 14 nach Entlassung. Wildtyp (wt/wt) versus heterozygote (wt/\*17) versus homozygote (\*17/\*17) CYP2C19\*-Träger. Der schwarze Balken entspricht dem Mittelwert der Plättchenreaktivität.

In der Kontrollgruppe bestand kein Zusammenhang zwischen der Plättchenreaktivität unter Prasugrel Therapie und dem Trägerstatus der CYP2C19\*2-Mutation ( $p=0.90$ ) (siehe Abbildung 12, A) und CYP2C19\*17-Mutation ( $p=0.74$ ) (siehe Abbildung 13, A).

Eine ineffektive Plättchenhemmung unter Therapie im Multiplate Analyzer im Sinne eines HPR-Status mit einem Plättchenaggregationswert  $\geq 46$  Units [59, 60] wurde bei 90 Patienten der Monitoringgruppe (30%) und 28 Patienten der Kontrollgruppe (9%) nachgewiesen.

In der Monitoringgruppe gab es einen signifikanten Unterschied ( $p=0.007$ ) in der Rate der CYP2C19\*2-Träger bei Patienten mit HPR-Status versus no-HPR-Status. 43% der Patienten mit HPR-Status, also einer insuffizienten Plättchenhemmung unter Clopidogrel, waren Träger von mindestens einem LoF CYP2C19\*2-Allel. Nur 28% der Patienten ohne HPR-Status wiesen mindestens eine LoF CYP2C19\*2-Mutation auf. Von den CYP2C19\*2-Trägern wiesen 40% einen HPR-Status im Multiplate Analyzer auf und mussten wieder auf Prasugrel umgestellt werden.

Von den Patienten, die Träger von mindestens einem LoF-Allel CYP2C19\*2 waren und kein GoF-Allel CYP2C19\*17 trugen, mussten 46% auf Prasugrel aufgrund eines HPR-Status im Multiplate Analyzer umgestellt werden. Von den Patienten, die keine Mutationen trugen, waren es nur 27% ( $p=0.027$ ). Dies ist in Abbildung 14 A dargestellt. Patienten mit mindestens

einer CYP2C19\*17-Mutation mussten in etwa gleich oft umgestellt werden wie Patienten ohne mutierte Allele.

Patienten mit zwei LoF-Allelen mussten in 67% der Fälle aufgrund eines HPR-Status auf Prasugrel umgestellt werden (positiver prädiktiver Wert 0.67, negativer prädiktiver Wert 0.71). Im Gegensatz dazu musste von den Patienten mit zwei GoF-Allelen kein einziger umgestellt werden (positiver prädiktiver Wert 1.00, negativer prädiktiver Wert 0.32), wie in Abbildung 14 B zu erkennen. In einer multivariaten Analyse erwies sich ein CYP2C19\*2 Trägerstatus als ein starker und unabhängiger Prädiktor für die Plättchenreaktivität ( $p=0.002$ ).

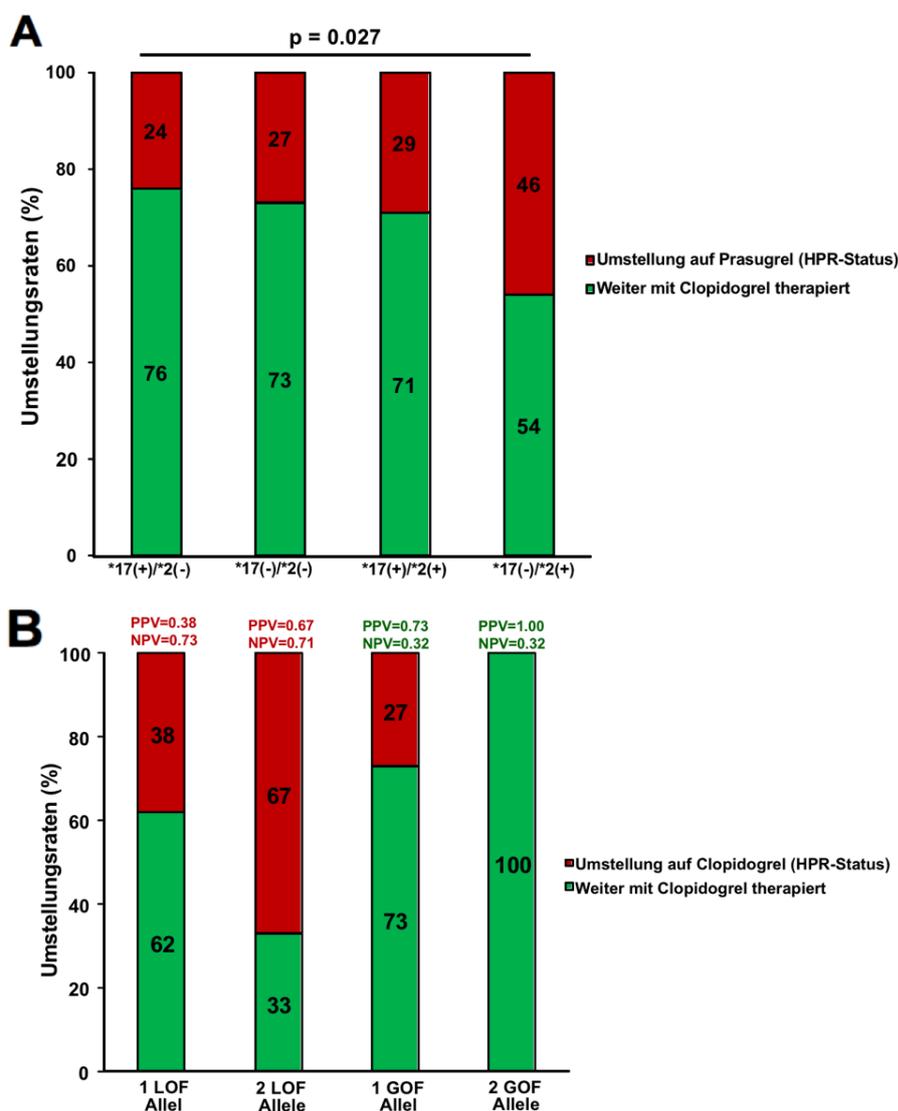


Abbildung 14: Genotyp und Umstellungsrate in der Monitoringgruppe

Umstellung der plättchenhemmenden Therapie in der Monitoringgruppe in Abhängigkeit vom Genotypen.

A: Gruppe 1: Patienten mit mindestens einem \*17-Allel und keinem \*2-Allel, Gruppe 2: Patienten mit keinem \*17-Allel und keinem \*2-Allel, Gruppe 3: Patienten mit mindestens einem \*17-Allel und mindestens einem \*2-Allel, Gruppe 4: Patienten mit keinem \*17-Allel und mindestens einem \*2-Allel

B: PPV = positiver prädiktiver Wert, NPV = negativer prädiktiver Wert

### 4.3. Klinische Ergebnisse

In der 12-monatigen Nachbeobachtungsphase wurden in der Population der Genotypisierungssubstudie insgesamt 53 primäre Studienendpunkte der Hauptstudie erreicht. Dieser primäre Endpunkt war eine Kombination aus kardiovaskulärem Tod, Myokardinfarkt, Schlaganfall oder höhergradiger Blutung  $\geq 2$  nach BARC. Hiervon traten 27 Fälle in der Kontrollgruppe und 26 Fälle in der Monitoringgruppe auf, wie in Tabelle 7 dargestellt.

	<b>Kontrollgruppe (n=306)</b>	<b>Monitoring-Gruppe (n=297)</b>	<b>P-Wert</b>	<b>Hazard Ratio (95% CI)</b>
Primärer Endpunkt (kardiovaskulärer Tod, Myokardinfarkt, Schlaganfall, Blutung BARC $\geq 2$ )	27 (8.8)	26 (8.6)	0.97	0.99 (0.58-1.70)
Kombinierte ischämische Ereignisse (kardiovaskulärer Tod, Myokardinfarkt, Schlaganfall)	7 (2.3)	9 (3.0)	0.58	1.32 (0.49-3.54)
Wichtigster sekundärer Endpunkt (Blutung BARC $\geq 2$ )	21 (6.9)	18 (6.1)	0.71	0.89 (0.47-1.66)

Tabelle 7: Klinische Ergebnisse nach 12 Monaten Follow Up  
Die Daten sind dargestellt als n (%).

In der Monitoringgruppe zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Trägerstatus des LoF-Allels CYP2C19\*2 und dem Auftreten von ischämischen Ereignissen ( $p=0.13$ ). Es bestand auch kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Trägerstatus des GoF-Allels CYP2C19\*17 und dem Auftreten von höhergradigen Blutungen  $\geq 2$  nach den BARC-Kriterien ( $p=0.83$ ).

Auch in der Kontrollgruppe zeigte sich weder ein signifikanter Zusammenhang zwischen CYP2C19\*2-Trägerstatus und ischämischen Ereignissen noch zwischen CYP2C19\*17-Trägerstatus und Blutungsereignissen.

## 5. Diskussion

### 5.1. Stellenwert dieser Studie

Da ein früher Wechsel eines potenten P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten zu einem weniger potenten P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten innerhalb des ersten Jahres nach einer PCI aus verschiedenen Gründen weltweit praktiziert wird, ist es sinnvoll, ein entsprechendes Deeskalationsschema sowie Methoden zur Auswahl geeigneter Patienten zu etablieren [36, 37, 39, 105, 106].

Die Genotypisierungssubstudie ist die erste prospektive Studie, die den Stellenwert einer CYP2C19 Genotypisierung untersucht, um für ein Deeskalationsregime geeignete ACS-Patienten auszuwählen.

Im Rahmen der Studie konnte gezeigt werden, dass bei Patienten unter Clopidogreltherapie ein Trägerstatus für die LoF-Mutation CYP2C19\*2 und die GoF-Mutation CYP2C19\*17 im Spartan RX mit der Plättchenreaktivität unter Therapie im Multiplate Analyzer korreliert. Zudem haben wir Hinweise auf einen Gen-Dosis-Effekt gefunden. Die höchsten Plättchenaggregationswerte im Multiplate Analyzer fanden wir bei homozygoten LoF CYP2C19\*2-Trägern. Die niedrigsten Werte und damit die effektivste Plättchenhemmung bei homozygoten GoF CYP2C19\*17-Trägern.

In multivariaten Analysen erwies sich ein CYP2C19\*2-Trägerstatus im Spartan RX als ein starker und unabhängiger Prädiktor für die Plättchenreaktivität im Multiplate Analyzer. Insofern könnte eine CYP2C19 Genotypisierung eine wertvolle Methode sein, eine thrombozytenaggregationshemmende Therapie zu steuern und Patienten auszuwählen, die für ein Deeskalationsschema in Frage kommen.

Da in der Monitoringgruppe bei entsprechenden Werten im PFT, wie im Studienprotokoll vorgegeben, eine Therapieanpassung durchgeführt werden musste, konnten wir keinen zusätzlichen positiven Effekt der Genotypisierung feststellen, um ischämische Ereignisse oder Blutungsereignisse vorherzusagen.

Im Rahmen der Genotypisierungssubstudie wurde die bislang größte Population von ACS-Patienten mittels Spartan RX typisiert. Im Rahmen der Studie konnte die Praktikabilität einer Genotypisierung als Bedside-Tests bei ACS-Patienten bewiesen werden.

2010 brachte die U.S. Food and Drug Association (FDA) eine Warnung für Clopidogrel heraus, dass Clopidogrel bei einigen Patienten abhängig vom Genotyp eine verminderte Wirkung hätte [107]. Daraufhin wurde eine CYP2C19 Genotypisierung bereits in einigen Kliniken in den

klinischen Alltag integriert [108-115]. Mit der Neueinführung eines schnellen und verlässlichen Bedside-Tests zur CYP2C19 Genotypisierung steht ein innovatives Verfahren zur Verfügung, das behandelnden Ärzten bei der individualisierten Anpassung einer plättchenhemmenden Therapie helfen kann [101, 116, 117].

Bei der Durchführung der Hauptstudie mussten Patienten der Monitoringgruppe, die ein Deeskalationsschema erhielten mit einem frühen Wechsel von Prasugrel zu Clopidogrel, im primären Krankenhausaufenthalt intensiv über die notwendige Medikamentenumstellung nach einer Woche nach Entlassung aufgeklärt werden. Zudem mussten die Patienten zuverlässig zu dem ambulanten Vorstellungstermin nach zwei Wochen für den PFT im Multiplate Analyzer erscheinen. Insgesamt ist dieses Vorgehen zeitaufwendig und nur bei guter Compliance des Patienten durchzuführen. Insofern scheint ein Test, der bereits im primären Krankenhausaufenthalt Patienten identifizieren kann, die für ein Deeskalationsschema in Frage kommen, äußerst wertvoll. Insbesondere in Kliniken, in denen eine CYP2C19-Genotypisierung bereits in den klinischen Alltag integriert wurde, wird eine Genotypisierung zur Leitung eines individualisierten Therapieschemas eine immer größere Rolle spielen.

In der Genotypisierungssubstudie konnte ein Zusammenhang zwischen CYP2C19-Genotyp und Phänotyp im Sinne der Plättchenreaktivität im Multiplate Analyzer nachgewiesen werden. Auch in der TRITON-TIMI-38-Studie wurde von Mega et al. ein Zusammenhang zwischen einem CYP2C19\*2 Trägerstatus und höheren Aggregationswerten in der Impedanzaggregometrie beschrieben [65]. In einer anderen Studie mit > 1500 Patienten wurde ein signifikant erniedrigter Aggregationswert für CYP2C19\*17 Trägerstatus nachgewiesen [84]. Shuldiner et al. beschrieben ebenfalls einen Zusammenhang zwischen dem CYP2C19 Genotypen und der Plättchenreaktivität unter Clopidogrel [20].

In der Kontrollgruppe konnten wir bei den Patienten, die mit Prasugrel behandelt wurden, keinen Zusammenhang zwischen der Plättchenreaktivität und einem CYP2C19\*2 bzw. CYP2C19\*17 Trägerstatus nachweisen. Bei großen Subgruppenanalysen der PLATO- [71] und TRITON-TIMI-38-Studie [19] wurden ähnliche Ergebnisse erhoben. Hier wurde gezeigt, dass der CYP2C19 Genotyp keinen Einfluss hatte auf die Aggregationswerte, die Metabolisierung der Medikamente, oder die Häufigkeit von kardiovaskulären Ereignissen bei Patienten, die mit Prasugrel oder Ticagrelor behandelt wurden.

In der Monitoringgruppe mussten 67% der Patienten, die Träger von zwei LoF CYP2C19\*2 Varianten waren, aufgrund eines HPR-Status im Multiplate Analyzer zurück auf Prasugrel umgestellt werden. Bei Patienten, die Träger von zwei GoF CYP2C19\*17 Varianten waren, musste dagegen kein einziger Patient umgestellt werden. Der positive prädiktive Wert eines homozygoten CYP2C19\*17 Trägerstatus für eine Erhaltungstherapie mit Clopidogrel lag daher bei 1.00.

Insofern kann eine Genotypisierung bereits während des primären Krankenhausaufenthalts eine wichtige und wertvolle Methode sein, um Patienten zu identifizieren, die für eine Therapie mit einem weniger potenten P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten in Frage kommen bzw. eben eher nicht in Frage kommen.

Die Rate der Patienten der Monitoringgruppe, die aufgrund eines unzureichenden Ansprechens auf Clopidogrel auf Prasugrel umgestellt werden mussten und zugleich CYP2C19\*2-Träger waren, lag bei nur 43%, obwohl es statistisch eine gute Korrelation zwischen dem CYP2C19 Genotyp und der Plättchenreaktivität unter Therapie gab. In unserem Patientengut lag der positive prädiktive Wert eines homozygoten CYP2C19\*2 Trägerstatus für einen HPR-Status im Multiplate Analyzer bei 0.67. Nur 40% der homozygoten und heterozygoten LoF-CYP2C19\*2-Träger wiesen auch einen HPR-Status im Multiplate Analyzer und damit eine insuffiziente Plättchenhemmung unter Clopidogreltherapie auf. Daher ist die Genotypisierung allein für die Therapieentscheidung nicht ausreichend.

Dies passt zu dem Ergebnis anderer Studien, die feststellten, dass ein schlechtes Ansprechen auf Clopidogrel nur zum Teil auf den genetischen Polymorphismus von CYP2C19 zurückzuführen ist und dass andere Faktoren kumulativ einen großen Teil der Variation im Ansprechen auf Clopidogrel erklären [56].

Ein Faktor hierbei sind Unterschiede in der Resorptionsrate. Die Resorption von Clopidogrel wird durch das ABCB1-Gen über die ADP-abhängige P-Glykoprotein Pumpe beeinflusst [21]. Genetische Varianten wie ABCB1 C3435T und insbesondere homozygote Träger zeigten niedrigere Plasmaspiegel des aktiven Clopidogrel Metaboliten [118]. In der TRITON-TIMI-38-Studie waren 27% homozygote ABCB1 C3435T Träger. Diese hatten ein um 72% erhöhtes Risiko für ischämische Ereignisse [21] unter Clopidogrel Therapie. Unter Prasugrel-Therapie trat kein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse auf. Auch Simon et al. fanden 2009 ein erhöhtes Risiko für ischämische Ereignisse für homozygote ABCB1 C3435T Träger [67].

In der ARCTIC-GENE-Studie wurden mehr als 1300 Patienten für LoF und GoF CYP2C19 Varianten genotypisiert. Hier war der Genotyp assoziiert mit dem Ansprechen auf Clopidogrel im PFT, wies jedoch keine Assoziation zum klinischen Outcome auf [119]. Auch hier brachte eine Genotypisierung keinen zusätzlichen Vorteil gegenüber einem Plättchenfunktionstest.

Um die Frage nach einem Zusammenhang zwischen Genotyp und klinischen Ereignissen zu klären, gibt es mehrere Studien.

In der TRITON-TIMI-38-Studie konnte gezeigt werden, dass der Trägerstatus für eine LoF-Mutation mit einem erhöhten Risiko für ischämische Ereignisse und Stentthrombosen einher geht [65]. In einer Metaanalyse [70] fand sich eine erhöhte Hazard Ratio für kardiovaskuläre Ereignisse von 1.55 bei heterozygoten CYP2C19\*2-Trägern und eine Hazard Ratio von 1.76 bei homozygoten Trägern. 2009 konnten Sibbing et al. in einer Studie signifikant mehr Stentthrombosen bei CYP2C19\*2-Trägern nachweisen (1,5% versus 0,4%,  $p=0.007$ ) [64]. In der CURE-Studie konnte kein Einfluss des CYP2C19\*2-LoF-Allels auf kardiovaskuläre Ereignisse nachgewiesen werden [120]. Als Ursache wird angenommen, dass es sich um überwiegend konservativ behandelte Patienten (82%) handelte und nur bei 14.5% der Patienten Stents implantiert wurden [70]. Insofern scheint ein CYP2C19\*2-Trägerstatus nur in Hochrisikopatienten wie bei ACS-Patienten, die mit einer PCI behandelt werden, zum Tragen zu kommen.

Eine nicht-randomisierte Studie mit 1815 Patienten konnte beweisen, dass das Risiko für unerwünschte Ereignisse für Träger einer LoF Mutation signifikant erhöht war, wenn die Patienten mit Clopidogrel anstelle von Prasugrel oder Ticagrelor behandelt wurden [113, 121].

Eine weitere Studie zu diesem Thema ist die Dutch POPular Genetics (Cost effectiveness of CYP2C19 Genotype guided Treatment With Antiplatelet Drugs in Patients with ST-segment-elevation Myocardial Infarction Undergoing Immediate PCI with Stent Implantation: Optimization of Treatment) [122] mit einer voraussichtlichen Laufzeit bis Januar 2019. Auch die TAILOR-PCI-Studie (Tailored Antiplatelet Initiation to Lesson Outcomes Due to Decreased Clopidogrel Response After Percutaneous Coronary Intervention) versucht, diese Frage zu beantworten. Die TAILOR-PCI-Studie ist eine große Studie mit einem geplanten Einschluss von 5270 Patienten und einer geplanten Laufzeit bis März 2020, die eine Individualisierung der antithrombozytären Therapie anhand des CYP2C19 Genotyps untersucht.

In der ADAPT-PCI-Studie (Assessment of prospective CYP2C19 genotype guided Dosing of AntiPlatelet Therapy in Percutaneous Coronary Intervention), bei der 504 PCI-Patienten

eingeschlossen wurden, konnte gezeigt werden, dass eine Genotypisierung mittels Bedside Test einen signifikanten Einfluss auf die Entscheidung über das Therapieschema nach einer PCI hat.

Eine weitere aktuelle Studie zu diesem Thema ist die PHARMCLO-Studie (Pharmacogenetics of Clopidogrel in Acute Coronary Syndromes). Auch hier zeigte sich, dass eine Genotypisierung die Entscheidung über die Auswahl eines entsprechenden plättchenhemmenden Medikaments nach einer PCI beeinflusst. In der Kontrollgruppe erhielten die Patienten eine Therapie mit Prasugrel, Clopidogrel oder Ticagrelor basierend auf der Entscheidung des behandelnden Arztes nach dem klinischen Standard, in der Monitoringgruppe wurde die Therapie an den Genotypen (ABCB1, CYP2C19\*2, CYP2C19\*17) angepasst. Der primäre Endpunkt, zusammengesetzt aus kardiovaskulärem Tod, nichttödlichem Myokardinfarkt, Schlaganfall und einer höhergradigen Blutung > BARC 2 trat in der Kontrollgruppe signifikant häufiger auf als in der Monitoringgruppe [123]. Somit konnte hier ein Einfluss einer genetischen Testung auf das klinische Ergebnis dargestellt werden. Einschränkend muss erwähnt werden, dass die Studie nach dem Einschluss von 888 Patienten vorzeitig abgebrochen werden musste.

In unserer Genotypisierungssubstudie zeigte sich kein Unterschied zwischen Kontrollgruppe und Monitoringgruppe in Bezug auf den primären Endpunkt, der sich aus kardiovaskulärem Tod, Myokardinfarkt, Schlaganfall und Blutung BARC  $\geq$  2 zusammensetzte (Hazard Ratio 0.99). Dies ist dadurch bedingt, dass die Therapieentscheidung in der TROPICAL-ACS-Hauptstudie vom Plättchenfunktionstest abhängig gemacht wurde und bei HPR-Patienten eine umgehende Umstellung der Therapie auf Prasugrel zur Folge hatte.

## 5.2. Limitationen

Eine wichtige Limitation der Genotypisierungssubstudie war die durch das Studienprotokoll vorgegebene Therapieumstellung auf das potentere Prasugrel bei dem Vorliegen eines HPR-Status im Multiplate Analyzer. Dadurch musste ein großer Prozentsatz der CYP2C19\*2-Träger schon früh auf Prasugrel umgestellt werden. Hierdurch wurde die Aussagekraft darüber, welchen Einfluss ein CYP2C19\*2-Trägerstatus auf das klinische Ergebnis unter Clopidogreltherapie tatsächlich hat, eingeschränkt.

Zudem war die Patientenanzahl der Genotypisierungssubstudie für eine Analyse hinsichtlich der klinischen Endpunkte zu klein, sodass der wahre Einfluss des Genotyps auf die Prognose nur schwer beurteilt werden kann.

### 5.3. Schlussfolgerung

Bei ACS-Patienten, die nach erfolgreicher PCI mit Clopidogrel therapiert wurden, korrelierte ein CYP2C19\*2-Trägerstatus und CYP2C19\*17-Trägerstatus im Spartan RX mit der Plättchenreaktivität im Multiplate Analyzer. Insofern könnte eine Genotypisierung über einen Bedside-Test wie mit dem Spartan RX in Zukunft eine wichtige Rolle spielen, um bereits im primären Krankenhausaufenthalt Patienten auszuwählen, die für eine individualisierte Deeskalationstherapie infrage kommen bzw. nicht infrage kommen. Zusätzlich zur Genotypisierung wird ein Plättchenfunktionstest weiterhin notwendig sein, um Patienten mit einer unzureichenden Plättchenhemmung unter Clopidogrel-Therapie zu identifizieren.

Einen zusätzlichen positiven Effekt, um das Ischämie- bzw. Blutungsrisiko der Patienten der Deeskalationstherapie vorherzusagen, konnten wir nicht nachweisen. Dies ist auf die frühe Umstellung zurück auf Prasugrel bei insuffizienter Plättchenhemmung aufgrund des Studienprotokolls zurückzuführen.

## 6. Zusammenfassung

Die bisherige Standardtherapie bei ACS-Patienten nach PCI mit dem potenten P2Y<sub>12</sub>-Rezeptorantagonisten Prasugrel birgt für manche Patienten ein erhöhtes Blutungsrisiko. In der Praxis findet daher häufig aus medizinischen, aber auch ökonomischen Gründen ein Wechsel auf das weniger potente Clopidogrel statt. Es ist daher für den klinischen Alltag von großem Interesse, ein individualisiertes Deeskalationsregime mit einem frühen Wechsel von Prasugrel auf Clopidogrel, wie im Rahmen der TROPICAL-ACS-Studie untersucht, als Therapieschema von geeigneten ACS-Patienten zu etablieren.

Um hierfür geeignete Patienten zu identifizieren, benötigt man einen entsprechenden Test. Die Genotypisierungssubstudie war eine prospektive, randomisierte, offene, parallele, multizentrische Studie, in die 603 Patienten eingeschlossen wurden. Es wurde der Zusammenhang zwischen CYP2C19\*2-Trägerstatus bzw. CYP2C19\*17-Trägerstatus im Spartan RX und Plättchenreaktivität im Multiplate Analyzer aufgezeigt. Durch eine multivariate Analyse konnte zudem gezeigt werden, dass ein CYP2C19\*2-Trägerstatus ein starker und unabhängiger Prädiktor für die Plättchenreaktivität ist.

Ein weiterer Studienendpunkt war eine Kombination aus kardiovaskulärem Tod, Myokardinfarkt, Schlaganfall oder höhergradiger Blutung  $\geq 2$  nach BARC. Dieser primäre Endpunkt wurde in der Monitoringgruppe 26-mal und in der Kontrollgruppe 27-mal erreicht. Um die Frage zu beantworten, ob eine genetische Testung allein ausreicht, um geeignete Patienten für ein individualisiertes Deeskalationsschema auszuwählen, müssen weitere Studien mit großer Fallzahl durchgeführt werden. Auch die Frage nach der Kosteneffizienz nach der Einführung einer flächendeckenden genetischen Testung sollte Teil zukünftiger Studien sein.

## 7. Literaturverzeichnis

1. Statistisches Bundesamt, *Gesundheit. Todesursachen in Deutschland*. Fachserie 12, Reihe 4, 2015.
2. Gosswald, A., et al., *Prevalence of myocardial infarction and coronary heart disease in adults aged 40-79 years in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)*. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 2013. **56**(5-6): p. 650-5.
3. Worthley, S.G., et al., *Coronary artery disease: pathogenesis and acute coronary syndromes*. Mt Sinai J Med, 2001. **68**(3): p. 167-81.
4. Ibanez, B., et al., *2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)*. Eur Heart J, 2018. **39**(2): p. 119-177.
5. Roffi, M., et al., *[2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC)]*. G Ital Cardiol (Rome), 2016. **17**(10): p. 831-872.
6. Meadows, T.A. and D.L. Bhatt, *Clinical aspects of platelet inhibitors and thrombus formation*. Circ Res, 2007. **100**(9): p. 1261-75.
7. Paul, B.Z., J. Jin, and S.P. Kunapuli, *Molecular mechanism of thromboxane A<sub>2</sub>-induced platelet aggregation. Essential role for p2t(ac) and alpha(2a) receptors*. J Biol Chem, 1999. **274**(41): p. 29108-14.
8. Andrews, R.K., J.A. Lopez, and M.C. Berndt, *Molecular mechanisms of platelet adhesion and activation*. Int J Biochem Cell Biol, 1997. **29**(1): p. 91-105.
9. Jurk, K. and B.E. Kehrel, *Platelets: physiology and biochemistry*. Semin Thromb Hemost, 2005. **31**(4): p. 381-92.
10. Angiolillo, D.J., D. Capodanno, and S. Goto, *Platelet thrombin receptor antagonism and atherothrombosis*. Eur Heart J, 2010. **31**(1): p. 17-28.
11. Patrono, C., et al., *Antiplatelet agents for the treatment and prevention of atherothrombosis*. Eur Heart J, 2011. **32**(23): p. 2922-32.
12. Schror, K., *Aspirin and platelets: the antiplatelet action of aspirin and its role in thrombosis treatment and prophylaxis*. Semin Thromb Hemost, 1997. **23**(4): p. 349-56.
13. Ashida, S.I. and Y. Abiko, *Inhibition of platelet aggregation by a new agent, Ticlopidine*. Thromb Haemost, 1979. **40**(3): p. 542-50.
14. Bruno, J.J., *The mechanisms of action of ticlopidine*. Thromb Res Suppl, 1983. **4**: p. 59-67.
15. Kirstein, P., et al., *Antiaggregatory, physiological and clinical effects of ticlopidine in subjects with peripheral atherosclerosis*. Atherosclerosis, 1980. **36**(4): p. 471-80.
16. Thebault, J.J., et al., *The interactions of ticlopidine and aspirin in normal subjects*. J Int Med Res, 1977. **5**(6): p. 405-11.
17. Tomikawa, M., et al., *Anti-thrombotic action of ticlopidine, a new platelet aggregation inhibitor*. Thromb Res, 1978. **12**(6): p. 1157-64.
18. Muller, I., et al., *Effect of a high loading dose of clopidogrel on platelet function in patients undergoing coronary stent placement*. Heart, 2001. **85**(1): p. 92-3.

19. Mega, J.L., et al., *Cytochrome P450 genetic polymorphisms and the response to prasugrel: relationship to pharmacokinetic, pharmacodynamic, and clinical outcomes*. *Circulation*, 2009. **119**(19): p. 2553-60.
20. Shuldiner, A.R., et al., *Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy*. *JAMA*, 2009. **302**(8): p. 849-57.
21. Mega, J.L., et al., *Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: a pharmacogenetic analysis*. *Lancet*, 2010. **376**(9749): p. 1312-9.
22. Savi, P., et al., *Clopidogrel: a review of its mechanism of action*. *Platelets*, 1998. **9**(3-4): p. 251-5.
23. Farid, N.A., A. Kurihara, and S.A. Wrighton, *Metabolism and disposition of the thienopyridine antiplatelet drugs ticlopidine, clopidogrel, and prasugrel in humans*. *J Clin Pharmacol*, 2010. **50**(2): p. 126-42.
24. Wiviott, S.D., et al., *Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes*. *N Engl J Med*, 2007. **357**(20): p. 2001-15.
25. Sigwart, U., et al., *Intravascular stents to prevent occlusion and restenosis after transluminal angioplasty*. *N Engl J Med*, 1987. **316**(12): p. 701-6.
26. Silber, S., et al., *[Drug-eluting coronary stents and drug eluting balloon catheters: summary of the position papers of the DGK]*. *Clin Res Cardiol*, 2008. **97**(8): p. 548-63.
27. Kastrati, A., et al., *Meta-analysis of randomized trials on drug-eluting stents vs. bare-metal stents in patients with acute myocardial infarction*. *Eur Heart J*, 2007. **28**(22): p. 2706-13.
28. Dangas, G.D., et al., *In-stent restenosis in the drug-eluting stent era*. *J Am Coll Cardiol*, 2010. **56**(23): p. 1897-907.
29. Raber, L., et al., *Effect of biolimus-eluting stents with biodegradable polymer vs bare-metal stents on cardiovascular events among patients with acute myocardial infarction: the COMFORTABLE AMI randomized trial*. *JAMA*, 2012. **308**(8): p. 777-87.
30. Sabate, M., et al., *Everolimus-eluting stent versus bare-metal stent in ST-segment elevation myocardial infarction (EXAMINATION): 1 year results of a randomised controlled trial*. *Lancet*, 2012. **380**(9852): p. 1482-90.
31. Lanzer, P., et al., *Drug-eluting coronary stent very late thrombosis revisited*. *Herz*, 2008. **33**(5): p. 334-42.
32. Wohrle, J., *[Stent thrombosis in the era of drug-eluting stents]*. *Herz*, 2007. **32**(5): p. 411-8.
33. Wallentin, L., et al., *Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes*. *N Engl J Med*, 2009. **361**(11): p. 1045-57.
34. Antman, E.M., et al., *Early and late benefits of prasugrel in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention: a TRITON-TIMI 38 (TRial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel-Thrombolysis In Myocardial Infarction) analysis*. *J Am Coll Cardiol*, 2008. **51**(21): p. 2028-33.
35. Becker, R.C., et al., *Bleeding complications with the P2Y12 receptor antagonists clopidogrel and ticagrelor in the PLATElet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial*. *Eur Heart J*, 2011. **32**(23): p. 2933-44.
36. De Luca, L., et al., *Incidence and outcome of switching of oral platelet P2Y12 receptor inhibitors in patients with acute coronary syndromes undergoing percutaneous coronary intervention: the SCOPE registry*. *EuroIntervention*, 2017. **13**(4): p. 459-466.

37. Cuisset, T., et al., *Benefit of switching dual antiplatelet therapy after acute coronary syndrome: the TOPIC (timing of platelet inhibition after acute coronary syndrome) randomized study*. Eur Heart J, 2017. **38**(41): p. 3070-3078.
38. Angiolillo DJ, R.F., Storey RF et al., *International Expert Consensus on Switching Platelet P2Y12 Receptor-Inhibiting Therapies*. Circulation, 2017. **136**: p. 1955-1975.
39. Zettler, M.E., et al., *Switching of adenosine diphosphate receptor inhibitor after hospital discharge among myocardial infarction patients: Insights from the Treatment with Adenosine Diphosphate Receptor Inhibitors: Longitudinal Assessment of Treatment Patterns and Events after Acute Coronary Syndrome (TRANSLATE-ACS) observational study*. Am Heart J, 2017. **183**: p. 62-68.
40. De Luca, G., et al., *Switching from high-dose clopidogrel to prasugrel in ACS patients undergoing PCI: a single-center experience*. J Thromb Thrombolysis, 2014. **38**(3): p. 388-94.
41. Motovska, Z., et al., *Prasugrel Versus Ticagrelor in Patients With Acute Myocardial Infarction Treated With Primary Percutaneous Coronary Intervention: Multicenter Randomized PRAGUE-18 Study*. Circulation, 2016. **134**(21): p. 1603-1612.
42. Dery, J.P., et al., *Baseline characteristics, adenosine diphosphate receptor inhibitor treatment patterns, and in-hospital outcomes of myocardial infarction patients undergoing percutaneous coronary intervention in the prospective Canadian Observational AntiPlatelet sTudy (COAPT)*. Am Heart J, 2016. **181**: p. 26-34.
43. Serebruany, V.L., et al., *Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals*. J Am Coll Cardiol, 2005. **45**(2): p. 246-51.
44. Gurbel, P.A., et al., *Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity*. Circulation, 2003. **107**(23): p. 2908-13.
45. Sofi, F., et al., *Clopidogrel non-responsiveness and risk of cardiovascular morbidity. An updated meta-analysis*. Thromb Haemost, 2010. **103**(4): p. 841-8.
46. Grossmann, R., et al., *Variable extent of clopidogrel responsiveness in patients after coronary stenting*. Thromb Haemost, 2004. **92**(6): p. 1201-6.
47. Mobley, J.E., et al., *Frequency of nonresponse antiplatelet activity of clopidogrel during pretreatment for cardiac catheterization*. Am J Cardiol, 2004. **93**(4): p. 456-8.
48. Bonello, L., et al., *Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate*. J Am Coll Cardiol, 2010. **56**(12): p. 919-33.
49. Geisler, T. and M. Gawaz, *Variable response to clopidogrel in patients with coronary artery disease*. Semin Thromb Hemost, 2007. **33**(2): p. 196-202.
50. Sibbing, D., et al., *Platelet reactivity after clopidogrel treatment assessed with point-of-care analysis and early drug-eluting stent thrombosis*. J Am Coll Cardiol, 2009. **53**(10): p. 849-56.
51. Hochholzer, W., et al., *Impact of the degree of peri-interventional platelet inhibition after loading with clopidogrel on early clinical outcome of elective coronary stent placement*. J Am Coll Cardiol, 2006. **48**(9): p. 1742-50.
52. Angiolillo, D.J., et al., *Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives*. J Am Coll Cardiol, 2007. **49**(14): p. 1505-16.
53. Bliden, K.P., et al., *Increased risk in patients with high platelet aggregation receiving chronic clopidogrel therapy undergoing percutaneous coronary intervention: is the current antiplatelet therapy adequate?* J Am Coll Cardiol, 2007. **49**(6): p. 657-66.

54. Buonamici, P., et al., *Impact of platelet reactivity after clopidogrel administration on drug-eluting stent thrombosis*. J Am Coll Cardiol, 2007. **49**(24): p. 2312-7.
55. Diehl, P., et al., *Clopidogrel affects leukocyte dependent platelet aggregation by P2Y12 expressing leukocytes*. Basic Res Cardiol, 2010. **105**(3): p. 379-87.
56. Hochholzer, W., et al., *Impact of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and of major demographic characteristics on residual platelet function after loading and maintenance treatment with clopidogrel in patients undergoing elective coronary stent placement*. J Am Coll Cardiol, 2010. **55**(22): p. 2427-34.
57. Hulot, J.S., et al., *Cardiovascular risk in clopidogrel-treated patients according to cytochrome P450 2C19\*2 loss-of-function allele or proton pump inhibitor coadministration: a systematic meta-analysis*. J Am Coll Cardiol, 2010. **56**(2): p. 134-43.
58. Sibbing, D., et al., *Assessment of ADP-induced platelet aggregation with light transmission aggregometry and multiple electrode platelet aggregometry before and after clopidogrel treatment*. Thromb Haemost, 2008. **99**(1): p. 121-6.
59. Tantry, U.S., et al., *Consensus and update on the definition of on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate associated with ischemia and bleeding*. J Am Coll Cardiol, 2013. **62**(24): p. 2261-73.
60. Aradi, D., et al., *Bleeding and stent thrombosis on P2Y12-inhibitors: collaborative analysis on the role of platelet reactivity for risk stratification after percutaneous coronary intervention*. Eur Heart J, 2015. **36**(27): p. 1762-71.
61. Stone, G.W., et al., *Platelet reactivity and clinical outcomes after coronary artery implantation of drug-eluting stents (ADAPT-DES): a prospective multicentre registry study*. Lancet, 2013. **382**(9892): p. 614-23.
62. Sibbing, D., et al., *High platelet reactivity and clinical outcome - fact and fiction*. Thromb Haemost, 2011. **106**(2): p. 191-202.
63. Sibbing, D., et al., *Platelet aggregation and its association with stent thrombosis and bleeding in clopidogrel-treated patients: initial evidence of a therapeutic window*. J Am Coll Cardiol, 2010. **56**(4): p. 317-8.
64. Sibbing, D., et al., *Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism and stent thrombosis following percutaneous coronary intervention*. Eur Heart J, 2009. **30**(8): p. 916-22.
65. Mega, J.L., et al., *Cytochrome p-450 polymorphisms and response to clopidogrel*. N Engl J Med, 2009. **360**(4): p. 354-62.
66. Collet, J.P., et al., *Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study*. Lancet, 2009. **373**(9660): p. 309-17.
67. Simon, T., et al., *Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events*. N Engl J Med, 2009. **360**(4): p. 363-75.
68. de Morais, S.M., et al., *The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans*. J Biol Chem, 1994. **269**(22): p. 15419-22.
69. De Morais, S.M., et al., *Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (S)-mephenytoin metabolism in Japanese*. Mol Pharmacol, 1994. **46**(4): p. 594-8.
70. Mega, J.L., et al., *Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis*. JAMA, 2010. **304**(16): p. 1821-30.

71. Wallentin, L., et al., *Effect of CYP2C19 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on outcomes of treatment with ticagrelor versus clopidogrel for acute coronary syndromes: a genetic substudy of the PLATO trial*. Lancet, 2010. **376**(9749): p. 1320-8.
72. Zabalza, M., et al., *Meta-analyses of the association between cytochrome CYP2C19 loss- and gain-of-function polymorphisms and cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease treated with clopidogrel*. Heart, 2012. **98**(2): p. 100-8.
73. Giusti, B., et al., *Relation of cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism to occurrence of drug-eluting coronary stent thrombosis*. Am J Cardiol, 2009. **103**(6): p. 806-11.
74. Trenk, D., et al., *Cytochrome P450 2C19 681G>A polymorphism and high on-clopidogrel platelet reactivity associated with adverse 1-year clinical outcome of elective percutaneous coronary intervention with drug-eluting or bare-metal stents*. J Am Coll Cardiol, 2008. **51**(20): p. 1925-34.
75. Sorich, M.J., et al., *CYP2C19 genotype has a greater effect on adverse cardiovascular outcomes following percutaneous coronary intervention and in Asian populations treated with clopidogrel: a meta-analysis*. Circ Cardiovasc Genet, 2014. **7**(6): p. 895-902.
76. Bauer, T., et al., *Impact of CYP2C19 variant genotypes on clinical efficacy of antiplatelet treatment with clopidogrel: systematic review and meta-analysis*. BMJ, 2011. **343**: p. d4588.
77. Holmes, M.V., et al., *CYP2C19 genotype, clopidogrel metabolism, platelet function, and cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis*. JAMA, 2011. **306**(24): p. 2704-14.
78. Jang, J.S., et al., *Meta-analysis of cytochrome P450 2C19 polymorphism and risk of adverse clinical outcomes among coronary artery disease patients of different ethnic groups treated with clopidogrel*. Am J Cardiol, 2012. **110**(4): p. 502-8.
79. Liu, Y.P., et al., *Association of genetic variants in CYP2C19 and adverse clinical outcomes after treatment with clopidogrel: an updated meta-analysis*. Thromb Res, 2011. **128**(6): p. 593-4.
80. Viviani Anselmi, C., et al., *Routine assessment of on-clopidogrel platelet reactivity and gene polymorphisms in predicting clinical outcome following drug-eluting stent implantation in patients with stable coronary artery disease*. JACC Cardiovasc Interv, 2013. **6**(11): p. 1166-75.
81. Cavallari, L., *Personalizing antiplatelet prescribing using genetics for patients undergoing percutaneous coronary intervention*. Expert Rev Cardiovasc Ther 2017. **15**: p. 581-589.
82. Scott, S.A., et al., *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guidelines for CYP2C19 genotype and clopidogrel therapy: 2013 update*. Clin Pharmacol Ther, 2013. **94**(3): p. 317-23.
83. van der Weide, J. and J.W. Hinrichs, *The influence of cytochrome P450 pharmacogenetics on disposition of common antidepressant and antipsychotic medications*. Clin Biochem Rev, 2006. **27**(1): p. 17-25.
84. Sibbing, D., et al., *Cytochrome 2C19\*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement*. Circulation, 2010. **121**(4): p. 512-8.
85. Li, Y., et al., *The gain-of-function variant allele CYP2C19\*17: a double-edged sword between thrombosis and bleeding in clopidogrel-treated patients*. J Thromb Haemost, 2012. **10**(2): p. 199-206.

86. Li-Wan-Po, A., et al., *Pharmacogenetics of CYP2C19: functional and clinical implications of a new variant CYP2C19\*17*. *Br J Clin Pharmacol*, 2010. **69**(3): p. 222-30.
87. Sim, S.C., et al., *A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants*. *Clin Pharmacol Ther*, 2006. **79**(1): p. 103-13.
88. Cresci, S., et al., *Cytochrome p450 gene variants, race, and mortality among clopidogrel-treated patients after acute myocardial infarction*. *Circ Cardiovasc Genet*, 2014. **7**(3): p. 277-86.
89. Sibbing, D., et al., *Guided de-escalation of antiplatelet treatment in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention (TROPICAL-ACS): a randomised, open-label, multicentre trial*. *Lancet*, 2017. **390**(10104): p. 1747-1757.
90. TIMI Study Group, *The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial. Phase I findings*. *N Engl J Med*, 1985. **312**(14): p. 932-6.
91. Roche Diagnostics, 12.04.2018]; Available from: <https://www.roche.de/diagnostics/systeme/gerinnungsdiagnostik/multiplate-analyzer.html#Merkmale>.
92. Braunwald, E., et al., *Assessing the current role of platelet function testing*. *Clin Cardiol*, 2008. **31**(3 Suppl 1): p. I10-6.
93. Michelson, A.D., *Platelet function testing in cardiovascular diseases*. *Circulation*, 2004. **110**(19): p. e489-93.
94. Weber, A.A., et al., *Methods to evaluate the pharmacology of oral antiplatelet drugs*. *Herz*, 2008. **33**(4): p. 287-96.
95. Sibbing, D., et al., *Antiplatelet effects of clopidogrel and bleeding in patients undergoing coronary stent placement*. *J Thromb Haemost*, 2010. **8**(2): p. 250-6.
96. Siller-Matula, J.M., et al., *Multiple electrode aggregometry predicts stent thrombosis better than the vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation assay*. *J Thromb Haemost*, 2010. **8**(2): p. 351-9.
97. Toth, O., et al., *Multiple electrode aggregometry: a new device to measure platelet aggregation in whole blood*. *Thromb Haemost*, 2006. **96**(6): p. 781-8.
98. Sibbing, D., et al., *A randomised trial on platelet function-guided de-escalation of antiplatelet treatment in ACS patients undergoing PCI. Rationale and design of the Testing Responsiveness to Platelet Inhibition on Chronic Antiplatelet Treatment for Acute Coronary Syndromes (TROPICAL-ACS) Trial*. *Thromb Haemost*, 2017. **117**(1): p. 188-195.
99. Sibbing, D., et al., *Prognostic value of a high on-clopidogrel treatment platelet reactivity in bivalirudin versus abciximab treated non-ST-segment elevation myocardial infarction patients. ISAR-REACT 4 (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Rapid Early Action for Coronary Treatment-4) platelet substudy*. *J Am Coll Cardiol*, 2012. **60**(5): p. 369-77.
100. Spartan Bioscience, 12.04.2018]; Available from: <https://www.spartanbio.com/technology>.
101. Roberts, J.D., et al., *Point-of-care genetic testing for personalisation of antiplatelet treatment (RAPID GENE): a prospective, randomised, proof-of-concept trial*. *Lancet*, 2012. **379**(9827): p. 1705-11.
102. Mehran, R., et al., *Standardized bleeding definitions for cardiovascular clinical trials: a consensus report from the Bleeding Academic Research Consortium*. *Circulation*, 2011. **123**(23): p. 2736-47.

103. Cutlip, D.E., et al., *Clinical end points in coronary stent trials: a case for standardized definitions*. *Circulation*, 2007. **115**(17): p. 2344-51.
104. Rodriguez, S., T.R. Gaunt, and I.N. Day, *Hardy-Weinberg equilibrium testing of biological ascertainment for Mendelian randomization studies*. *Am J Epidemiol*, 2009. **169**(4): p. 505-14.
105. Rollini, F., F. Franchi, and D.J. Angiolillo, *Switching P2Y12-receptor inhibitors in patients with coronary artery disease*. *Nat Rev Cardiol*, 2016. **13**(1): p. 11-27.
106. Sherwood, M.W., et al., *Early clopidogrel versus prasugrel use among contemporary STEMI and NSTEMI patients in the US: insights from the National Cardiovascular Data Registry*. *J Am Heart Assoc*, 2014. **3**(2): p. e000849.
107. Holmes, D.R., Jr., et al., *ACCF/AHA clopidogrel clinical alert: approaches to the FDA "boxed warning": a report of the American College of Cardiology Foundation Task Force on clinical expert consensus documents and the American Heart Association endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons*. *J Am Coll Cardiol*, 2010. **56**(4): p. 321-41.
108. Weitzel, K.W., et al., *Clinical pharmacogenetics implementation: approaches, successes, and challenges*. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2014. **166C**(1): p. 56-67.
109. Shuldiner, A.R., et al., *Implementation of pharmacogenetics: the University of Maryland Personalized Anti-platelet Pharmacogenetics Program*. *Am J Med Genet C Semin Med Genet*, 2014. **166C**(1): p. 76-84.
110. Peterson, J.F., et al., *Physician response to implementation of genotype-tailored antiplatelet therapy*. *Clin Pharmacol Ther*, 2016. **100**(1): p. 67-74.
111. Lee, J.A., et al., *Implementation and evaluation of a CYP2C19 genotype-guided antiplatelet therapy algorithm in high-risk coronary artery disease patients*. *Pharmacogenomics*, 2015. **16**(4): p. 303-13.
112. Harada, S., et al., *Precision Medicine at the University of Alabama at Birmingham: Laying the Foundational Processes Through Implementation of Genotype-Guided Antiplatelet Therapy*. *Clin Pharmacol Ther*, 2017. **102**(3): p. 493-501.
113. Cavallari, L.H., et al., *Multisite Investigation of Outcomes With Implementation of CYP2C19 Genotype-Guided Antiplatelet Therapy After Percutaneous Coronary Intervention*. *JACC Cardiovasc Interv*, 2018. **11**(2): p. 181-191.
114. Empey, P.E., et al., *Multisite Investigation of Strategies for the Implementation of CYP2C19 Genotype-Guided Antiplatelet Therapy*. *Clin Pharmacol Ther*, 2017.
115. Cavallari, L.H., et al., *The IGNITE Pharmacogenetics Working Group: An Opportunity for Building Evidence with Pharmacogenetic Implementation in a Real-World Setting*. *Clin Transl Sci*, 2017. **10**(3): p. 143-146.
116. Wirth, F., et al., *Comparison of a rapid point-of-care and two laboratory-based CYP2C19\*2 genotyping assays for personalisation of antiplatelet therapy*. *Int J Clin Pharm*, 2016. **38**(2): p. 414-20.
117. Erlinge, D., et al., *Clopidogrel metaboliser status based on point-of-care CYP2C19 genetic testing in patients with coronary artery disease*. *Thromb Haemost*, 2014. **111**(5): p. 943-50.
118. Taubert, D., et al., *Impact of P-glycoprotein on clopidogrel absorption*. *Clin Pharmacol Ther*, 2006. **80**(5): p. 486-501.
119. Collet, J.P., et al., *Genetic and platelet function testing of antiplatelet therapy for percutaneous coronary intervention: the ARCTIC-GENE study*. *Eur J Clin Pharmacol*, 2015. **71**(11): p. 1315-24.

120. Pare, G., et al., *Effects of CYP2C19 genotype on outcomes of clopidogrel treatment*. N Engl J Med, 2010. **363**(18): p. 1704-14.
121. Sibbing, D. and L. Gross, *CYP2C19 Genotyping in Percutaneous Coronary Intervention-Treated Patients: Ready for Prime Time?* JACC Cardiovasc Interv, 2018. **11**(2): p. 192-194.
122. Bergmeijer, T.O., et al., *CYP2C19 genotype-guided antiplatelet therapy in ST-segment elevation myocardial infarction patients-Rationale and design of the Patient Outcome after primary PCI (POPular) Genetics study*. Am Heart J, 2014. **168**(1): p. 16-22 e1.
123. Notarangelo, F.M., et al., *Pharmacogenomic Approach to Selecting Antiplatelet Therapy in Acute Coronary Syndromes: PHARMCLO trial*. J Am Coll Cardiol, 2018.



<b>TROPICAL-ACS</b>	<b>WORKSHEET Follow Up</b> (Relevant Concomitant Medication)				
Patient ID	<div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;"> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px; margin: 2px;"></div> <span style="font-size: 8px;">-</span> <div style="border: 1px solid black; width: 40px; height: 20px; margin: 2px;"></div> </div> <div style="display: flex; justify-content: space-around; font-size: 8px; margin-top: 2px;"> <span>Site No.</span> <span>Randomization No.</span> </div>				
<p><b>Acetylsalicylic acid:</b>    <input type="radio"/> no    <input type="radio"/> yes</p>	<p><b>If no, please enter the reason:</b> _____</p> <p><b>If yes, Dosage:</b>    <input style="width: 60px;" type="text"/> mg/d</p>				
<p><b>Please note!</b> This question excluded study medication. Please document intake of Clopidogrel/ Prasugrel on eCRF page "Intake of Study Medication"!</p>					
<p><b>ADP receptor antagonist:</b>    <input type="radio"/> no    <input type="radio"/> yes</p>	<p><i>If yes, please make further entries!</i></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 35%; vertical-align: top;"> <p><b>Specification: (Preselection)</b></p> <p><input type="radio"/> Clopidogrel</p> <p><input type="radio"/> Prasugrel</p> <p><input type="radio"/> Ticagrelor</p> <p><input type="radio"/> Ticlopidin</p> </td> <td style="width: 30%; vertical-align: top;"> <p><b>Dosage (mg/d): (Preselection)</b></p> <p><input type="radio"/> 5 mg/d (Prasugrel)</p> <p><input type="radio"/> 10 mg/d (Prasugrel)</p> <p><input type="radio"/> 75 mg/d (Clopidogrel)</p> <p><input type="radio"/> 150 mg/d (Clopidogrel)</p> <p><input type="radio"/> 180 mg/d (2 x 90 mg) (Ticagrelor)</p> <p><input type="radio"/> 500 mg/d (2 x 250 mg) (Ticlopidin)</p> </td> <td style="width: 35%; vertical-align: top;"> <p><b>Other dosage (mg/d):</b></p> <p style="text-align: center;">OR</p> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div> </td> </tr> </table>		<p><b>Specification: (Preselection)</b></p> <p><input type="radio"/> Clopidogrel</p> <p><input type="radio"/> Prasugrel</p> <p><input type="radio"/> Ticagrelor</p> <p><input type="radio"/> Ticlopidin</p>	<p><b>Dosage (mg/d): (Preselection)</b></p> <p><input type="radio"/> 5 mg/d (Prasugrel)</p> <p><input type="radio"/> 10 mg/d (Prasugrel)</p> <p><input type="radio"/> 75 mg/d (Clopidogrel)</p> <p><input type="radio"/> 150 mg/d (Clopidogrel)</p> <p><input type="radio"/> 180 mg/d (2 x 90 mg) (Ticagrelor)</p> <p><input type="radio"/> 500 mg/d (2 x 250 mg) (Ticlopidin)</p>	<p><b>Other dosage (mg/d):</b></p> <p style="text-align: center;">OR</p> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div>
<p><b>Specification: (Preselection)</b></p> <p><input type="radio"/> Clopidogrel</p> <p><input type="radio"/> Prasugrel</p> <p><input type="radio"/> Ticagrelor</p> <p><input type="radio"/> Ticlopidin</p>	<p><b>Dosage (mg/d): (Preselection)</b></p> <p><input type="radio"/> 5 mg/d (Prasugrel)</p> <p><input type="radio"/> 10 mg/d (Prasugrel)</p> <p><input type="radio"/> 75 mg/d (Clopidogrel)</p> <p><input type="radio"/> 150 mg/d (Clopidogrel)</p> <p><input type="radio"/> 180 mg/d (2 x 90 mg) (Ticagrelor)</p> <p><input type="radio"/> 500 mg/d (2 x 250 mg) (Ticlopidin)</p>	<p><b>Other dosage (mg/d):</b></p> <p style="text-align: center;">OR</p> <div style="border: 1px solid black; width: 60px; height: 20px; margin: 0 auto;"></div>			
<p><b>Beta Blocker:</b>    <input type="radio"/> no    <input type="radio"/> yes</p>					
<p><b>ACE inhibitor:</b>    <input type="radio"/> no    <input type="radio"/> yes</p>					
<p><b>AT-1 receptor Antagonist:</b>    <input type="radio"/> no    <input type="radio"/> yes</p>					
<p><b>Ca-antagonist:</b>    <input type="radio"/> no    <input type="radio"/> yes</p>					
<p><b>Nitrates:</b>    <input type="radio"/> no    <input type="radio"/> yes</p>					
<p><b>Proton-pump inhibitor:</b>    <input type="radio"/> no    <input type="radio"/> yes</p>	<p><i>If yes, please make further entries!</i></p> <table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 45%; vertical-align: top;"> <p><b>Specification: (Preselection)</b></p> <p><input type="radio"/> Pantoprazol</p> <p><input type="radio"/> Esomeprazol</p> <p><input type="radio"/> Omeprazol</p> <p><input type="radio"/> Lansoprazol</p> <p><input type="radio"/> Rabeprazol</p> </td> <td style="width: 55%; vertical-align: top;"> <p><b>Other specification:</b></p> <p style="text-align: center;">OR</p> <p>_____</p> </td> </tr> </table>		<p><b>Specification: (Preselection)</b></p> <p><input type="radio"/> Pantoprazol</p> <p><input type="radio"/> Esomeprazol</p> <p><input type="radio"/> Omeprazol</p> <p><input type="radio"/> Lansoprazol</p> <p><input type="radio"/> Rabeprazol</p>	<p><b>Other specification:</b></p> <p style="text-align: center;">OR</p> <p>_____</p>	
<p><b>Specification: (Preselection)</b></p> <p><input type="radio"/> Pantoprazol</p> <p><input type="radio"/> Esomeprazol</p> <p><input type="radio"/> Omeprazol</p> <p><input type="radio"/> Lansoprazol</p> <p><input type="radio"/> Rabeprazol</p>	<p><b>Other specification:</b></p> <p style="text-align: center;">OR</p> <p>_____</p>				
<p><b>Diuretics:</b>    <input type="radio"/> no    <input type="radio"/> yes</p>					

<b>TROPICAL-ACS</b>	<b>WORKSHEET Follow Up</b> (Relevant Concomitant Medication)	
Patient ID <input style="width: 40px;" type="text"/> - <input style="width: 40px;" type="text"/> <small>Site No.                      Randomization No.</small>		
<p><b>Statins:</b></p> <p><input type="radio"/> no <input type="radio"/> yes</p>	<p><b>If yes, please specify:</b></p> <p><input type="radio"/> Atorvastatin  <input type="radio"/> Fluvastatin  <input type="radio"/> Lovastatin  <input type="radio"/> Pitavastatin  <input type="radio"/> Pravastatin  <input type="radio"/> Rosuvastatin  <input type="radio"/> Simvastatin</p>	
<p><b>Antikoagulation treatment:</b></p> <p><input type="radio"/> no <input type="radio"/> yes</p>	<p style="color: blue;"><i>If yes, please make further entries!</i></p> <p><b>Specification:</b></p> <p><input type="radio"/> Vitamin K Antagonist (VKA)  <input type="radio"/> Novel oral anticoagulation (NOAC)  <input type="radio"/> LMWH (in therapeutic dose)  <input type="radio"/> Other</p>	
<p style="text-align: right;"><b>If NOAC, please specify:</b></p> <p><input type="radio"/> Rivaroxaban  <input type="radio"/> Dabigatran  <input type="radio"/> Apixaban</p>		
Date	Name of Investigator	Investigator's signature

## 9. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all den Menschen meinen Dank aussprechen, die durch ihre fachliche oder persönliche Unterstützung zum Gelingen der Dissertation beigetragen haben.

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Dirk Sibbing danken für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie die gute Anleitung und Betreuung während der Durchführung dieser gesamten Arbeit.

Meiner Betreuerin Frau Dr. Lisa Gross bin ich zu großem Dank verpflichtet für die hervorragende Betreuung dieser Promotion. Sie war bei Problem stets ansprechbar und stand mir mit wertvollen Hilfen, wissenschaftlichen Ratschlägen und Geduld durch alle Höhen und Tiefen stets zur Seite.

Ich danke auch allen Ärztinnen und Ärzten, unserer Study Nurse sowie allen beteiligten Personen für die kooperative Zusammenarbeit.

Ganz besonderes möchte ich mich bei meiner Familie bedanken für deren Ermutigung und fortwährende Unterstützung, ohne die diese Dissertation nicht zustande gekommen wäre.

## **Eidesstattliche Versicherung**

Krieg, Anne Lena

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt,  
dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

### **Die Genotypisierungssubstudie der TROPICAL-ACS-Studie (Testing RespOnsiveness to Platelet Inhibition on Chronic Antiplatelet treatment for Acute Coronary Syndromes trial)**

Zusammenhang zwischen CYP2C19-Genotyp und Thrombozytenaggregationshemmung unter einer Therapie mit Clopidogrel bzw. Prasugrel bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom

selbständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, 07.02.2019 Anne Krieg

Ort, Datum Unterschrift Doktorandin/Doktorand

Eidesstattliche Versicherung Stand: 31.01.2013