

Aus der medizinischen Universitätsklinik Tübingen
Abteilung Innere Medizin III
(Schwerpunkt: Kardiologie und Angiologie)

Assoziation von MMP-2 Einzelnukleotid-Polymorphismen
mit der Prognose von Patienten mit kardiovaskulärer
Erkrankung in einem 1-Jahres Follow-Up

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Zahnheilkunde

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Heller, Florian Dominik

2020

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor T. Geisler
2. Berichterstatter: Professor G. Kerst

Tag der Disputation: 10.09.2020

Meinen Eltern und Familie

Inhaltsverzeichnis

1	Tabellen-, Abbildungs-, und Abkürzungsverzeichnis	1
2	Einleitung	4
2.1	Die koronare Herzkrankheit.....	4
2.2	KHK von der Antike bis zur Neuzeit.....	5
2.3	Stabile koronare Herzkrankheit	11
2.4	Akutes Koronarsyndrom	13
2.4.1	Nicht ST-Hebungs-Myokardinfarkt (NSTEMI)	14
2.4.2	ST-Hebungs-Myokardinfarkt (STEMI)	15
2.5	Thrombozyten.....	16
2.5.1	Entdeckung	16
2.5.2	Thrombozytenaggregationshemmung.....	19
2.5.3	Thrombozytenbiologie	21
2.5.4	Hämostase	21
2.5.5	Atherosklerose	26
2.6	Matrix Metalloproteasen	27
2.6.1	Matrix Metalloprotease-2.....	28
2.6.2	Einzelnukleotid-Polymorphismus	30
3	Hintergrund und Ziele dieser Arbeit	33
4	Material und Methoden	34
4.1	Patienten Charakteristika	34
4.2	Genotypisierung der MMP-2 Variationen.....	35
4.3	Follow Up	36
4.4	Statistische Analyse	37
5	Ergebnisse	38
6	Diskussion.....	50
7	Zusammenfassung	53
8	Literaturverzeichnis.....	54
9	Erklärung zum Eigenanteil	69
10	Veröffentlichungen	70
11	Danksagung.....	71

1 Tabellen-, Abbildungs-, und Abkürzungsverzeichnis

Abkürzungen

ACD: All-cause death (Gesamtmortalität)
ACS: Akutes Koronarsyndrom
ADP: Adenosin Diphosphat
AT1 Antagonist: Angiotensin-II-Rezeptor-Subtyp-1-Antagonist
BMS: Bare Metal Stent
CFR: koronare Flussreserve
CE: Combined endpoint (kombinierter Endpunkt)
CI: Confidence Interval (Konfidenzintervall)
CK: Kreatininkinase
CK-MB: Kreatininkinase Myokardtyp
CT: Computertomographie
DAG: Diacylglycerol
DMS: Drug Eluting Stent
EKG: Elektrokardiogramm
EF: Ejektionsfraktion
FACS: Fluorescence-activated cell sorting
GSH: Glutathion
GP: Glykoprotein
HIV: Humane Immundefizienz-Virus
HR: Hazard Ratio
IAP: Instabile Angina Pectoris
ICD-10-GM: Internationale statistische Klassifikation der Krankheiten und verwandter Gesundheitsprobleme, 10. Revision, German Modification
IP₃: Inositoltriphosphat
ISIS-2: Second International Study of Infarct Survival
KHK: koronare Herzkrankheit
LDL: Low-density Lipoprotein
LVEDV: Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen
LVEDVI: Linksventrikulärer enddiastolischer Volumen Index
LVEF: Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVESVI: Linksventrikulärer endsystolischer Volumen Index
MCP-3: Monocyte-Chemotactic Protein III
MI: Myokardinfarkt
MMP: Matrix-Metalloprotease
mRNA: Messenger Ribonukleinsäure
NSTEMI: Nicht ST-Hebungs-Myokardinfarkt
PCR: Polymerase-Kettenreaktion
SAP: Stabile Angina Pectoris
SD: Standardabweichung
SDS-PAGE: Sodium-Dodecyl Sulfat Polyacrylamid Gel Elektrophorese
STEMI: ST-Hebungs-Myokardinfarkt
TIA: Transitorisch ischämische Attacke
TPO: Thrombopoietin
vWF: Von Willebrand-Faktor

Abbildungen

Abbildung 2.1:	
Cardiovascular risk factors. Insights from Framingham Heart Study.....	9
Abbildung 2.2:	
Erste Herzkatheteruntersuchung durch W. Forssmann.....	10
Abbildung 2.3:	
ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC).....	15
Abbildung 2.4:	
Schematische Darstellung der primären Hämostase mit Adhäsion, Aggregation, Aktivierung der Thrombozyten und folgende Sekretion.....	22
Abbildung 2.5:	
Das Blutplättchen und Elektronenmikroskop Aufnahme von diskoiden inaktiven Thrombozyten [200nm] und aktivierten Thrombozyten [1µm].....	23
Abbildung 2.6:	
Tabellarische Darstellung der sekundären Hämostase geteilt in extrinsische und intrinsische Kaskade.....	25
Abbildung 2.7:	
Schematische Darstellung einer arteriellen Thrombose.....	27
Abbildung 2.8:	
MMP-2 and myocardial oxidative stress injury: beyond the matrix.....	29
Abbildung 2.9:	
Einzelnukeotid-Polymorphismen in kodierten und nicht kodierten Genabschnitten...31	
Abbildung 5.1:	
Kaplan-Meier-Kurven, kumulatives Überleben (kombinierter Endpunkt), dominantes genetisches Modell des MMP-2 Polymorphismus rs2241145.....	46
Abbildung 5.2:	
Kaplan-Meier-Kurven, kumulatives Überleben (kombinierter Endpunkt), dominantes genetisches Modell des MMP-2 Polymorphismus rs2287076.....	47
Abbildung 5.3:	
Kaplan-Meier-Kurven, kumulatives Überleben (Gesamtmortalität) für das dominante genetische Modell des MMP-2 Polymorphismus rs2241145.....	48
Abbildung 5.4:	
Kaplan-Meier-Kurven, kumulatives Überleben (Gesamtmortalität) für das dominante genetische Modell des MMP-2 Polymorphismus rs2287076.....	48

Abbildung 5.5:

Kaplan-Meier-Kurven, kumulatives Überleben (Gesamtmortalität) für das dominante genetische Modell des MMP-2 Polymorphismus rs2285053.....49

Tabellen

Tabelle 1:

Basischarakteristika Gesamtkohorte (n=943) rs2241145 (Dominantes Modell).....38

Tabelle 2:

Basischarakteristika Gesamtkohorte (n=943) rs2287076 (Dominantes Modell).....39

Tabelle 3:

Basischarakteristika Gesamtkohorte (n=943) rs2285053 (Dominantes Modell).....40

Tabelle 4:

Ereignis und Inzidenzrate [IR/100 PY] rs2241145, rs2285053 und rs2287076.....41

Tabelle 5:

Cox Regressionsanalyse des primär kombinierten Endpunktes und des sekundären Endpunktes als abhängige Variable, rs2241145 (dominantes genetisches Modell) als unabhängige Variable und klinische Faktoren als Kovariablen der gesamten Patientenkohorte.....43

Tabelle 6:

Cox Regressionsanalyse des primär kombinierten Endpunktes und des sekundären Endpunktes als abhängige Variable, rs2285053 (dominantes genetisches Modell) als unabhängige Variable und klinische Faktoren als Kovariablen der gesamten Patientenkohorte.....44

Tabelle 7:

Cox Regressionsanalyse des primär kombinierten Endpunktes und des sekundären Endpunktes als abhängige Variable, rs2287076 (dominantes genetisches Modell) als unabhängige Variable und klinische Faktoren als Kovariablen der gesamten Patientenkohorte.....45

2 Einleitung

2.1 Die koronare Herzkrankheit

Erkrankungen des Kreislaufsystems, die im ICD-10-GM unter Kapitel XI geführt werden, belegten bei einer Erhebung des statistischen Bundesamtes aus dem Jahre 2015 in der Bundesrepublik Deutschland mit 38,5 % den ersten Platz der häufigsten Todesursachen. Bei genauerem Blick auf die spezifischen Todesursachengruppen des Kreislaufsystems fällt die ischämische Herzkrankheit (128.230 Sterbefälle) auf, hierbei inbegriffen sind sowohl der akute, als auch der rezidivierende Myokardinfarkt (50.948). Im Weiteren können Angina Pectoris (I20), bestimmte Komplikationen nach akutem Myokardinfarkt (I23), sonstige akute ischämische Herzkrankheiten (I24) und chronische ischämische Herzkrankheiten (I25) dazu gezählt werden.(Bundesamt, 2015)

Grundlage für die hier aufgeführten Todesursachen des statistischen Bundesamtes bildet die sogenannte koronare Herzkrankheit (KHK). Das Herz wird über die Koronargefäße mit Sauerstoff versorgt. Durch lokale Obstruktion kommt es zur Minderdurchblutung des Herzmuskels. Es resultiert ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und – Angebot, mit folgender Sauerstoffunterversorgung der Herzmuskulatur.(Behrends, 2010)

Diese Tatsache kann sich, wie obig zu sehen, in mannigfaltigen Ausprägungen zeigen. Dabei werden definitionsgemäß, chronische Ausprägungen, wie die stabile Angina Pectoris (SAP) von den akuten Ereignissen, wie dem akuten Koronarsyndrom (ACS) mit instabiler Angina Pectoris (IAP) und dem akuten Myokardinfarkt, abgegrenzt. Zentraler Faktor einer entstehenden koronaren Herzkrankheit ist die Atherosklerose, eine chronisch-entzündliche Veränderung, welche im Verlauf durch eine Einengung des Lumens und Verringerung des Gefäßdurchmessers charakterisiert ist. Stoffwechselstörungen, Hypercholesterinämie, Adipositas, Nikotinkonsum, arterielle Hypertonie oder Diabetes Mellitus, als anerkannte Risikofaktoren, begünstigen die Entstehung einer Atherosklerose.(Renz-Polster, 2004)

2.2 KHK von der Antike bis zur Neuzeit

Um die komplexe und vielschichtige Erkrankung der koronaren Herzkrankheit und ihren Zusammenhang mit dem Symptom der Angina Pectoris in Toto zu begreifen, ist es unerlässlich einen Blick in die Vergangenheit zu werfen. Dabei können im Laufe der Jahrhunderte mehrere Phasen im Sinne eines Wissens- und Erkenntniszuwachses unterteilt werden.

Zu Beginn der Antike und bis ins späte Mittelalter wurden in Schriften, klassische Symptome einer „Angina Pectoris“, wie wir sie heutzutage als Brustschmerzen kennen, beschrieben. Ein Zusammenhang mit dem Herzen und genauer mit atherosklerotisch veränderten Herzkranzgefäßen wurde jedoch nicht zweifelsfrei hergestellt. (Heusch et al., 1990)

In den ägyptischen Papyrus Ebers aus dem Jahr 1500 a.C. wurde beispielsweise ein Patient unter Angina Pectoris leidend, wie folgt beschrieben:

„Findest du einen Mann, dessen Brust schmerzt, und der auch Schmerzen an seinem Oberarm und an seinem Magen leidet, so sollst du sagen, dass der Tod ihm naht“. (Heusch et al., 1990)

Auch in Hippokrates „Buch der Prognosen“ aus dem Jahre 450 – 370 a.C. wurde ein deutliches Bewusstsein über die Erkrankung erkennbar. Dieser beschrieb:

„Die Angina ist ernsthaft und schnell fatal, wenn im Hals oder Rachen keine Läsion gesehen wird und sie sehr starken Schmerz und Orthopnoe verursacht. Sie kann den Patienten schon am ersten Tag ersticken“. (Katz and Katz, 1962, Schoenenberger and Erne, 2009)

Gleichwohl lieferte im 7. Jahrhundert Qais ibn Al-Mulawah in der arabischen Lyrik mit seiner Liebeserzählung „Majnoon Lila“ einen metaphorischen Hinweis auf Brustschmerzen. Der arabische Kardiologe Dr. H. A. Hajar Albinali setzte dies später in seinem Buch „Majnoon Lila: Between Medicine and Literature“ mit der Beschreibung für Angina Pectoris gleich. In der Poesie charakterisierte er das Herz als:

„...firmly seized by a bird's claws.“ und „...tightly squeezed“. (Albinali, 2012, Hajar, 2017)

Das wissenschaftliche Korrelat konnte Thompson et al. im Jahre 2013 nachweisen. Er untersuchte Mumien aus verschiedenen Kulturen mittels Computertomographie, darunter welche aus dem alten Ägypten, Peru, dem Pueblo-Indianerstamm in Südwest Amerika oder der Ureinwohner der Insel der Aleuten. Dabei wurde kalzifizierte Plaque im Sinne einer Atherosklerose an den Gefäßwänden festgestellt.(Thompson et al., 2013)

Dies zeigt, dass Symptome schon sehr früh klar beschrieben und festgehalten wurden, die Pathomechanismen und die Verbindungen untereinander allerdings noch völlig unbekannt waren.

Die mittelalterliche Medizin bezüglich pektanginöser Beschwerden beruhte im Wesentlichen auf den Erkenntnissen von Galen (131-201 p.C.). Galen erkannte den Zusammenhang zwischen der gemeinsamen Innervation des Magens und des Herzens über den Nervus Vagus und führte dies zurück auf Symptome wie Herzstechen oder Herzrasen. Eine Zirkulation des Blutes, und damit die Grundlage einer Thrombosierung mit nachfolgender Obliteration der Herzkranzgefäße kam für Galen jedoch nicht in Frage. Zusammenfassend stellte Siegel R.E. in seinem Buch „Galen’s System of Physiology and Medicine, Heart Disease, Angina Pectoris“ die ersten vagen Grundzüge im Verständnis komplexer physiologischer Vorgänge dar.(Siegel, 1968) Leonardo da Vinci (1452-1519) hingegen, einer der größten Wissenschaftler seiner Zeit beschrieb eine Verstopfung der Gefäße wie folgt:

„...Vessels in the elderly restrict the transit of blood through thickening of the tunics.“(Slijkhuis et al., 2009)

In seinen Darstellungen und Zeichnungen konnten bereits anatomische Feinheiten des Herzens und der Herzkranzgefäße klar erkannt werden.(Heusch et al., 1990)

W. Harvey trug im Jahr 1628 mit seinem Buch „Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis“ ebenfalls zum Verständnis bei, indem er den Kreislauf des Blutes durch den Körper und die Herzkranzarterien als zentrales Versorgungselement des Herzens beschrieb.(Silverman, 1985) Darüber hinaus konnte Morgagni im Jahre 1761 in seinem Sektionsbefund, den pathologischen Nachweis sklerotisch veränderter Koronargefäße erbringen. Als tragisches und überliefertes Beispiel diente John Hunter, seines Zeichen Chirurg in einer britischen Klinik gegen Ende des 18. Jahrhunderts. Hunter litt selbst an pektanginöser Symptomatik und konnte durch

Eigenstudie den Zusammenhang zwischen Auftreten der Symptomatik und körperlicher Belastung herstellen. Im Jahre 1793 verstarb Hunter im Anschluss an eine rege Diskussion an seiner Erkrankung.(Heusch et al., 1990) Diese teils tragischen Erkenntnisse bedeuteten ein Meilenstein für die Diagnostik und Therapie von Herzerkrankungen, da die starre Theorie von Galen widerlegt war und den Medizinern neue Ansätze für das Verständnis der koronaren Herzerkrankungen ermöglicht wurden.

Die erste Beschreibung des Begriffs „Angina Pectoris“ erfolgte im 18. Jahrhundert durch Dr. William Heberden (1710-1801), einem in London tätigen Mediziner. Er stellte im Jahre 1768 am Royal College in London eine Fallstudie mit 20 Patienten vor, die er über einen Zeitraum von mehr als 20 Jahren gesammelt hatte. Dabei beschrieb er die Symptome wie Brustenge, Dyspnoe sowie Todesangst. Er differenzierte weiter zwischen stabiler und instabiler Angina Pectoris.(van Tellingen, 2010)

In einem Brief von Dr. John Wall of Worcester datiert auf den 20. Mai 1772 an Heberden, stellte dieser die Pathophysiologie der Angina im Zusammenhang mit Koronararterien jedoch wieder deutlich in Frage. Er berichtete über kalzifizierte und unbewegliche Herzklappen, bezog jedoch keine Stellung zu Koronararterien und folgerte daraus:

„It is possible that this induration of the semilunar valves may not be always the cause of the disease; though it seems not improbable that some malformation in the heart or vessels immediately proceeding from it, may be so.“(Short, 2017)

Im weiteren Verlauf berichtete Edward Jenner (1749-1823) Heberden in einem Brief, dass er bei einer Autopsie den Zusammenhang zwischen Koronarsklerose in Kombination mit Thrombosierung und den Symptomen der Angina Pectoris entdeckt hatte. Der aus Boston stammende Chirurg John Collins Warren (1778-1856) war allerdings der Erste, der diesbezüglich einen Artikel verfasste. 1812 veröffentlichte er einen 11-seitigen Artikel „Remarks on Angina Pectoris“ im New England Journal of Medicine and Surgery and the Collateral Branches of Medical Science. Dieser beinhaltete die Aufarbeitung des bisherigen Kenntnisstandes.(Warren, 1812, Short, 2017)

Vor allem die Arbeit von Rudolf Virchow (1821-1902), der die Krankheit auf zellulärer Ebene erforschte, verbesserte die wissenschaftliche Sichtweise. Das Verständnis des thrombotischen Verschlusses von Gefäßen war bahnbrechend. Als Virchow-Trias, der auch heute noch Anwendung findet, bezeichnet man die ursächlichen Faktoren der Entstehung einer Thrombose. Danach wird diese maßgeblich von der Veränderung der Gefäßwand, der Strömungsgeschwindigkeit und der Zusammensetzung des Blutes (Hyperkoagulabilität) bestimmt.(Kumar et al., 2010)

Im Jahr 1879 legte sich Ludvig Hektoen (1863-1951) mit der These fest, dass eine myokardiale Sauerstoffunterversorgung durch eine Koronararterienthrombose bedingt war.(Hektoen, 1892, Hajar, 2016) James Herrick (1861-1954), Allgemeinmediziner aus Chicago, kombinierte die klinischen Symptome mit der elektrokardiographischen Diagnostik und veröffentlichte seine Ergebnisse 1912 im „Journal of the American Medical Association“. Er erklärte sich die Symptome der Angina Pectoris durch eine langsame Verengung der Koronargefäße, zusammenfassend als „heart attack“ bezeichnet.(Herrick, 1912, Herrick, 1983).

Die Verbindung zwischen Atherosklerose und Myokardinfarkten war fortan Grundlage der Wissenschaft, ohne jedoch die ursächlichen Kofaktoren zu berücksichtigen.(Ndrepepa, 2017) Infolgedessen bestand die Therapie bis weit ins 20. Jahrhundert, in der strikten Einhaltung von Bettruhe.(Hajar, 2016)

Paul Dudley White (1886-1973) erkannte den Zusammenhang zwischen einschlägigen Risikofaktoren wie Nikotinkonsum, Diabetes mellitus, Bluthochdruck oder Hypercholesterinämie und der koronaren Herzerkrankung. Die Linderung erfolgte durch Vermeidung oder Reduktion besagter Risiken.(Hurst, 1998) In den 50er und 60er Jahren des 20. Jahrhunderts stieg das Bewusstsein für die Erkrankung, da auch viele gesund erscheinende Männer im besten Alter am plötzlichen Herztod starben. Bekanntestes Beispiel war Franklin D. Roosevelt (1882-1945) ehemaliger Präsident der USA, welcher an einer koronaren Herzkrankheit infolge von unbehandelten Risikofaktoren verstarb.(Bruenn, 1970)

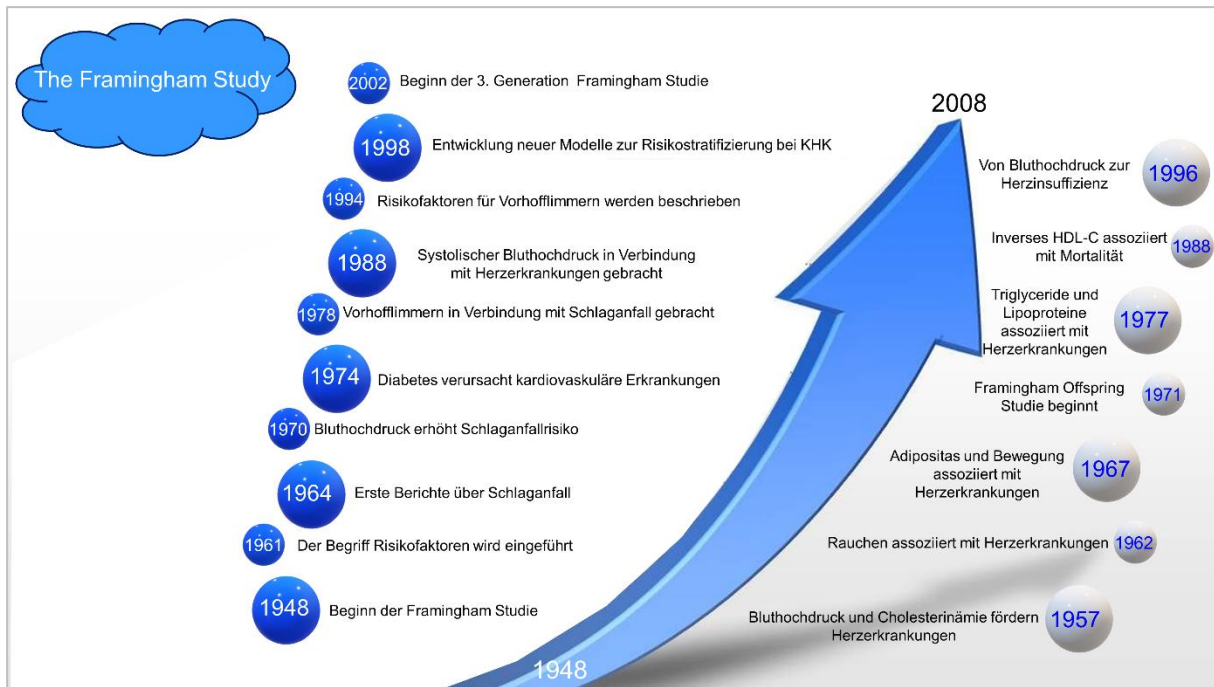


Abbildung 2.1 nach O'Donnell CJ et al. Cardiovascular risk factors. Insights from Framingham Heart Study. 2008 (O'Donnell and Elosua, 2008)

In einer großangelegten Studie des National Heart Institute diente die Population von Framingham (Massachusetts) im Jahre 1948 zur Erforschung der Epidemiologie und der Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen. (Ndrepepa, 2017) Aus diesem Anlass wurde 13 Jahre später in einer Follow Up Publikation Bluthochdruck, erhöhter Cholesterinspiegel und elektrokardiografische Anzeichen für eine Linksherzhypertrophie, als Risikofaktoren definiert. Im Laufe der Zeit folgten Weitere. Der Begriff „risk factor“ wurde allgemein akzeptiert, Richtlinien und Grenzwerte erarbeitet und die Bevölkerung hinsichtlich eines gesunden Lebensstils aufgeklärt. (Kannel et al., 1961, Nabel and Braunwald, 2012)

Durch neue, moderne Therapieansätze sowie Medizinprodukte konnten Koronarangiographien oder Bypass Operationen durchgeführt werden, darüber hinaus fand die Anwendung von Medikamenten wie β -Blocker oder Statine Einzug in die Therapie. Die Manifestation von sogenannten „coronary care Units“ in Krankenhäusern mit elektrokardiographischer Überwachung und Defibrillationsmöglichkeiten war ein weiterer Fortschritt, der die Mortalitätsrate sinken lies. (Braunwald, 2003, Hajar, 2016, Julian, 1961)

Vor allem der französische Physiologe Claude Bernard (1813-1878), der 1844 Versuche an Pferden durchführte, gilt als Begründer der Herzkatheteruntersuchung.

Er perforierte Jugularvene und Arteria Carotis, führte Katheter mit langen Glasrohren zum Herzen und konnte im Verlauf auch über femorale Zugangswege katheterisieren.(Mueller and Sanborn, 1995) Die erste Katheterisierung eines Menschen erfolgte durch Werner Forssmann (1904-1979), der 1929 in einem Selbstversuch zunächst über die linke Vena basilica einen 35 cm langen Katheter und später einen 65 cm langen Katheter bis in seinen rechten Vorhof einbrachte und ein Röntgenbild anfertigte.(Mueller and Sanborn, 1995)

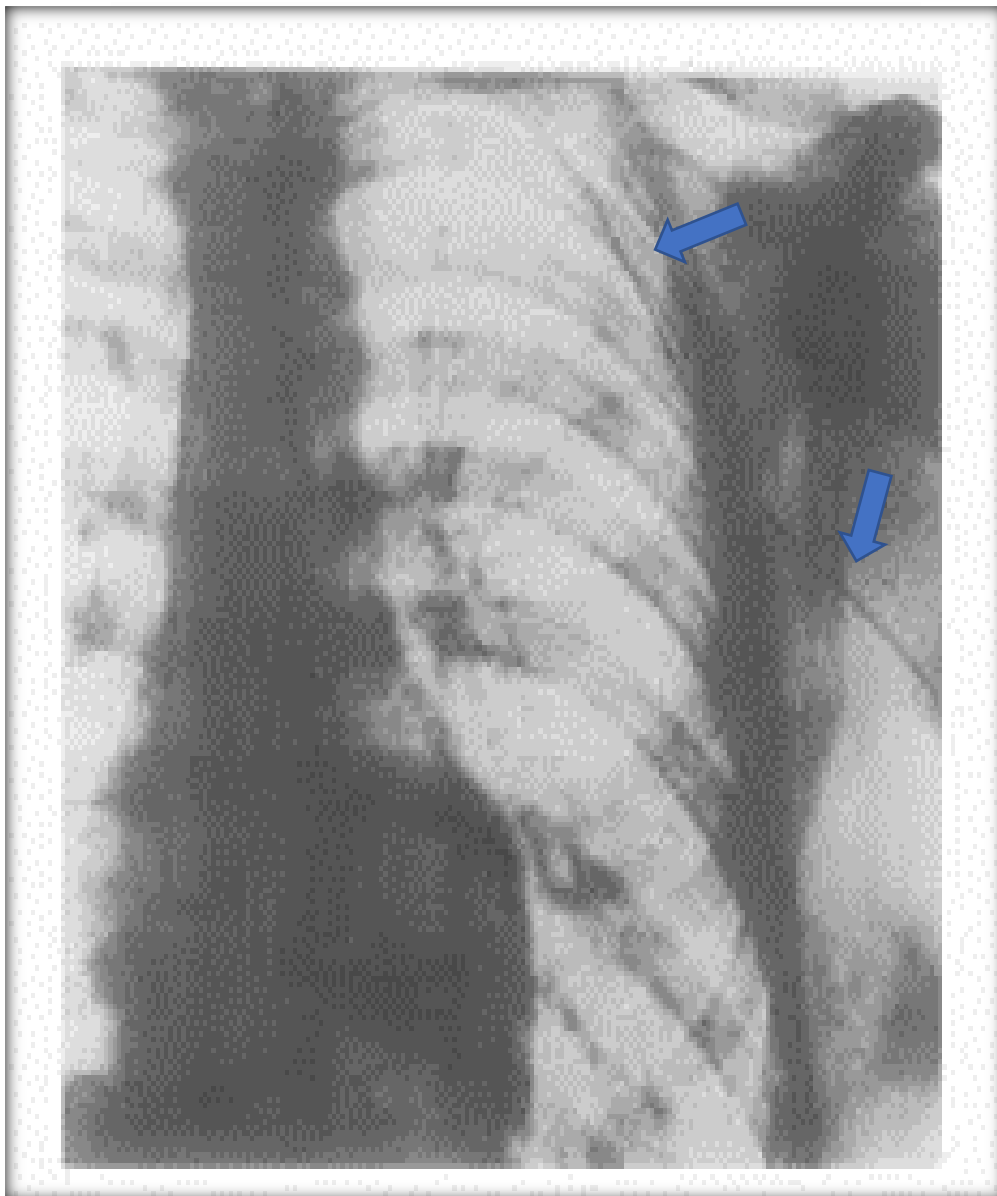


Abbildung 2.2 Erste Herzkatheteruntersuchung durch W. Forssmann. Einführung über die linke Vena Basilica bis in den rechten Vorhof. (blauer Pfeil) (Forssmann W. Klin Wochenschr 1929; 8: 2085-7 mit freundlicher Genehmigung des Springer Verlags)

Der Grundstein für die ab dem Jahr 1958 verfügbare Koronarangiographie war gelegt. In Kombination mit der linksventrikulären Untersuchung wurde eine Diagnostik ermöglicht, die sich als goldener Standard etablierte. Gefäßuntersuchungen bei verändertem Lumen und die Revaskularisation thrombotisch verschlossener Gefäße waren fortan technisch durchführbar. Die kardiologisch bedingten Interventionen nahmen auch mit der Einführung der „initial technique of balloon angioplasty“, der „Bare-Metal-Stents“ (BMS) und der „Drug-Eluting-Stents“ (DMS) zu. Die Langzeitprognose von Patienten mit koronarer Herzkrankheit verbesserte sich dadurch interdisziplinär deutlich. (Cournand and Ranges, 1941, Gruntzig et al., 1979, Serruys et al., 2002, Sones and Shirey, 1962)

Die Entwicklung von geeigneten Präparaten wie Streptokinasen, ermöglichte ferner die notfallmäßige präklinische medikamentöse Rekanalisation thrombosierter oder obliterierter Gefäße durch Fibrinolyse. (Chazov et al., 1976) Darüber hinaus wurde durch die „Second International Study of Infarct Survival“ (ISIS-2), eine dauerhafte Therapie mit Acetylsalicylsäure (ASS) üblich. (ISIS-2, 1988) Eine Stent Therapie in Kombination mit dualer antithrombozytärer Therapie (P2Y₁₂ Rezeptor Antagonisten und Glykoprotein IIb/IIIa Rezeptor Blockern) verringerte die Sterblichkeit weiter um circa 7 %. (Nabel and Braunwald, 2012) Patienten mit verminderter linksventrikulärer Ejektionsfraktion profitierten zusätzlich von Schrittmachern und Defibrillatoren. (Burkhardt and Wilkoff, 2007, Moss et al., 2002, Slaughter et al., 2009)

2.3 Stabile koronare Herzkrankheit

Eine stabile koronare Herzkrankheit tritt meist in Verbindung mit emotionalem Stress oder körperlicher Anstrengung auf und ist definitionsgemäß gekennzeichnet durch ein Ungleichgewicht von Sauerstoffangebot und Sauerstoffverbrauch. Verengte Herzkranzgefäße verursachen eine Ischämie oder Hypoxie nachgeschalteter Versorgungsbereiche am Herzen. Eine Reduktion der Einflussfaktoren hat eine

Beendigung der Unterversorgung und eine vollständige Rückbildung der Symptomatik zur Folge.

Klinisch erfassbar wird dies meist durch vorübergehende Brustenge (Angina Pectoris) vor allem im Bereich des Sternums. Die Symptome können jedoch auch im Oberbauch, im Unterkiefer und den Zähnen, zwischen den Schultern und im Arm bis hin zum Handgelenk und den Fingern wahrgenommen werden. Patienten bemerken das Unbehagen meist als Druck, Enge oder Schweregefühl, es kann jedoch auch bis hin zu brennenden, erdrosselnden und fesselnden Wahrnehmungen gehen. Die Dauer wird meist als kurz eingeschätzt und überschreitet selten mehr als 10 Minuten. (Herold, 2018, Montalescot et al., 2013)

Die ähnliche aber teils unterschiedliche Schmerzlokalisierung ist bedingt durch die Konvergenz von viszeralen und somatischen Afferenzen auf ein und dasselbe Neuron im Zentralnervensystem. (Foreman et al., 1981) Dadurch ist die große Varianz an Schmerzwahrnehmungen ableitbar, was behandelnde Mediziner vor eine große Herausforderung stellt. (Maseri et al., 1992)

Es können verschiedene Pathomechanismen beteiligt sein. Sowohl Plaque-assoziierte Verschlüsse der Herzkranzgefäße, als auch Spasmen der Koronararterien, mikrovaskuläre Dysfunktionen und ischämische Kardiomyopathien bewirken die Symptomatik der stabilen Angina Pectoris. (Montalescot et al., 2013)

Als Konsequenz aller vier Mechanismen erfolgt eine Reduktion der koronaren Flussreserve (CFR), welche definiert ist als Quotient des maximalen Blut-Volumenstroms in den Koronararterien unter Belastung, und dem Blut-Volumenstrom in Ruhe. (Montalescot et al., 2013) Die CFR ist ein Index für die Funktionsfähigkeit der Koronargefäße, und sinkt proportional zur Ausprägung einer Stenose. Sie strebt bei Stenosen, die größer als 80 % des Lumens betragen gegen Null. Mit einer CFR=0 kommt es bei weiterer Belastungssteigerung zur Ischämie des Myokards. (Camici, 2004)

Bei koronaren Flussreserven mit Werten zwischen 3,5-5 geht man von gesunden Patienten aus, wohingegen bei CFR Raten <2-2,5 davon auszugehen ist, dass Patienten eine Stenose der Koronargefäße aufweisen. (Kern et al., 1996) Es entsteht eine immer wiederkehrende Ischämie sobald unter Belastung mehr Sauerstoff benötigt wird. Dies führt im ischämischen Bereich zu einer reversiblen kontraktilen Dysfunktion

das von Heyndrickx et al., als myokardiales Stunning bezeichnet wurde. (Heyndrickx et al., 1975)

Als weitere Folge kann es zur „Hibernation“ kommen, welche von Diamond et al, Rahimtoola, Braunwald und Rutherford als Zellwandveränderung im post-ischämischen Bereichen ohne vorherigen Myokardinfarkt definiert wird, bei dem das Herz seine Funktion dem Sauerstoff und Nährstoffangebot des Blutes anpasst und ein neues Gleichgewicht herstellt. (Vanoverschelde et al., 1997, Diamond et al., 1978, Rahimtoola, 1989, Braunwald and Rutherford, 1986) Im Rahmen der Ischämie kommt es zur Freisetzung von Metaboliten, wie beispielsweise Adenosin, welches über Stimulation von A1-Rezeptoren und im Zusammenhang mit Substanz P zur Schmerzauslösung beiträgt. (Crea and Gaspardone, 1997)

2.4 Akutes Koronarsyndrom

Unter Akutem Koronarsyndrom (ACS) versteht man eine Gruppe von Erkrankungen, die durch das Leitsymptom der Brustschmerzen charakterisiert wird. Hierbei werden Faktoren wie Alter, Schmerzcharakter, Begleiterkrankungen und kardiale Risikofaktoren mit einbezogen. (Herold, 2018) Grundlage bildet die im Laufe des Lebens voranschreitende atherosklerotische Veränderung von Herzkrankgefäßen, die durch Risikofaktoren begünstigt werden. (Fuster et al., 1992)

Ausgelöst wird das ACS meist durch Ablösung von atherosklerotischer Plaque, welche den Kontakt mit subendotheliale Kollagen, Tissue Faktor und andere an der Blutgerinnung beteiligten Substanzen mit dem Blut ermöglicht. Dies kann zur Aktivierung von Gerinnungskaskaden und folglich zum Verschluss des Gefäßes führen. (Abbate et al., 2012) Beim Akuten Koronarsyndrom ist die Gefahr der Myokardischämie, mit folgender Nekrose des Herzmuskelgewebes und damit einem Pumpversagen des Herzens, in dessen Folge der Tod eintritt sehr hoch. Daher ist eine Risikostratifizierung, beispielsweise der über 8 Millionen Patienten in den USA, die notfallmäßig mit nicht traumatischen Brustschmerzen vorstellig werden, unabdingbar. (Storrow and Gibler, 2000, Morrow et al., 2007)

Als Goldstandard in der Diagnostik und zur Differenzierung von ACS Patienten in zwei Gruppen hat sich das 12-Kanal EKG etabliert, wobei empfohlen wird dieses innerhalb der ersten 10 Minuten nach Kontakt mit Rettungspersonal zu erstellen. (Diercks et al., 2006, Roffi et al., 2016)

2.4.1 Nicht ST-Hebungs-Myokardinfarkt (NSTEMI)

Bei einem Nicht ST-Hebungs-Myokardinfarkt stellt sich das EKG in einem Drittel der Fälle als unauffällig dar, kann jedoch mit ST-Senkung, vorübergehender ST-Hebung oder T-Wellen Veränderungen oder Kombinationen einhergehen. Je nach Ausprägung der Symptomatik kommt es in 30-50 % der Fälle zu beschriebenen Veränderungen. (Savonitto et al., 1999, Kumar and Cannon, 2009, Cannon et al., 1997) Dabei sollte nach Möglichkeit und sofern vorliegen, auf vorherige EKG Befunde zur Interpretation zurückgegriffen und verglichen werden. (Brush et al., 1985)

Für den Fall, dass Standardableitungen bei eindeutigen Symptomen nicht aufschlussreich erscheinen, sollten rechtspräkordiale Ableitungen oder linksposteriore Brustwandableitungen hinzugezogen werden. Adjuvant zur Diagnosesicherung werden Biomarker in Form von hochsensitivem Troponin verwendet, da diese im Vergleich zu CK, CK-MB oder Myoglobin, wesentlich sensitiver und spezifischer für den Untergang von Herzmuskelgewebe sind. (Roffi et al., 2016, Thygesen et al., 2012b)

Es muss darauf geachtet werden, dass sich ein diagnoserelevanter Troponin-Wert erst nach 6 Stunden zeigt. (Kumar and Cannon, 2009) Ein negativer Troponin-Wert deutet auf eine instabile Angina Pectoris hin, wohingegen ein positiver Wert ein NSTEMI nahelegt. (Roffi et al., 2016)

2.4.2 ST-Hebungs-Myokardinfarkt (STEMI)

Ein ST-Hebungsinfarkt ist definiert durch eine Anfallsdauer von mehr als 20 Minuten in Kombination mit Resistenz auf Nitroglyceringabe. Eine kardiale Vorgeschichte kann die Arbeitsdiagnose erhärten. (Steg et al., 2012) Zur klassischen Brustenge können bei bis zu 30 % der Patienten auch unspezifische Symptome wie Übelkeit, Erbrechen, Kurzatmigkeit oder Synkopen auftreten. (Brieger et al., 2004)

Am EKG sind ST-Hebungen in zwei benachbarten Ableitungen und später ein positiver Troponin-Wert ausschlaggebend für die Diagnose. Hierbei ist ein kontinuierliches Monitoring, die adäquate Medikation und die schnellstmögliche Re-Perfusion im Herzkatheterlabor wichtig für eine erfolgreiche Therapie. (Steg et al., 2012)

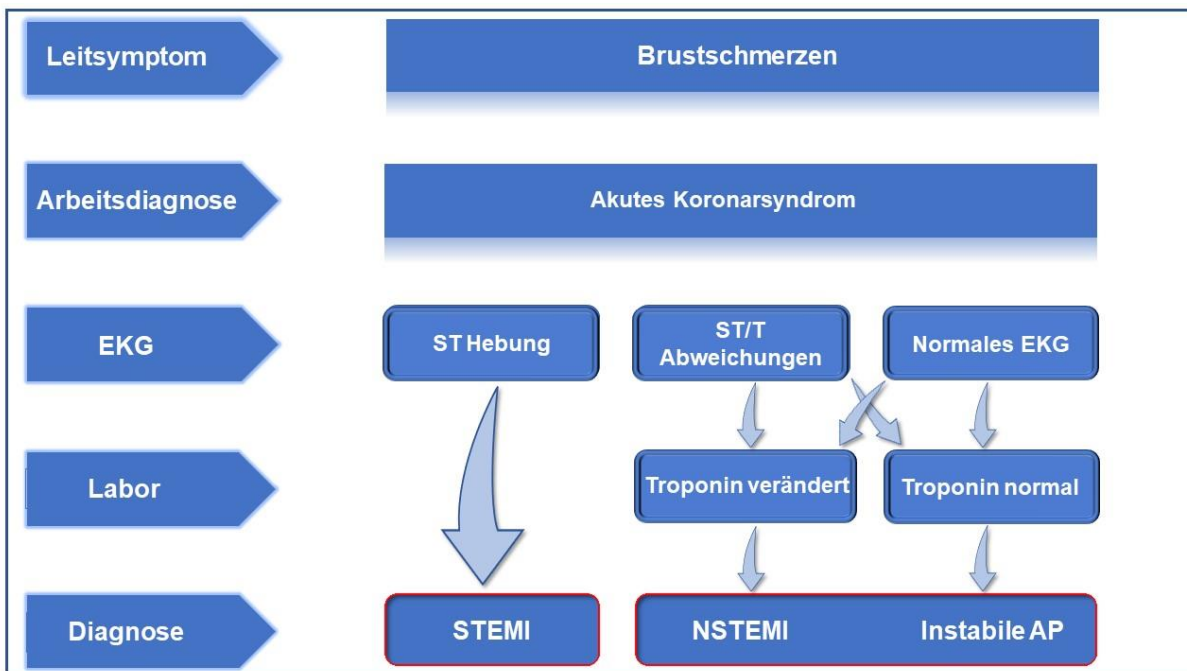


Abbildung 2.3 nach Hamm et al., ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) Eur Heart J. 2011;32(23):2999-3054. (Hamm et al., 2011)

2.5 Thrombozyten

2.5.1 Entdeckung

Für die Entdeckung der Thrombozyten kommen mehrere Wissenschaftler in Betracht. Max Schultze (1825-1874), der 1865 Thrombozyten eher beiläufig im Rahmen seiner Leukozyten Studie erwähnte und als „normaler Bestandteil des Blutes“ und geeignetes „Ziel für weitere Studien“ definierte (Brewer, 2006), und William Osler (1849-1919), der sich in seinen Veröffentlichungen von 1873 und 1874 nicht sicher war, ob gefundene Zellen, Teil des Blutes waren oder doch fremde Organismen, legten Grundsteine für das Vorhandensein von Thrombozyten. (Robb-Smith, 1967)

Letztendlich war es Giulio Bizzozero (1846-1901), der in seiner Studie aus dem Jahr 1881/1882 Thrombozyten als korpuskuläre Bestandteile des Blutes bewies. Er erforschte mikroskopisch sowohl zirkulierendes Tierblut, als auch Blut außerhalb der Gefäße. Er wies den Zusammenhang zwischen Thrombozyten und Leukozyten in einem Thrombus nach, die Osler später in atherosklerotisch veränderten Herzklappen und Aortenaneurysmen entdeckte. (Bizzozero, 1882, Mazzarello et al., 2001, Bizzozero, 1881, Gaetano and Cerletti, 2002) Auch die Entdeckung von Knochenmarks Megakaryozyten, welche Wright 1906 als Vorläuferzellen der Thrombozyten identifizierte, wies Bizzozero nach. (Bizzozero, 1869., Wright, 1906;)

Lange Zeit wurden Thrombozyten eher mit der Thrombose der Blutgefäße, denn mit der Hämostase des Blutes in Verbindung gebracht. Die Relevanz bei der Hämostase konnte Duke, ein Student Wrights 1910 zeigen. Ein Patient, mit starker Thrombozytopenie, bekam eine der ersten Bluttransfusionen, woraufhin seine Thrombozytenzahl stieg und sich die von Duke eigens definierte Blutungszeit normalisierte. Duke schloss daraus, dass es trotz normaler Gerinnungszeit, einen Zusammenhang zwischen Thrombozytenzahl, der Hämostase und der verlängerten Blutungszeit geben musste. (de Gaetano, 2001, Brinkhous, 1983, Levin, 2013)

Die Tatsache der verminderten Thrombozytenanzahl und der einhergehenden Thrombozytopenie führte Anfang des 20. Jahrhunderts zu zahlreichen

Beschreibungen von Erkrankungen wie der May-Hegglin Anomalie, der Glanzmann Thrombozytopenie, dem Moschcowitz Syndrom, dem von Willebrand-Jürgens Syndrom oder dem Bernard-Soulier Syndrom.(Saito and Kunishima, 2008, Duke, 1983, Moake, 2004, Collier, 2011)

Harrington et al. konnten nachweisen, dass bei einer Transfusion von einem an Immunthrombozytopenie erkrankten Patienten auf gesunde Patienten, darunter Harrington selbst, die Erkrankung mit dem Plasma übertragen wurde. Zudem erforschte Harrington die Rolle der Antikörper, Auswirkungen von Milzentfernung und die Glucokortikoidtherapie.(Harrington et al., 1951, Harrington et al., 1953)

Ein weiterer Ansatz von Kaznelson im Jahr 1916 war die Annahme, dass die Immunthrombozytopenie durch Maserung von Thrombozyten in der Milz ausgelöst wurde. Im Folgenden war Prof. Schloffer, sein Tutor, der erste der eine Splenektomie durchführte, welche eine steigende Thrombozytenzahl zur Folge hatte und ihm recht gab.(Yoshida, 2008)

Die Therapieformen nach Dukes erster Transfusion wurden erst Ende des zweiten Weltkrieges gefördert. Ausschlaggebend für das erhöhte Interesse war ein Förderprogramm der US Regierung, welche die idiopathische thrombozytopenische Purpura als Todesursache von ionisierender Strahlung im Zusammenhang mit Atomwaffen erkannte. Weiterhin konnte belegt werden, dass die Thrombozytopenie eine Nebenwirkung von Chemotherapeutika war und die Transfusion von Thrombozyten daher unerlässlich für die Therapie von Krebserkrankungen.

Diverse weitere technische Fortschritte wie die optimierte Zentrifugentechnik, Kryokonservierungen oder die verbesserte Lagerung von Proben konnten zum rasanten Therapieerfolg beitragen.(Collier, 2013, Gardner and Cohen, 1960)

Im Jahr 1960 wurde im norwegischen Oslo bei Tierforschungsversuchen die Basis zum Verständnis der Hämostase und dem Zusammenspiel zwischen Thrombozyten untereinander (Adhäsion) und der Zellwand (Aggregation) gelegt. Forscher konnten elektronenmikroskopisch, morphologische Formveränderungen und Anlagerungen im Bereich der Zellwand nachweisen. Darüber hinaus konnte die Bindung und Wechselwirkung der Thrombozyten mit subendotheliale Kollagen festgestellt werden. Die Formveränderung der Thrombozyten in Verbindung mit Ausbildung von

Pseudopodien war zurück zu führen auf Aktin-Myosin-Interaktionen. Von Bedeutung bei der Adhäsion und Degranulation der Thrombozyten sind auch Thrombin und Serotonin. Diese wirken sowohl vasokonstriktorisches als auch Plättchen aktivierend auf andere Thrombozyten. (Zucker et al., 1954, Bettex-Galland and Clemetson, 2005, Bettex-Galland et al., 1962, Bounameaux, 2005, Hovig, 2005)

Die Bildung von Thrombozyten erfolgt durch Thrombopoietin (TPO) ein Glykoprotein, das zu den Zytokinen gezählt werden kann. Die Bezeichnung wurde im Jahr 1958 zunächst auf Verdacht und in Anlehnung an Erythropoetin, welches die Bildung von roten Blutkörperchen fördert, verwendet. (Kelemen, 1995, Kelemen et al., 1958)

1994 wurde dann die Existenz von Thrombopoietin durch verschiedene wissenschaftliche Forschungsteams nachgewiesen und zahlreiche Namen wie MGDF, c-mpl Ligand, TPO oder Megapoeitin benutzt. (Bartley et al., 1994, Lok et al., 1994, de Sauvage et al., 1994, Kuter et al., 1994, Kato et al., 1995) Ihnen gleich, ist die Erhöhung der Thrombozytenzahl bei Tieren als auch beim Menschen. Dies geschieht, zum einen durch erhöhte Proliferation der Vorläuferzellen, zum anderen durch einen verlängerten Lebenszyklus der Thrombozyten. Mutationen, fehlendes TPO oder seinem Rezeptor ist einhergehend mit Thrombozytopenien. (Ballmaier et al., 2001)

Durch neue biochemische Verfahren konnte die Lipid- und Proteinzusammensetzung der Thrombozyten, die enzymatischen Vorgänge und der Energiestoffwechsel entschlüsselt werden. (Salzman and Neri, 1966, Collier, 2011) Hellem et al. bewies die Thrombozyten aktivierende Funktion von ADP. (Hellem et al., 1961)

Auch die Analyse von Thrombozytengranula führte zur Annahme, dass Glykoproteine wie Fibrinogen, von Willebrand Faktor und Thrombospondin-1, enthalten in α -Granula der Thrombozyten, an der Interaktion zwischen Zellwand und an der Thrombozytenwechselwirkung beteiligt sind. (Niewiarowski, 1977, White and Clawson, 1980, Baenziger et al., 1972)

Die Aktivierung von Thrombozyten wird durch einige Faktoren ausgehend von den Zellwänden des Endothels verhindert. Moncada et al. und Weksler et al. belegten die Synthese und Ausschüttung von Prostaglandin I₂ aus Arachidonsäure. (Weksler et al., 1977, Moncada et al., 1976) Stickstoffmonoxid (NO) erzielt, ebenfalls durch das Endothel sezerniert, ähnliche Wirkung. (Radomski et al., 1987, Loscalzo, 2001) Marcus

et al. bewies die ecto-ADPase, welche ADP in seine inaktive Form AMP metabolisiert und dadurch nicht mehr zur Aktivierung von Thrombozyten fähig ist.(Marcus et al., 1997, Marcus et al., 2005)

Wissenschaftliche Entwicklungen im Bereich der analytischen Verfahrenstechniken ermöglichten immer neuere Erkenntnisse. Die Bindung von Substrat und Ligand konnte beispielsweise durch die Einführung der Radionukleotide, genauer der Natrium-Dodecyl Sulfat Polyacrylamid Gel Elektrophorese (SDS-PAGE) studiert werden und half bei der Differenzierung und Einteilung von Glykoproteinen.(George et al., 1984, Nurden et al., 2006, Solum and Clemetson, 2005)

Die Einführung der Polymerasekettenreaktion (PCR) und dadurch Erforschung der Thrombozyten mRNA, führte dazu, dass bei mehreren Thrombozytopenien wie Glanzmann Thrombozytopenie, Bernard-Soulier Syndrom oder von Willebrand Syndrom, Defekte in Glykoproteinrezeptoren ausgemacht wurden.(Coller, 2011)

2.5.2 Thrombozytenaggregationshemmung

Der Zusammenhang zwischen Thrombozyten und arterieller Thrombose wurde in einer Studie aus dem Jahre 1967 von Mustard deutlich. Er konnte in Tierversuchen die Applikation von ADP mit Herzrhythmusstörungen und kardialer Ischämien in Verbindung bringen.(Jorgensen, 2005, Jorgensen et al., 1967)

Die Thrombozytenaggregation wird durch eine umfangreiche Anzahl an Medikamenten verhindert. Schon in der ISIS-2 Studie wurde der thrombozytenaggregationshemmende Effekt von Acetylsalicylsäure bewiesen.(ISIS-2, 1988) Der Wirkmechanismus basiert dabei auf Grundlage von selektiver und irreversibler Hemmung der Cyclooxygenasen. Sowohl Thromboxan A₂, Bestandteil der Thrombozyten, als auch die Prostaglandinsynthese der Endothelzellen aus Arachidonsäure wird unterbunden.(Ricciotti and FitzGerald, 2011, Coller, 2011)

Die ADP-Rezeptor Antagonisten aus der Gruppe der Thienopyridine (Clopidogrel, Prasugrel oder Ticlopidin) verhindern gleichermaßen die Thrombozytenaggregation.

Sie antagonisieren den ADP Rezeptor der Thrombozyten, wodurch der Glykoproteinrezeptorkomplex IIb/IIIa nicht aktiviert wird. Es erfolgt keine Thrombozytenaktivierung.

Im Jahr 1974 wurde der entzündungshemmende, ADP-vermittelte und thrombozytenaggregierende Einfluss zunächst für Ticlopidin nachgewiesen. Nebenwirkungen wie Neutropenie und Thrombotisch-Thrombozytopenische Purpura waren zu einem geringen Prozentsatz nicht von der Hand zu weisen.(Love et al., 1998) Die antithrombotische Wirkung von Ticlopidin war gegenüber ASS weit überlegen und konnte zudem im Sinne der Sekundärtherapie nach Schlaganfall, TIA oder instabiler Angina angewendet werden.(Schomig et al., 1996)

Auch Clopidogrel wurde 1998 für den klinischen Gebrauch zugelassen. Es bestand eine deutliche Überlegenheit gegenüber ASS. Zusätzlich war das bessere Toxizitätsprofil im Vergleich zu Ticlopidin für Kliniker überzeugend.(Balamuthusamy and Arora, 2007) Gurbel et al. stellte 2003 fest, dass trotz Standarddosierung bei verschiedenen Patienten unterschiedliche Wirkungen auftraten.(Gurbel et al., 2003) Grund waren die unterschiedlichen Cytochrom P450 assoziierten Aktivierungsprozesse und eine Variante des Isoenzym CYP2C19.(Shuldiner et al., 2009)

Prasugrel als weiteres Thienopyridin hat einen größeren antithrombotischen Effekt und bleibt von CYP2C19 unbeeinflusst. Im Vergleich zu Clopidogrel besitzt Prasugrel jedoch, eine erhöhte Blutungsneigung und wird daher bei Patienten mit deutlichem Thromboserisiko oder bei Patienten bei denen Clopidogrel keine ausreichenden antithrombotischen Effekte erzielt, eingesetzt.

Ticagrelor als Nicht-Thienopyridin wirkt ebenfalls als P2Y₁₂ Rezeptor Antagonist und wird oral appliziert. Der Vorteil besteht im schnellen Wirkungseintritt und Nachlassen der Wirkung. Es wird bei Patienten verwendet, die auf Clopidogrel nicht adäquat reagieren.(Abergel and Nikolsky, 2010, Gurbel et al., 2010) Im klinischen Alltag wurden allerdings bereits Nebenwirkungen wie erhöhte Blutungsneigung, Dyspnoe und Herzrhythmusstörungen festgestellt.(Gaglia and Waksman, 2011)

Die Entwicklung von Abciximab 1994, Eptifibatid und Tirofiban im Jahre 1998, erweiterten die Möglichkeiten der Thrombozytenaggregationshemmung nochmals.

Anwendung findet der monoklonale Antikörper Abciximab vor allem zur Reduktion von Komplikationen nach PCI und der Behandlung von ACS Patienten. (Bosch et al., 2010, Gurm et al., 2009, De Luca et al., 2009)

Neueste Studien an KHK Patienten zeigten, dass Cangrelor, ein intravenöser kurzwirksamer P2Y₁₂ Rezeptor Antagonist, weniger thrombotische kardiovaskuläre Ereignisse nach PCI verursachen. (Droppa et al., 2016)

2.5.3 Thrombozytenbiologie

Die Struktur von Thrombozyten gleicht einer bikonkaven, kernlosen Scheibe, welche 0,5 – 1 µm dick ist und einen Durchmesser von 2 – 4 µm aufweist. Bei einem gesunden Erwachsenen wird eine Thrombozytenzahl von 150000 – 350000 pro µl Blut als normal angesehen. Thrombozyten entstehen durch Abschnürung von Megakaryozyten, ausgehend von pluripotenten Stammzellen des Knochenmarks. Dabei sind Thrombozyten aus einem submembranösen Zytoskelett bestehend aus Aktin, Filamin und Glykoproteinen und einem granulärem Organellensystem aufgebaut. (Behrends, 2010)

Die granulären sekretorischen Organellen können in 3 Hauptgruppen eingeteilt werden, darunter α Granula, Dense Bodies (δ Granula) und Lysosomen. Sie werden alle 3 in den Megakaryozyten aus dem Golgi Komplex gebildet. (Heijnen et al., 1998) Im Zuge der Hämostase spielen diese Granula eine zentrale Rolle.

2.5.4 Hämostase

Bei einer Gefäßverletzung die zu potenziellem Blutverlust führt, versucht der Körper über Thrombozyten die Blutung zu beenden. Dieser Prozess wird als Hämostase bezeichnet und kann dabei in eine primäre Hämostase (Blutstillung) und eine

sekundäre Hämostase (Blutgerinnung) unterteilt werden. Die Blutstillung erfolgt durch einen Thrombus, der die Gefäßverletzung abdichtet. Nachfolgend beginnt die Blutgerinnung durch eine Gerinnungskaskade. Es interagieren Gerinnungsfaktoren in einer spezifischen Abfolge um ein festes Fibrinnetz zu bilden und somit einen stabilen Wundverschluss zu ermöglichen. (Alberio and Clemetson, 2005)

Thrombozyten zirkulieren im Blut vornehmlich im Bereich der intakten Zellwände, wodurch Thrombosen verhindert werden. (Tangelder et al., 1985, Woldhuis et al., 1992) Kommt es zu einer Verletzung, in Kombination mit einer Kontinuitätsunterbrechung der Endothelwand, wird subendotheliales Kollagen freigelegt und von-Willebrand-Faktor (vWF) freigesetzt. (Langer and Gawaz, 2006) Die Thrombozytenadhäsion beginnt durch den freigesetzten vWF (A1 Domäne), welcher die Verbindung zwischen freigelegtem Kollagen und dem auf den Thrombozyten exprimierten Glykoproteinkomplex GP Ib/IX/V herstellt. (Fujimura et al., 1986, Varga-Szabo et al., 2008) Die GP Ia/IIa und GP VI der Thrombozyten reagieren direkt mit freiliegendem Kollagen, was zu einem „Entlangrollen“ und „Anheften“ der Thrombozyten an der Gefäßwand führt. (Behrends, 2010)

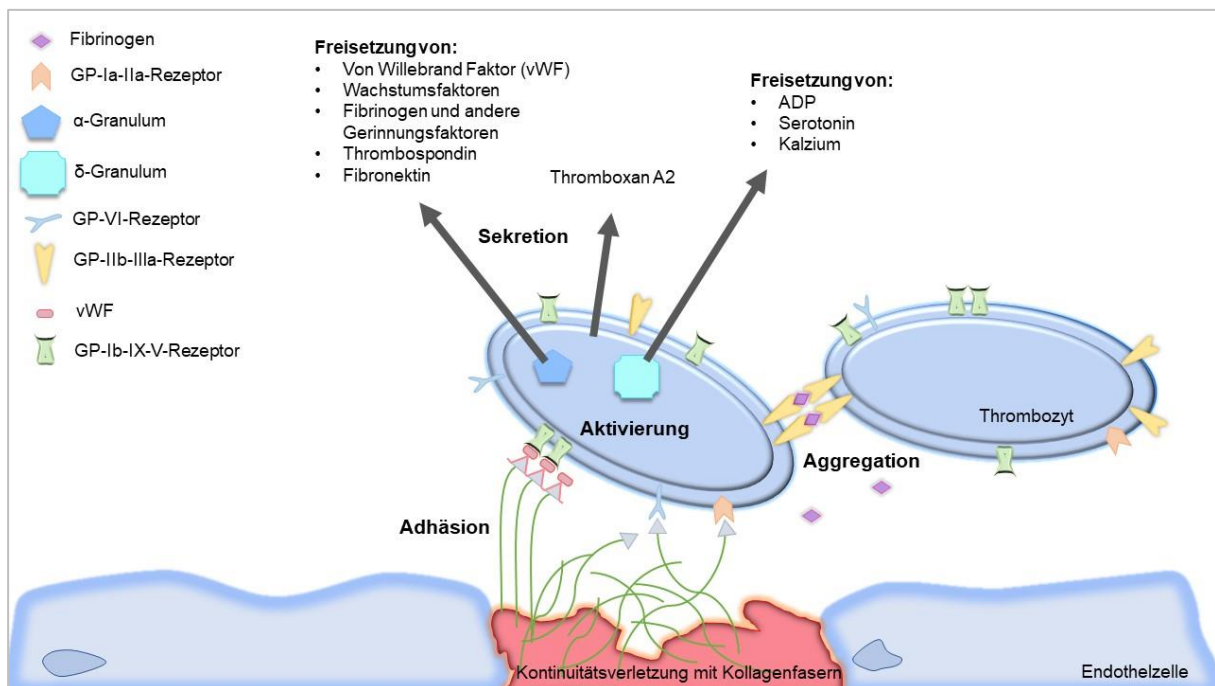


Abbildung 2.4 nach Behrends et al., Duale Reihe Physiologie, Thieme 2010 (Behrends, 2010) Schematische Darstellung der primären Hämostase mit Adhäsion, Aggregation, Aktivierung der Thrombozyten und folgende Sekretion.

Die Thrombozytenaktivierung erfolgt über die Integrinrezeptoren $\alpha_{IIb}\beta_3$ und $\alpha_2\beta_1$, die eine feste Bindung zur Extrazellulärmatrix herstellen. (Daub et al., 2006) Die intrazelluläre Ca^{2+} Konzentration der Thrombozyten steigt, zum einen durch Ausschüttung von intrazellulären Speichern, zum anderen durch den Einstrom extrazellulärem Ca^{2+} . G-Protein-vermittelt, speziell durch die DAG und IP_3 Kaskade kommt es zur Ausschüttung von Granula. (Ruggeri, 2002, Murugappan et al., 2004, Varga-Szabo et al., 2008)

Weitere Folge ist die Formveränderung der Thrombozyten durch Aktin-Myosin-Interaktionen hin zu Pseudopodien, infolgedessen eine bessere Verbindung untereinander und zur Endothelwand ermöglicht wird. Die Freisetzung von Thromboxan A_2 , die aus Arachidonsäure mithilfe von Phospholipase A_2 und Cyclooxygenase entsteht, trägt unterstützend zur Aktivierung und Vasokonstriktion bei. (Behrends, 2010)

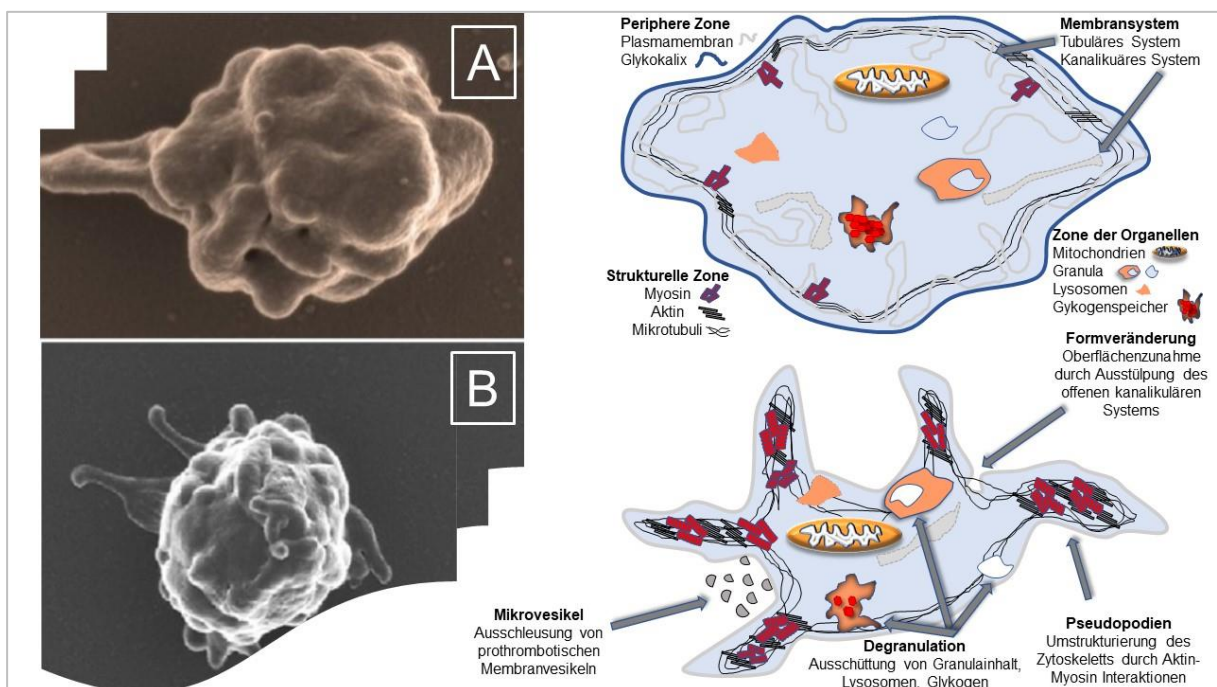


Abbildung 2.5 nach Gawaz, Das Blutplättchen, Thieme 1999 (Gawaz, 1999) und Elektronenmikroskop Aufnahme von diskoiden inaktiven Thrombozyten [200nm] (A) und aktivierten Thrombozyten [1µm] (B) (Pretorius et al., 2018, Page et al., 2018) mit freundlicher Genehmigung von Prof. Ethersia Pretorius, Stellenbosch University, South Africa

Die einsetzende Blutgerinnung wird durch die im Blutplasma zirkulierenden und von der Leber synthetisierten Gerinnungsfaktoren getragen. Indes steht die Umwandlung von Fibrinogen zu Fibrin als Endpunkt dieser Kaskade.

Dabei kann zwischen einer extrinsischen und einer intrinsischen Abfolge unterschieden werden, an deren Ende jedoch jeweils die Umwandlung in Fibrin steht. Ausschlaggebend für eine extrinsische Aktivierung ist die Gefäßverletzung und die Freisetzung von Gewebsthromboplastin (Tissue Factor). Für den intrinsischen Weg hingegen ist die Aktivierung von Faktor XII (Hageman-Faktor) durch Präkallikrein und Kininogen erforderlich. Über die Faktoren X und V entsteht Thrombin aus Prothrombin. Hier steht Thrombin als zentraler Faktor der sekundären Hämostase. Seine Aufgaben sind darüber hinaus die Abspaltung kurzer Peptidketten vom Fibrinogen, die Aktivierung von Faktor XII, V, XI, VII und die Förderung der Thrombozytenaggregation. Nach der Aktivierungsphase, deren Ziel die Bildung von Thrombin ist, erfolgt im Anschluss eine Koagulationsphase, bei der das Fibrinnetz entsteht und verknüpft wird. Am Ende der sekundären Hämostase steht die kontrahierende Retraktionsphase. (Vine, 2009, Schenone et al., 2004, Ajjan and Grant, 2006)

Im Anschluss an die Hämostase findet die Fibrinolyse statt, deren Ziel es ist, Gefäße durch Auflösung von Fibrin wieder durchgängig zu machen. Aktivator hierfür stellt eine Protease, das Plasmin, dar. Das aus Plasminogen entstandene Plasmin löst das Fibrinnetz in seine Bestandteile auf. Die freiwerdenden löslichen Peptide und Spaltprodukte hemmen die Thrombinwirkung. Spaltung von Prothrombin, Fibrinogen und der Gerinnungsfaktoren XII, XI, IX, VII und V sind ebenfalls Aufgaben von Plasmin. Um das physiologische Gleichgewicht wieder herzustellen wird die Plasminaktivierung im Verlauf durch α 2-Antiplasmin und Plasminogenaktivatorinhibitoren gehemmt. (Behrends, 2010)

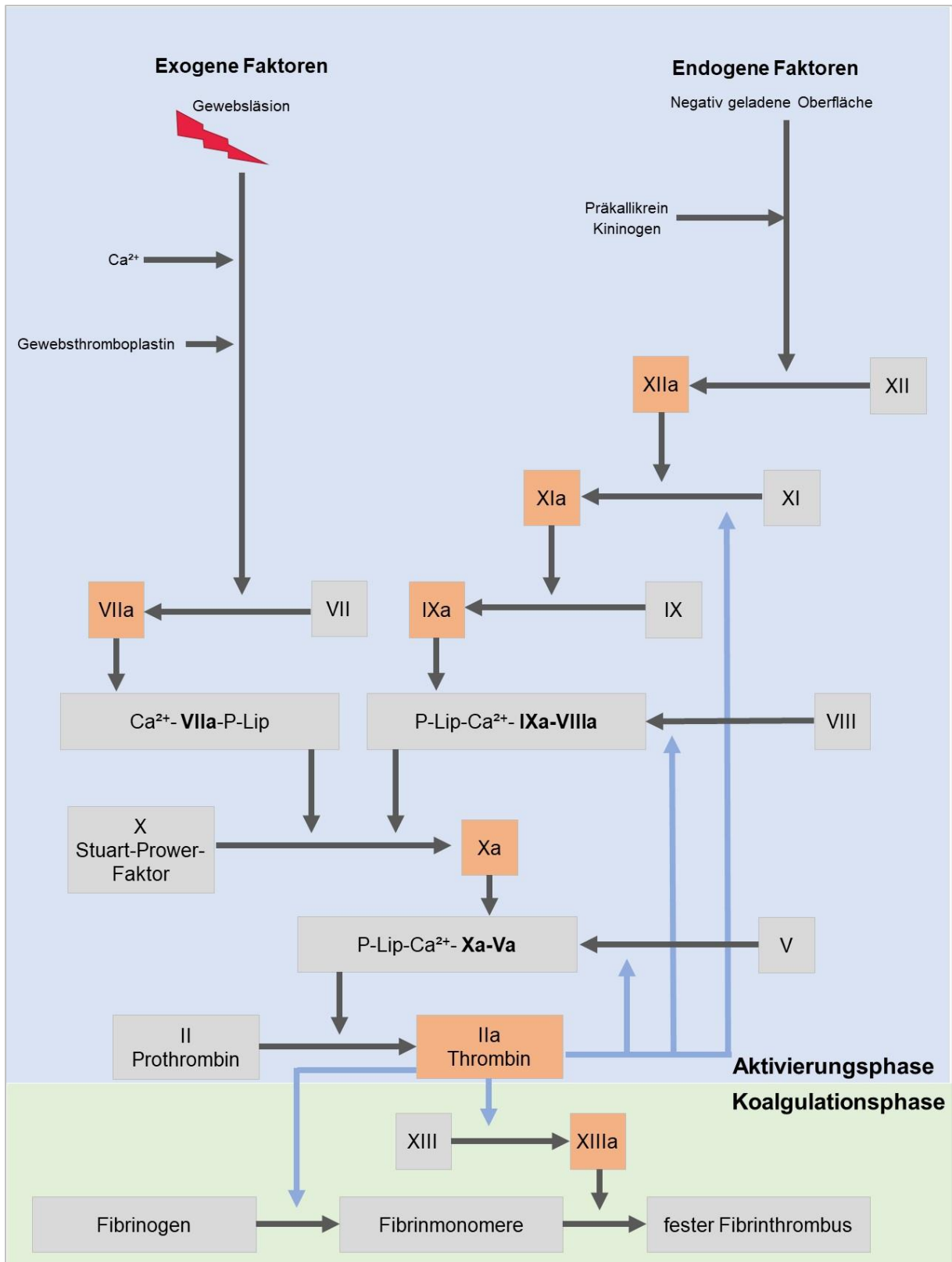


Abbildung 2.6 nach Behrends et al., Duale Reihe Physiologie, Thieme 2010 (Behrends, 2010) Tabellarische Darstellung der sekundären Hämostase geteilt in extrinsische und intrinsische Kaskade. Dabei spielt Thrombin eine zentrale Rolle in der Gerinnungskaskade (blaue Pfeile).

2.5.5 Atherosklerose

Eine arterielle Thrombose bildet die Grundlage für Myokardinfarkte als auch Schlaganfälle. Nach aktuellem Wissensstand liegt beiden Erkrankungen der gleiche Pathomechanismus zugrunde. Die Endothelwände der Arterien sind hohen Drücken und großen Scherkräften ausgesetzt. Bei einer bestehenden Atherosklerose können indes Thrombozyten mit der pathologisch veränderten Gefäßwand in Kontakt kommen und aktiviert werden. Es entsteht ein Thrombus, der zum Verschluss des Gefäßes führt. (Shah, 2009)

Für Bildung und Aktivierung des Thrombus spielt die Zusammensetzung der Plaque und nicht die numerische Größe eine wichtige Rolle. (Davies et al., 1993)

In einem atherosklerotisch veränderten Gefäßbereich kommen, aufgrund der hohen Flussgeschwindigkeit, vornehmlich nur Thrombozyten in Kontakt mit zahlreichen aktivierenden Substanzen wie beispielsweise oxidierte Lipide oder Kollagen. (Essler et al., 2000)

Arterielle Thrombosen weisen einen deutlichen Unterschied zu venösen Thrombosen auf. Hier spielen Gerinnungsfaktoren eher eine untergeordnete Rolle, da diese durch die hohe Flussgeschwindigkeit unmittelbar weiterbefördert werden. Hauptrisikofaktoren für die Entstehung einer arteriellen Thrombose sind Atherosklerose, Bluthochdruck und Gefäßanomalien die das Blut nicht mehr laminar, sondern turbulent fließen lassen und dadurch Thrombozytenadhäsion ermöglichen. Zusätzlich ist eine veränderte Aktivität von Thrombozyten an der Pathophysiologie beteiligt. (Rumbaut, 2010)

Abbildung 2.7 zeigt exemplarisch eine arterielle Thrombose. Je nach Lage, Größe und Anordnung im Gefäß kann es im Bereich der Stenose zu einem Rückstrom kommen. Die hierdurch provozierte Thrombozytenanlagerung und Fibrinablagerungen fördern die weitere Vergrößerung der Stenose. (Wolberg et al., 2012)

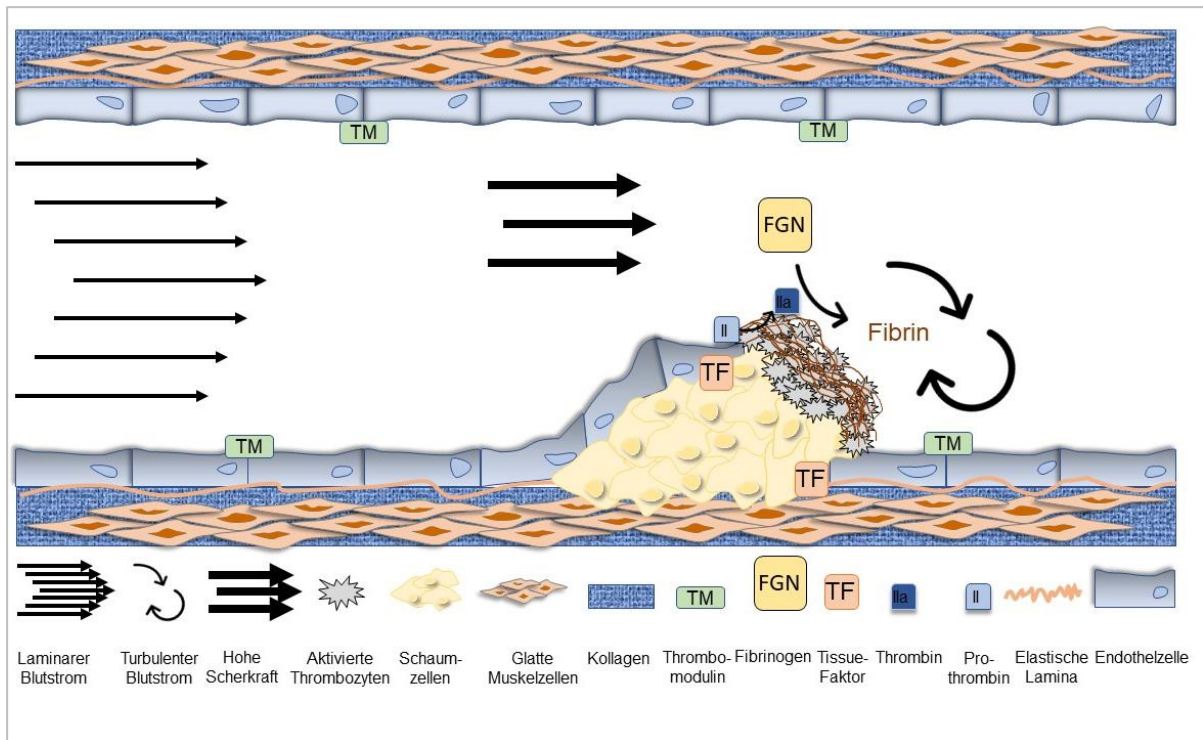


Abbildung 2.7 nach Wolberg et al., Procoagulant Activity in Hemostasis and Thrombosis: Virchow's Triad Revisited, 2012 (Wolberg et al., 2012) Schematische Darstellung einer arteriellen Thrombose.

2.6 Matrix Metalloproteasen

Zu den Matrix-Metalloproteasen auch MMPs genannt, gehören über 20 verschiedene Zink abhängige Enzyme, deren Funktion unter anderem die Auflösung von Extrazellulärmatrix bestehend aus Kollagen, Proteoglykanen oder Elastin ist. Die MMP Familie besteht aus einer Signal Sequenz, einer Prodomäne, einer katalytischen und einer Hemopexin-like Domäne. (Newby, 2006)

Die Aktivierung der meist als Propeptid sezernierten MMPs erfolgt extrazellulär durch Gewebkontakte oder Plasmaproteinasen. Zunächst bindet ein Teil des Aktivators an das Propeptid, folgend kommt es zum Lösen des Propeptids, durch eine MMP Vorstufe oder durch aktive MMPs. (Nagase et al., 2006) *In vitro* wurde festgestellt, dass Matrix-Metalloproteasen auch mit Oxidantien wie ONOO^- und HOCl durch Reaktion mit

Cystein am Propetid aktiviert werden. Dies ist ebenfalls unter entzündlichen Bedingungen in vivo möglich.(Gu et al., 2002, Peppin and Weiss, 1986).

Als hemmende Faktoren und Gegenspieler für die Aktivierung von MMPs können α 2-Makroglobulin und TIMPs angesehen werden.(Sorokin, 2010) Eine erhöhte Ausschüttung und Aktivität von MMPs ist an zahlreichen Pathophysiologien wie beispielsweise Entzündungen, Tumormetastasierung, Erkrankungen der Atemwege oder Atherosklerose beteiligt.(Ye, 2006, Johnson, 2017) Sie haben dabei Einfluss auf Endothelzellen, glatte Muskelzellen, Makrophagen und Myokardzellen im Bereich des arteriellen Gefäßsystems und spielen damit eine Rolle bei kardiovaskulären Erkrankungen.

Instabilitäten in atherosklerotischen Plaques, Umbauprozesse im linken Ventrikel nach Myokardinfarkt oder Restenosen, sind dabei MMP-vermittelte Komplikationen.(Galis and Khatri, 2002, Halade et al., 2013) Matrix-Metalloproteasen lösen die Extrazellulärmatrix auf, wodurch die fibröse Auflagerung der Plaque dünner wird. Je stärker die Aktivität umso größer ist die Gefahr eines Herzinfarktes.(Libby, 2000, Galis et al., 1994)

2.6.1 Matrix Metalloprotease-2

Die Matrix Metalloprotease-2 ist 72 kDa schwer und gehört zur Familie der Matrix-Metalloproteasen.(Chang and Werb, 2001) Das MMP2 Gen ist auf Chromosom 16 Position 12.2 lokalisiert und codiert das Enzym Gelatinase A (Typ 4 Kollagenase), welche im katalytischen Zentrum aus drei Fibronectin Typ II Wiederholungen besteht. Dadurch ist eine Bindung und Denaturierung von Typ IV oder denaturiertem Kollagen sowie Elastin möglich.(NCBI, 2018, Morgunova et al., 1999)

MMP-2 ist an der Regulation und Proliferation von Gefäßmuskelzellen und Endothelzellen beteiligt und somit ein zentraler Bestandteil in atherosklerotisch veränderten Gefäßen.(Johnson, 2017) Gefäßverschlüsse der Herzkranzgefäße ziehen eine Ischämie der distalen Areale nach sich, worauf therapeutisch die

Eröffnung des Gefäßes mittels PTCA und Stent erfolgt. Der entstehende Re-Perfusions-Schaden nach Herzinfarkten ist stark assoziiert mit MMP-2. (Kandasamy et al., 2010) Die Ausschüttung von MMP-2 ist abhängig vom Zeitintervall der Ischämie, je länger das Areal nicht mit Sauerstoff versorgt ist umso größer bleiben die Schäden nach Reperfusion. (Donato et al., 2010)

Es konnte nachgewiesen werden, dass die Regulation und Inhibierung der MMP-2 Aktivität eine bessere Prognose bezüglich kardialer Schädigungen nach Gefäßverschlüssen und Reperfusion ermöglicht. (Fert-Bober et al., 2008) Grund dafür sind die im ischämischen Bereich entstehenden Peroxynitrate ONOO^- , wodurch MMP-2 aktiviert wird. (Okamoto et al., 1997, Rajagopalan et al., 1996)

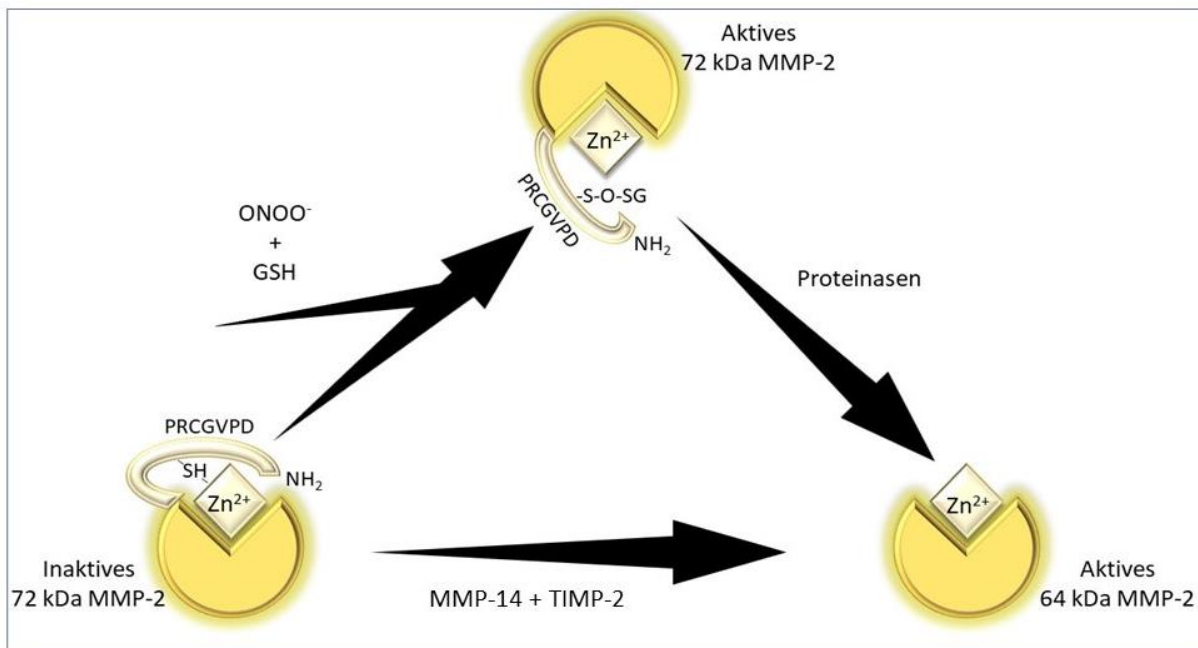


Abbildung 2.8 nach Kandasamy, Matrix metalloproteinase-2 and myocardial oxidative stress injury: beyond the matrix. 2010 Cardiovascular Research, 85, 413-423 (Kandasamy et al., 2010) Das 72 kDa MMP-2 kann auf normalem Wege durch reguläre Proteinase (MMP-14 und TIMP-2) in eine aktive 64 kDa Form umgewandelt werden. Abspaltung der Pro Domäne stört die Interaktion zwischen der Thioluntereinheit des Cysteinendes und dem katalytischen Zentrum. ONOO^- und zelluläres Glutathion (GSH) können dabei mit dem Cysteinende reagieren und damit zu einem aktiven Enzym führen.

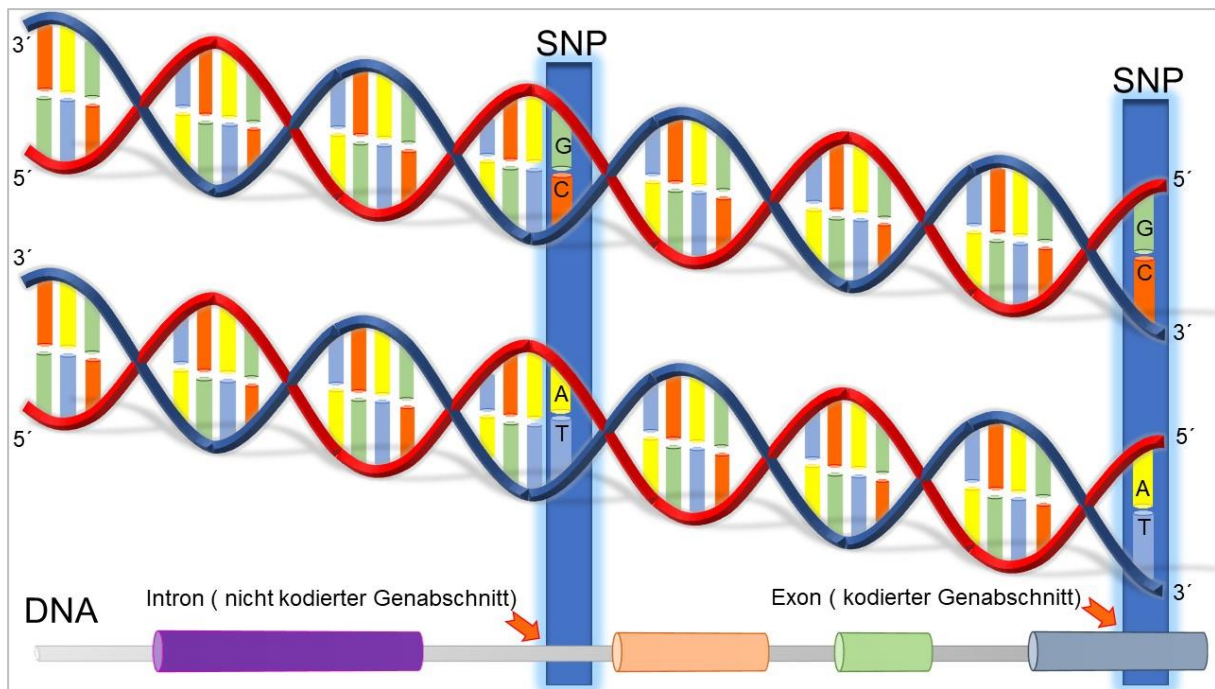
Die Gewebnekrose und verminderte linksventrikuläre Auswurfleistung nach Reperfusion hat damit einen direkten Zusammenhang zwischen Verschlussdauer und MMP-2 Aktivität. (Baks et al., 2005) Weitere Studien konnten zeigen, dass eine erhöhte MMP-2 Ausschüttung zu vermehrter Plaque-Entstehung im Bereich der Aorta führt und erhöhte Plasmaspiegel zu Komplikationen bei Atherosklerose der Karotiden und Koronararterien. (Li et al., 1996, Alvarez et al., 2004, Kai et al., 1998)

MMP-2 kann unabhängig der Einflüsse auf die Extrazellulärmatrix diverse zelluläre Vorgänge regulieren. Dabei konnten Effekte auf die Thrombozytenaggregation, (Sawicki et al., 1997) die Stimulation von „Big Endothelin-1“ und „calcitonin gene-related peptid“ mit folgender Vasokonstriktion, (Fernandez-Patron et al., 1999, Fernandez-Patron et al., 2000) und die Bindung an MCP-3 mit Dämpfung der Entzündungsreaktion, (McQuibban et al., 2000) nachgewiesen werden.

Den Zusammenhang von MMP-2 Serumlevel und einhergehendem Remodeling des linken Ventrikels nach Herzinfarkt konnte Morishita et al. zeigen. (Morishita et al., 2015)

2.6.2 Einzelnukleotid-Polymorphismus

Unter Einzelnukleotid-Polymorphismen versteht man die Variation eines Basenpaares in einem komplementären DNA-Doppelstrang. Gleichzeitig stellt dies die häufigste genetische Variation des Menschen dar. In einer menschlichen DNA entsteht im Durchschnitt alle 300 Basenpaare der Austausch eines Nukleotids, beispielsweise der Austausch von Cytosin (C) mit Thymin (T).



Modifizierte Abbildung nach 2.9 Lonetti et al., *Methods Mol Biol.* 2016; 1368:143-59 (Lonetti et al., 2016)
 Einzelnukleotid-Polymorphismen in kodierten und nicht kodierten Genabschnitten

Dies bedeutet, dass in der menschlichen DNA circa 10 Millionen Einzelnukleotid-Polymorphismen vorhanden sind. Dabei spielt es eine wesentliche Rolle, ob Einzelnukleotid-Polymorphismen in einem kodierten oder nicht-kodierten Genabschnitt liegen. Wissenschaftlich sind hauptsächlich die Einzelnukleotid-Polymorphismen relevant, die Aufschluss über Medikamentenwirkung oder die Ausprägung einer bestimmten Erkrankung geben. (Communications, 2018, Housman and Ledley, 1998, Chakravarti, 1999)

Als wichtige und bahnbrechende Beispiele dienen das APOE-4 Allel bei Alzheimererkrankungen und das CCR5 Allel bei HIV Resistenzen. (Martin et al., 2000, Mummidi et al., 1998) Die Matrix Metalloprotease-2 hat eine große Substrataffinität vornehmlich in Bereichen der Basalmembran. Es besteht Evidenz, dass Matrixmetalloproteinasen die Entstehung von Atherosklerose und die Ruptur einer atherosklerotischen Plaque begünstigen und dadurch zu einem Myokardinfarkt führen. (Dabek, 2007)

Einige Studien konnten indes andeuten, dass genetische Polymorphismen Einfluss auf die Genexpression der Matrixmetalloproteinasen und damit einen quantitativen Zusammenhang zur Entstehung eines Herzinfarktes haben (Horne et al., 2007, Ye,

2006), wohingegen andere Studien keine Assoziation mit dem Auftreten von Herzinfarkten sahen.(Koch et al., 2010, Shioji et al., 2004)

Es wurden bereits genetische Polymorphismen des MMP-2 im Bereich der Promotor-Regionen und dem gesamten Gen untersucht um Informationen und Assoziationen mit klinischen Phänotypen herzustellen.(Price et al., 2001) Die Entstehung eines Myokardinfarkts wurde mit Polymorphismen des MMP-2 Gens bei Patienten mit koronarer Atherosklerose assoziiert.(Hlatky et al., 2007) Weitere Studien konnten MMP-2 Polymorphismen mit chronischer Herzinsuffizienz (Vasku et al., 2003) oder verminderter LVEF (Beber et al., 2016) in Verbindung bringen. Die Untersuchung einer nordchinesischen Han Bevölkerung konnte andeuten, dass MMP-2 Polymorphismen (MMP rs17859821 A Allel) zu einer besseren Prognose bei Herzinsuffizienz führt.(Hua et al., 2009)

Bisher untersuchten zahlreiche Studien den Zusammenhang zwischen MMP-2 Polymorphismen und dem Einfluss auf kardiovaskuläre Erkrankungen bei Patienten mit hohem Risiko, konnten aber bislang keine eindeutigen Ergebnisse liefern, sodass der Einfluss diskussionswürdig bleibt. Dies bildet die Grundlage für die Untersuchung der MMP-2 Polymorphismen rs2287076, rs2241145 und rs2285053 hinsichtlich des Zusammenhangs zwischen Polymorphismen und der klinischen Prognose bezogen auf Einzel- und kombinierte Endpunkte (Myokardinfarkt/Schlaganfall/Tod) in einer Hochrisiko-Kohorte mit kardiovaskulären Erkrankungen.

3 Hintergrund und Ziele dieser Arbeit

MMP-2 hat in seinen unterschiedlichen aktiven Formen großen Einfluss auf die Basalmembran sowie auf intra- und extrazelluläre kardiale Zellen. Sie spielt dabei eine wesentliche Rolle bei der Entstehung und bei den Reparationsvorgängen nach diversen kardiovaskulären Erkrankungen. In vorliegender Arbeit wurden genetische Variationen des MMP-2 (rs2287076, rs2241145 und rs2285053) bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit untersucht. Durch ein 360 Tage Follow-Up wurden die Auswirkungen auf das klinische Langzeitergebnis quantifiziert und damit überprüft, ob diese eine Rolle für die Prognose von Patienten mit koronarer Herzkrankheit spielen.

Folgende Fragestellung wurde in dieser Arbeit untersucht:

- Gibt es einen Zusammenhang zwischen genetischer Variation der Matrix Metalloprotease-2 und der Prognose von Patienten mit symptomatischer KHK hinsichtlich Myokardinfarktes, Schlaganfall sowie Tod in der vorliegenden Kohorte von Patienten mit bestehender kardiovaskulärer Erkrankung?

4 Material und Methoden

4.1 Patienten Charakteristika

In der zu untersuchenden Kohorte wurden 943 Patienten eingeschlossen und auf ihre MMP-2 Einzelnukleotid-Polymorphismen hin begutachtet. Unter den Patienten fanden sich 373 Patienten mit stabiler Angina Pectoris und 388 Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom (instabile Angina Pectoris, STEMI, NSTEMI), zudem wurden 181 Patienten wegen abweichenden Gründen, wie beispielsweise Myokarditis, nicht-ischämische Kardiomyopathie, Klappenstenose oder Insuffizienz, Herzrhythmusstörungen, V.a. KHK oder Behandlung unmittelbar vor Operation, behandelt. Die Patienten willigten schriftlich und mündlich in die Studie ein und wurden an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen, Abteilung Innere Medizin III - Kardiologie und Herz-Kreislaufferkrankungen untersucht.

Dabei wurde die koronare Herzkrankheit als Koronararterieneinengung mindestens eines Gefäßes von $\geq 50\%$ definiert.(Burggraf and Parker, 1975) Die klinische Symptomatik der stabilen koronaren Herzkrankheit wurde erfassbar durch vorübergehende Brustenge (Angina Pectoris) vor allem im Bereich des Sternums, im Oberbauch, im Unterkiefer und den Zähnen, zwischen den Schultern, im Arm bis zum Handgelenk und den Finger, ausgelöst durch Stress und Besserung auf Nitroglyceringabe.(Fox et al., 2006)

Das akute Koronarsyndrom wurde im Weiteren definiert als instabile Angina Pectoris, NSTEMI oder STEMI mit klaren elektrokardiographischen Auffälligkeiten oder Erhöhung relevanter Biomarker wie beispielsweise Troponin.(Kumar and Cannon, 2009)

Diabetes Mellitus Typ II wurde wie folgt definiert: Blutzuckerspiegel im nüchternen Zustand ≥ 125 mg/dl, oraler Glucosetoleranztest mit 75g Glucose und:

- Einer Plasmaglukosekonzentration ≥ 200 mg/dl nach 2 Stunden
- Symptome einer Hyperglykämie in Verbindung mit nicht nüchternem Blutzuckerspiegel ≥ 200 mg/dl

- Einem HbA1c $\geq 6,5$ %.(American Diabetes, 2010)

Die Hyperlipoproteinämie wurde auf LDL Cholesterin ≥ 160 mg/dl und ≥ 200 mg/dl Triglyceride festgelegt.(Grundy et al., 2004)

Der Bluthochdruck wurde den European Society of Cardiology Guidelines folgend mit Werten systolisch ≥ 140 mmHg und/oder diastolisch ≥ 90 mmHg bewertet.(Williams et al., 2018) Im Rahmen der Herzkatheteruntersuchung wurden den Patienten 80 ml Blut abgenommen. Ein Teil dieses Blutes wurde zur weiteren genetischen Untersuchung bei -80° Celsius weggefroren.

Diese Arbeit entspricht dabei der Deklaration von Helsinki und den Richtlinien der guten wissenschaftlichen Arbeit und wurde von der Ethik-Kommission der medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität Tübingen genehmigt (270/2011BO1).(1997, 2001, 2002)

4.2 Genotypisierung der MMP-2 Variationen

Genetische MMP-2 Polymorphismen wurden aufgrund der klinischen Relevanz ausgewählt, dabei spielten funktionelle Aspekte als auch Genexpressionsprofile eine fundamentale Rolle. Beber et al. konnten zeigen, dass die Sterblichkeitsraten bei chronischer Herzinsuffizienz von Kaukasiern im Vergleich zu anderen ethnischen Populationen divergieren, zudem finden sich Publikationen, die eine Assoziation zu phänotypischen Ausprägungen nahelegen.(Beber et al., 2016, Vasku et al., 2003, Hlatky et al., 2007, Price et al., 2001)

Die Isolierung der zu untersuchenden DNA erfolgte durch Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) Blutproben unter Zuhilfenahme des QIAmp® DNA Blood Mini Kit System (Qiagen, Hilden, Germany).

Die MMP-2 Polymorphismen rs2287076, rs2241145 und rs2285053 konnten dabei durch MALDI-TOF MS typisiert werden, welches ein kombiniertes Verfahren, aus Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation und Flugzeitanalyse freiwerdender

Ionen, zur Massenspektrometrie darstellt. Dies wurde mit MassARRAY® Compact System (Sequenom, CA, USA) durchgeführt.(Jaremko et al., 2005)

Während der Studiendurchführung wurden circa 10 % der Proben jedes Assays als Qualitätskontrolle verwendet. Die Erhebung erfolgte doppelt verblindet.

4.3 Follow Up

Der Einschluss in die Patientenkohorte erfolgte nach Herzkatheteruntersuchung und wurde auf die klinischen Endpunkte Tod, Myokardinfarkt (MI) und ischämischer Schlaganfall hin für insgesamt 360 Tage nachverfolgt.

Hierbei wurde der primär kombinierte Endpunkt als das Erstauftreten von entweder Tod, Myokardinfarkt (MI) und/oder ischämischer Schlaganfall festgelegt, wobei die sekundären Endpunkte als das alleinige Auftreten von Tod, Myokardinfarkt (MI) oder ischämischer Schlaganfall definiert wurden.

Die Diagnose Myokardinfarkt erfolgte durch Anstieg und/oder Fall spezifischer kardialer Biomarker (kardiales Troponin(cTn)) mit einem erhöhten Troponin T-Konzentration oberhalb von 14 pg/mL (> 99. Perzentile einer gesunden Referenzpopulation) und mindestens einem der folgenden Symptome:

Symptome einer Ischämie, neuaufgetretene oder vermutete signifikante T-Wellenveränderung im ST Segment, neuer Linksschenkelblock, pathologische Q-Wellenveränderung, Untergang von Myokardgewebe, Wandbewegungsstörungen oder intrakoronarer Thrombus verifiziert durch PCI.(Thygesen et al., 2012a, Wu et al., 1999)

Ischämischer Schlaganfall oder Hirninfarkt wurden als-, sich rasant entwickelnde Anzeichen für fokale oder globale Störung der zerebralen Funktion definiert, gefolgt von Symptomen die 24 Stunden oder länger anhalten und dabei bis zum Tod führen können. Unter Ausschluss anderer Krankheitsursachen stand dabei die vaskuläre Erkrankung im Vordergrund.(Sacco et al., 2013)

71 Patienten (7,5%) konnten aus unterschiedlichen Gründen nicht nachverfolgt werden, divergierten jedoch anhand der Basischarakteristika im Wesentlichen nicht von der verbleibenden Kohorte. Das Follow-Up, welches durch Telefon Interviews und/oder Einsicht in die Akte des Patienten bei Wiederaufnahme an der Universitätsklinik Tübingen erfolgte, wurde bei Eintreten einer der Endpunkte beendet.

4.4 Statistische Analyse

Die statistische Auswertung wurde mit dem Programm SPSS Version 25.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt. Zur Erstellung der Basis Charakteristika wurden T-Tests und Chi-Quadrat Tests verwendet. Die Analyse der MMP-2 Einzelnukleotid-Polymorphismen erfolgte dabei durch zwei genetische Modelle. Beim dominanten Modell wurden homozygote Träger des häufigeren Allels mit homozygoten und heterozygoten Trägern des selteneren Allels verglichen. Im additiven Modell wurden im Folgenden homozygote Träger des häufigeren Allels, heterozygote und homozygote Träger des selteneren Allels mit 0,1 und 2 gekennzeichnet und dabei ein linearer Allel-Dosis Effekt angenommen.

Der Cox Regressionstest analysierte die Zusammenhänge zwischen MMP-2 Einzelnukleotid-Polymorphismen (additives und dominantes Modell) und dem Überleben (kombinierter Endpunkt, Myokardinfarkt und Tod), beziehungsweise auf epidemiologische Faktoren als Kofaktoren, welche die Prognose in hohem Maß beeinflussen (kardiale Risikofaktoren, klinische Faktoren, Medikation bei Aufnahme und Grund der Aufnahme).

Die proportionale Risikoannahme des Modells bildete eine zeitabhängige Kovarianzanalyse ab. Die graphische Darstellung des kumulativen ereignisfreien Überlebens erfolgte mit Kaplan-Meier Kurven. Im Weiteren wurden Log-Rank-Tests verwendet, um Überlebensfunktionen zwischen homozygoten Trägern des häufigeren Allels und Trägern des selteneren Allels zu vergleichen (dominantes Modell). Statistische Signifikanz erreichten alle Tests und Modelle bei 5%. (Rath et al., 2017)

5 Ergebnisse

Im Rahmen dieser Studie wurden mehrere Polymorphismen untersucht. Folgend wird genauer auf die MMP-2 Polymorphismen rs2241145, rs2287076 und rs2285053 eingegangen.

Die Basischarakteristika der vorhandenen Kohorte (n=943), welche in Tabelle Nr.1, 2 und 3 dargestellt werden, umfassen das Geschlecht und Alter, klinische Faktoren, ferner werden einschlägige kardiovaskuläre Risikofaktoren, sowie Medikation bei Aufnahme und Aufnahmegrund erfasst.

Tabelle 1:

Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=943) rs2241145 (Dominantes Modell)

Basischarakteristika	Alle (n=943)	Homozygote Träger des häufigeren Allels (n=255)	Träger des selteneren Allels (n=688)	p
Alter (Mittelwert \pm SD)	68 (\pm 13)	67 (\pm 13)	68 (\pm 12)	0,165
Geschlecht (männlich)	658 (70%)	177 (69,4%)	481 (69,9%)	0,963
Kardiovaskuläre Risikofaktoren				
Bluthochdruck	760 (81%)	201 (78,8%)	559 (81,2%)	0,395
Hyperlipidämie	522 (55%)	138 (54,1%)	384 (55,8%)	0,601
Diabetes Mellitus Typ II	298 (32%)	81 (31,7%)	217 (31,5%)	0,915
Raucher	375 (40%)	95 (37,2%)	280 (40,7%)	0,363
Klinische Faktoren				
LVEF% (Mittelwert \pm SD)	50 (\pm 11)	50.3 (\pm 11)	50.4 (\pm 11)	0,895
Kreatinin (mg/dl) (Mittelwert \pm SD)	1.0 (\pm 0.7)	1.0 (\pm 0.9)	1.0 (\pm 0.5)	0,891
Aufnahmemedikation				
Acetylsalicylsäure	495 (53%)	137 (53,7%)	358 (52%)	0,667
Clopidogrel	108 (12%)	30 (11,7%)	78 (11,3%)	0,869
Prasugrel	17 (2%)	2 (0,8%)	15 (2,2%)	0,151
Ticagrelor	38 (4%)	9 (3,5%)	29 (4,2%)	0,627
Orale Antikoagulation	80 (9%)	19 (7,4%)	61 (8,8%)	0,486
Angiotensin Converting Enzym Inhibitoren	395 (42%)	112 (43,9%)	283 (41,1%)	0,474
Angiotensin II Rezeptorantagonist	173 (18%)	37 (14,5%)	136 (19,7%)	0,060

Ca ²⁺ Kanal Blocker	180 (19%)	41 (16%)	139 (20%)	0,143
Beta Blocker	528 (56%)	140 (54,9%)	388 (56,3%)	0,627
Statine	425 (45%)	115 (45%)	310 (45%)	0,961
Aufnahmegrund				
Akutes Koronarsyndrom (ACS)	388 (41%)	111 (43,5%)	277 (40,2%)	0,376
Stabile koronare Herzkrankheit (SAP)	373 (40%)	104 (40,7%)	269 (39%)	
Andere*	180 (19%)	40 (15,7%)	140 (20,3%)	
Fehlende Werte rs2241145	0 (0%)			

* Myokarditis, nicht-ischämische Kardiomyopathie, Klappenstenose/Insuffizienz, Herzrhythmusstörungen, V.a. KHK, präoperativ

Tabelle 2:

Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=943) rs2287076 (Dominantes Modell)

Basischarakteristika	Alle (n=943)	Homozygote Träger des häufigeren Allels (n=269)	Träger des selteneren Allels (n=673)	p
Alter (Mittelwert ± SD)	67 (± 12)	66 (± 13)	68 (± 12)	0,063
Geschlecht (männlich)	658 (70%)	190 (70,2%)	468 (69,6%)	0,752
Kardiovaskuläre Risikofaktoren				
Bluthochdruck	759 (81%)	215 (79,5%)	544 (80,9%)	0,498
Hyperlipidämie	522 (55%)	148 (54,6%)	374 (55,7%)	0,745
Diabetes Mellitus Typ II	298 (32%)	81 (31,7%)	217 (31,5%)	0,473
Raucher	374 (40%)	104 (38,6%)	270 (40,1%)	0,615
Klinische Faktoren				
LVEF% (Mittelwert ± SD)	50 (± 11)	50 (± 11)	50 (± 11)	0,870
Kreatinin (mg/dl) (Mittelwert ± SD)	1.0 (± 0.7)	1.0 (± 0.9)	1.0 (± 0.5)	0,751
Aufnahmemedikation				
Acetylsalicylsäure	495 (53%)	146 (54,3%)	349 (51,8%)	0,580
Clopidogrel	108 (12%)	33 (12,3%)	75 (11%)	0,660
Prasugrel	17 (2%)	4 (1,5%)	13 (1,9%)	0,631
Ticagrelor	38 (4%)	11 (4%)	27 (4%)	0,979
Orale Antikoagulation	80 (9%)	18 (6,3%)	62 (9,4%)	0,200
Angiotensin Converting Enzym Inhibitoren	395 (42%)	120 (44,6%)	275 (40,8%)	0,352
Angiotensin II Rezeptorantagonist	173 (18%)	43 (15,6%)	130 (19,6%)	0,208
Ca ²⁺ Kanal Blocker	180 (19%)	44 (15,9%)	136 (20,3%)	0,154
Beta Blocker	528 (56%)	146 (53,9%)	382 (56,9%)	0,389
Statine	425 (45%)	123 (45,7%)	302 (44,8%)	0,916

Aufnahmegrund				
Akutes Koronarsyndrom (ACS)	388 (41%)	116 (43,1%)	272 (40,4%)	0,688
Stabile koronare Herzkrankheit (SAP)	373 (40%)	108 (40,1%)	265 (39,4%)	
Andere*	180 (19%)	46 (16,7%)	133 (19,9%)	
Fehlende Werte rs2287076	1 (0,1%)			

* Myokarditis, nicht-ischämische Kardiomyopathie, Klappenstenose/Insuffizienz, Herzrhythmusstörungen, V.a. KHK, präoperativ

Tabelle 3:

Basischarakteristika der Gesamtkohorte (n=943) rs2285053 (Dominantes Modell)

Basischarakteristika	Alle (n=943)	Homozygote Träger des häufigeren Allels (n=719)	Träger des selteneren Allels (n=223)	p
Alter (Mittelwert \pm SD)	67 (\pm 12)	68 (\pm 13)	67 (\pm 13)	0,371
Geschlecht (männlich)	658 (70%)	496 (68,9%)	161 (72,2%)	0,297
Kardiovaskuläre Risikofaktoren				
Bluthochdruck	760 (81%)	577 (80,2%)	182 (81,6%)	0,748
Hyperlipidämie	522 (55%)	392 (54,5%)	129 (57,8%)	0,405
Diabetes Mellitus Typ II	298 (32%)	231 (32,1%)	66 (29,6%)	0,460
Raucher	375 (40%)	296 (41,2%)	89 (39,9%)	0,969
Klinische Faktoren				
LVEF% (Mittelwert \pm SD)	50 (\pm 11)	51 (\pm 11)	50 (\pm 11)	0,573
Kreatinin (mg/dl) (Mittelwert \pm SD)	1.0 (\pm 0.7)	1.0 (\pm 0,7)	1.0 (\pm 0,4)	0,279
Aufnahmemedikation				
Acetylsalicylsäure	495 (53%)	383 (53,2%)	111 (49,7%)	0,397
Clopidogrel	108 (12%)	79 (10,9%)	29 (13%)	0,398
Prasugrel	17 (2%)	11 (1,5%)	6 (2,7%)	0,252
Ticagrelor	38 (4%)	29 (4%)	9 (4%)	0,991
Orale Antikoagulation	80 (9%)	61 (8,5%)	19 (8,5%)	0,984
Angiotensin Converting Enzym Inhibitoren	395 (42%)	304 (42,3%)	90 (40,3%)	0,626
Angiotensin II Rezeptorantagonist	173 (18%)	135 (18,8%)	38 (17%)	0,567
Ca ²⁺ Kanal Blocker	180 (19%)	136 (18,9%)	44 (19,7%)	0,776
Beta Blocker	528 (56%)	407 (56,6%)	120 (53,8%)	0,479
Statine	425 (45%)	316 (43,9%)	108 (48,4%)	0,229
Aufnahmegrund				
Akutes Koronarsyndrom (ACS)	388 (41%)	286 (39,8%)	101 (45,3%)	0,303

Stabile koronare Herzkrankheit (SAP)	373 (40%)	296 (41,2%)	77 (34,5%)	
Andere*	180 (19%)	135 (18,8%)	45 (20,2%)	
Fehlende Werte rs2285053	1 (0,1%)			

* Myokarditis, nicht-ischämische Kardiomyopathie, Klappenstenose/Insuffizienz, Herzrhythmusstörungen, V.a. KHK, präoperativ

Bei Untersuchung der unterschiedlichen Polymorphismen konnte im Hinblick auf die Darstellung der Ereignisse und der Inzidenzrate (Incident rate, IR) / 100 Personenjahre (Person Years, PY) in Tabelle Nr. 4, eine Signifikanz des MMP-2 Polymorphismus rs2285053 im Sinne eines additiv genetischen Modells („Gene-Dose Effekt“) bezüglich der Gesamtmortalität [3,5 (homozygote Träger des häufigeren Allels) vs. 2,4 (heterozygot) vs. 0 (homozygote Träger des selteneren Allels), $p=0,004$] festgestellt werden. Auch der MMP-2 Polymorphismus rs2287076 wies eine Signifikanz für den kombinierten Endpunkt auf [1,9 (homozygote Träger des häufigeren Allels) vs. 6,3 (heterozygot) vs. 2,9 (homozygote Träger des selteneren Allels), $p=0,046$].

Tabelle 4:

Ereignis und Inzidenzrate [IR/100 PY] rs2241145, rs2285053 und rs2287076

Variable	Ereignisse (rs2241145: hc* des häufigeren Allels / heterozygot / hc* des selteneren Allels)	IR / 100 PY (rs2241145: hc* des häufigeren Allels / heterozygot / hc* des selteneren Allels)	p
Kombinierter Endpunkt	97 (16/55/26)	11,1 1,8/6,3/2,9	0,065
Gesamtmortalität	52 (8/29/15)	5,9 0,9/3,3/1,7	0,170
Myokardinfarkt	53 (11/27/15)	6,1 1,3/3,1/1,7	0,554
Schlaganfall	11 (3/6/2)	1,3 0,3/0,6/0,2	0,901
Variable	Ereignisse (rs2285053: hc* des häufigeren Allels / heterozygot / hc* des selteneren Allels)	IR / 100 PY (rs2285053: hc* des häufigeren Allels / heterozygot / hc* des selteneren Allels)	p
Kombinierter Endpunkt	97 (67/29/1)	11,1 7,7/3,3/0,1	0,144
Gesamtmortalität	52 (31/21/0)	6,0 3,5/2,4/0	0,004
Myokardinfarkt	53 (39/13/1)	6,1 4,5/1,5/0,1	0,879

Schlaganfall	11 (8/3/0)	1,3 0,9/0,3/0	0,849
	Ereignisse (rs2287076: hc* des häufigeren Allels / heterozygot / hc* des selteneren Allels)	IR / 100 PY (rs2287076 hc* des häufigeren Allels / heterozygot / hc* des selteneren Allels)	
Kombinierter Endpunkt	97 (17/55/25)	11,1 1,9/6,3/2,9	0,046
Gesamtmortalität	52 (8/30/14)	6,0 0,9/3,4/1,6	0,104
Myokardinfarkt	53 (12/26/15)	6,1 1,4/3,0/1,7	0,472
Schlaganfall	11 (3/6/2)	1,3 0,3/0,7/0,2	0,922

*hc=homozygoter Träger

Als ereigniszeitanalytische Methode wurde eine multivariable Cox Regression zur Bestimmung des Einflusses von kardiovaskulärer Risikofaktoren auf die Dauer bis zum Eintreten des primär kombinierten Endpunktes [Tod, Myokardinfarkt und/oder Schlaganfall (combined endpoint, CE)] und des sekundären Endpunktes [Gesamtmortalität (all-cause death, ACD)] verwendet. Dabei wurde der primär kombinierte Endpunkt sowie der sekundäre Endpunkt als abhängige Variable, das jeweilige genetische Modell der MMP-2 Polymorphismen und klinische Faktoren als unabhängige Variablen bzw. Kovariablen definiert. Hierbei war sowohl MMP-2 Polymorphismus rs2241145 [hazard ratio (HR) 0.574 (95% CI 0.337-0.978), p=0,041], als auch MMP-2 rs2287076 [HR 0.591 (95% CI 0.351-0.995), p=0,048] und MMP-2 rs2285053 [HR 1.729 (95% CI 1.095-2.730), p=0,019] signifikant unabhängig assoziiert mit dem primär kombinierten Endpunkt. Zudem war MMP-2 rs2285053 signifikant unabhängig assoziiert mit dem sekundären Endpunkt Gesamtmortalität [HR 2.768 (95% CI 1.502-5.102), p=0,001]. (Tabelle Nr. 5-7)

Tabelle 5:

Cox Regressionsanalyse des primär kombinierten Endpunktes [Tod, Myokardinfarkt und/oder Schlaganfall (combined endpoint, CE)] und des sekundären Endpunktes [Gesamtmortalität (all-cause death, ACD)] als abhängige Variable, rs2241145 (dominantes genetisches Modell) als unabhängige Variable und klinische Faktoren als Kovariablen der gesamten Patientenkohorte

	Hazard Ratio (CE) (95% CI)	Hazard Ratio (ACD) (95% CI)	p (CE)	p (ACD)
Kardiale Risikofaktoren				
Bluthochdruck (ja/nein)	0.925 (0.504-1.698)	0.633 (0.264-1.518)	0,802	0,305
Hyperlipidämie (ja/nein)	0.790 (0.509-1.228)	0.639 (0.338-1.208)	0,295	0,168
Diabetes Mellitus Typ II (ja/nein)	1.312 (0.839-2.051)	1.732 (0.911-3.293)	0,234	0,094
Rauchen (ja/nein)	0.721 (0.436-1.194)	0.611 (0.278-1.341)	0,204	0,219
Aufnahmemedikation				
Acetylsalicylsäure (ja/nein)	2.649 (1.520-4.619)	2.034 (0.943-4.387)	0,001	0,070
Angiotensin Converting Enzym Inhibitor (ja/nein)	0.527 (0.313-0.887)	0.475 (0.224-1.004)	0,016	0,051
AT1 Antagonist (ja/nein)	0.537 (0.289-0.997)	0.560 (0.238-1.320)	0,049	0,185
Ca ²⁺ Kanal Blocker (ja/nein)	0.799 (0.456-1.398)	1.088 (0.527-2.247)	0,431	0,819
Beta Blocker (ja/nein)	1.169 (0.696-1.965)	1.146 (0.540-2.428)	0,554	0,723
Statine (ja/nein)	0.859 (0.522-1.411)	0.802 (0.390-1.649)	0,547	0,549
Orale Antikoagulation (ja/nein)	1.677 (0.826-3.408)	1.215 (0.437-3.377)	0,153	0,709
Klinische Faktoren				
Alter	1.052 (1.027-1.078)	1.082 (1.042-1.125)	<0,001	<0,001
Geschlecht (♀/♂)	0.943 (0.586-1.518)	1.024 (0.515-2.037)	0,810	0,945
LVEF %	1.479 (1.204-1.816)	1.863 (1.373-2.527)	<0,001	<0,001
Aufnahmegrund (ACS, stabile KHK, andere)	1.589 (1.176-2.148)	1.477 (0.987-2.212)	0,003	0,058
MMP2 rs2241145 (dominantes genetisches Modell)	0.574 (0.337-0.978)	0.509 (0.224-1.157)	0,041	0,107

Tabelle 6:

Cox Regressionsanalyse des primär kombinierten Endpunktes [Tod, Myokardinfarkt und/oder Schlaganfall (combined endpoint, CE)] und des sekundären Endpunktes [Gesamtmortalität (all-cause death, ACD)] als abhängige Variable, rs2285053 (dominantes genetisches Modell) als unabhängige Variable und klinische Faktoren als Kovariablen der gesamten Patientenkohorte

	Hazard Ratio (CE) (95% CI)	Hazard Ratio (ACD) (95% CI)	p (CE)	p (ACD)
Kardiale Risikofaktoren				
Bluthochdruck (ja/nein)	0.892 (0.485-1.639)	0.648 (0.282-1.489)	0,713	0,307
Hyperlipidämie (ja/nein)	0.816 (0.520-1.280)	0.621 (0.333-1.159)	0,376	0,135
Diabetes Mellitus Typ II (ja/nein)	1.339 (0.855-2.098)	1.683 (0.905-3.128)	0,203	0,100
Rauchen (ja/nein)	0.755 (0.451-1.263)	0.632 (0.291-1.372)	0,284	0,245
Aufnahmemedikation				
Acetylsalicylsäure (ja/nein)	2.825 (1.599-4.991)	2.238 (1.073-4.671)	<0,001	0,032
Angiotensin Converting Enzym Inhibitor (ja/nein)	0.521 (0.308-0.880)	0.593 (0.284-1.241)	0,015	0,166
AT1 Antagonist (ja/nein)	0.573 (0.306-1.073)	0.607 (0.254-1.452)	0,082	0,262
Ca ²⁺ Kanal Blocker (ja/nein)	0.825 (0.471-1.447)	1.056 (0.514-2.171)	0,503	0,882
Beta Blocker (ja/nein)	1.108 (0.652-1.883)	1.103 (0.539-2.260)	0,704	0,788
Statine (ja/nein)	0.828 (0.500-1.370)	0.747 (0.365-1.528)	0,462	0,424
Orale Antikoagulation (ja/nein)	1.885 (0.919-3.868)	1.138 (0.408-3.173)	0,084	0,805
Klinische Faktoren				
Alter	1.056 (1.031-1.083)	1.091 (1.050-1.134)	<0,001	<0,001
Geschlecht (♀/♂)	0.940 (0.584-1.514)	1.073 (0.558-2.064)	0,800	0,832
LVEF %	1.393 (1.129-1.718)	1.794 (1.332-2.417)	0,002	<0,001
Aufnahmegrund (ACS, stabile KHK, andere)	1.482 (1.095-2.004)	1.304 (0.876-1.941)	0,011	0,190
MMP2 rs2285053 (dominantes genetisches Modell)	1.729 (1.095-2.730)	2.768 (1.502-5.102)	0,019	0,001

Tabelle 7:

Cox Regressionsanalyse des primär kombinierten Endpunktes [Tod, Myokardinfarkt und/oder Schlaganfall (combined endpoint, CE)] und des sekundären Endpunktes [Gesamtmortalität (all-cause death, ACD)] als abhängige Variable, rs2287076 (dominantes genetisches Modell) als unabhängige Variable und klinische Faktoren als Kovariablen der gesamten Patientenkohorte

	Hazard Ratio (CE) (95% CI)	Hazard Ratio (ACD) (95% CI)	p (CE)	p (ACD)
Kardiale Risikofaktoren				
Bluthochdruck (ja/nein)	0.921 (0.503-1.688)	0.620 (0.258-1.486)	0,790	0,284
Hyperlipidämie (ja/nein)	0.796 (0.513-1.235)	0.641 (0.339-1.211)	0,308	0,171
Diabetes Mellitus Typ II (ja/nein)	1.301 (0.831-2.035)	1.720 (0.905-3.272)	0,250	0,098
Rauchen (ja/nein)	0.727 (0.439-1.203)	0.611 (0.278-1.342)	0,214	0,220
Aufnahmemedikation				
Acetylsalicylsäure (ja/nein)	2.653 (1.520-4.628)	2.050 (0.948-4.433)	0,001	0,068
Angiotensin Converting Enzym Inhibitor (ja/nein)	0.532 (0.317-0.895)	0.477 (0.225-1.012)	0,017	0,054
AT1 Antagonist (ja/nein)	0.545 (0.294-1.013)	0.562 (0.238-1.327)	0,055	0,189
Ca ²⁺ Kanal Blocker (ja/nein)	0.800 (0.457-1.399)	1.082 (0.524-2.234)	0,433	0,830
Beta Blocker (ja/nein)	1.146 (0.682-1.925)	1.122 (0.529-2.381)	0,608	0,763
Statine (ja/nein)	0.864 (0.526-1.420)	0.806 (0.391-1.661)	0,564	0,559
Orale Antikoagulation (ja/nein)	1.667 (0.820-3.387)	1.217 (0.438-3.382)	0,158	0,707
Klinische Faktoren				
Alter	1.053 (1.028-1.078)	1.082 (1.042-1.125)	<0,001	<0,001
Geschlecht (♀/♂)	0.944 (0.587-1.517)	1.027 (0.516-2.043)	0,810	0,939
LVEF %	1.477 (1.202-1.813)	1.859 (1.371-2.522)	<0,001	<0,001
Aufnahmegrund (ACS, stabile KHK, andere)	1.575 (1.165-2.129)	1.471 (0.981-2.204)	0,003	0,062
MMP2 rs2287076 (dominantes genetisches Modell)	0.591 (0.351-0.995)	0.486 (0.214-1.104)	0,048	0,085

Mit Hilfe der Kaplan-Meier-Kurven konnten Überlebensraten bestimmt werden, bei denen verschiedene Gruppen im dominanten genetischen Modell unterschiedlich lange ereignisfreie Zeiten aufwiesen. Durch Ermittlung des Log-Rank wurden beide Gruppen miteinander verglichen. Es zeigte sich, dass homozygote Träger des häufigeren Allels bei den MMP-2 Polymorphismen rs2241145 und rs2287076 für den primär kombinierten Endpunkt [Tod, Myokardinfarkt und/oder Schlaganfall (combined endpoint, CE)] länger ereignisfrei blieben als Träger des selteneren Allels (Log rank=0,022 und Log rank=0,015). (Abbildung 5.1 und 5.2)

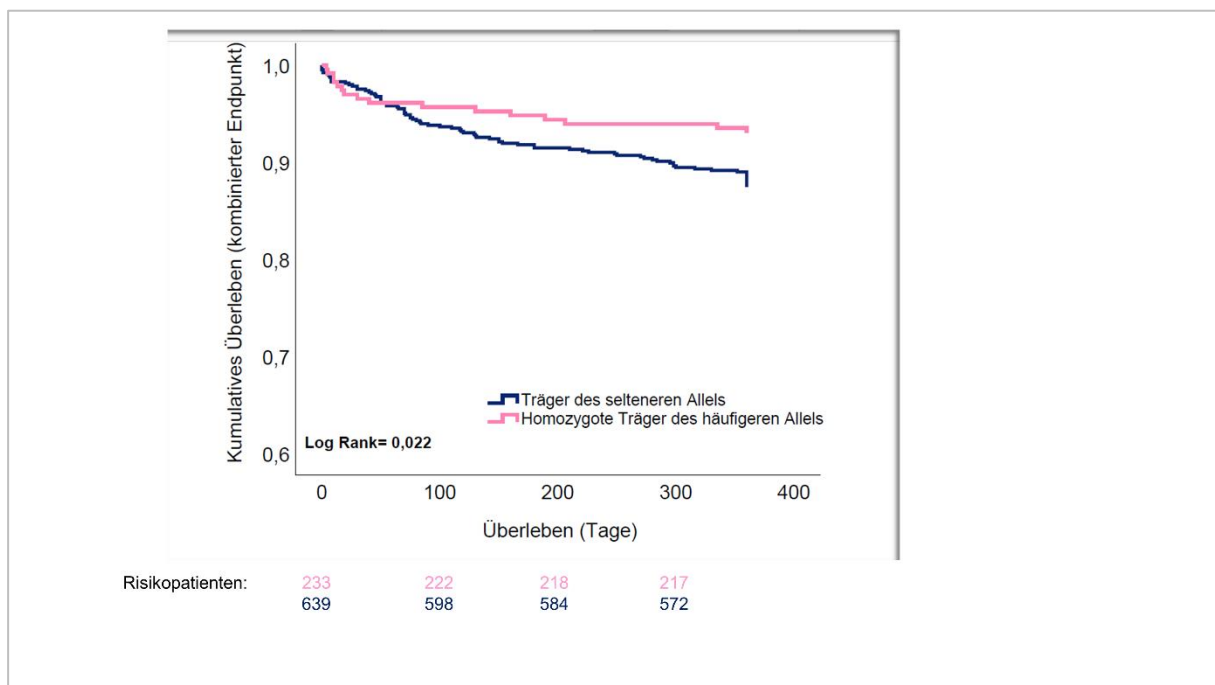


Abbildung 5.1:

Kaplan-Meier-Kurven, kumulatives Überleben [Tod, Myokardinfarkt und/oder Schlaganfall (combined endpoint, CE)] für das dominante genetische Modell des MMP-2 Polymorphismus rs2241145, homozygote Träger des häufigeren Allels und Träger des selteneren Allels

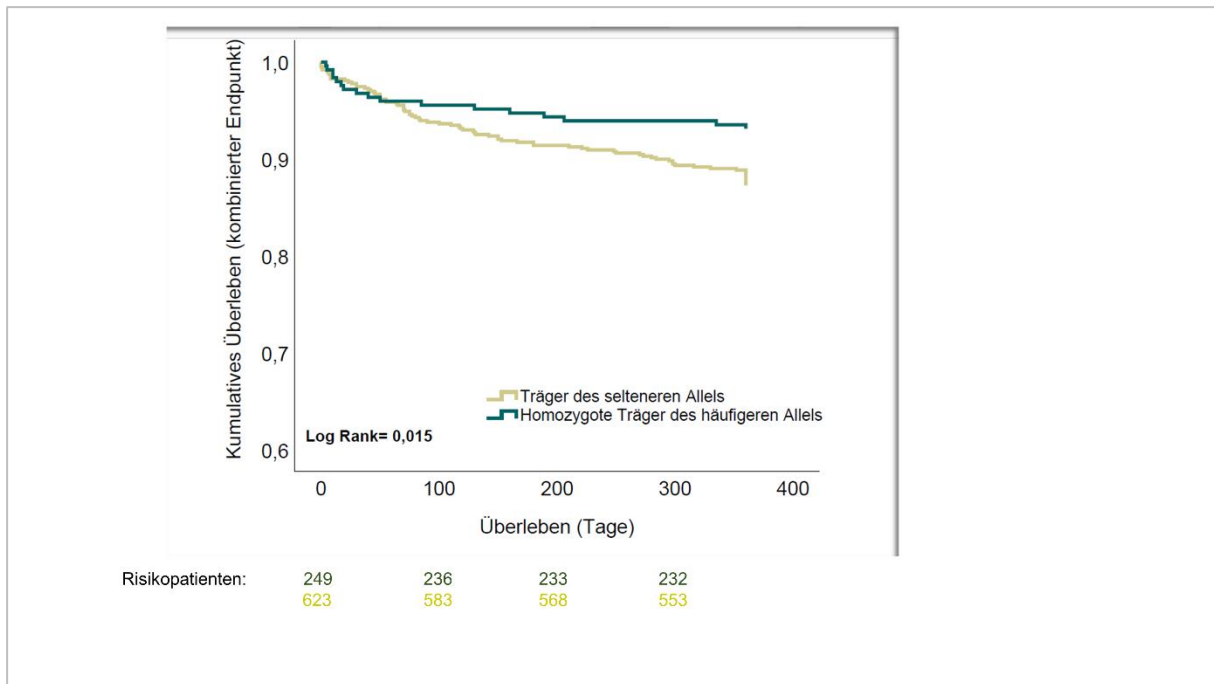


Abbildung 5.2:

Kaplan-Meier-Kurven, kumulatives Überleben [Tod, Myokardinfarkt und/oder Schlaganfall (combined endpoint, CE)] für das dominante genetische Modell des MMP-2 Polymorphismus rs2287076, homozygote Träger des häufigeren Allels und Träger des selteneren Allels

Auch bei homozygoten Trägern des häufigeren Allels der MMP-2 Polymorphismen rs2241145, rs2287076 und rs2285053 konnte für den sekundären Endpunkt Gesamtmortalität (all-cause death, ACD) eine längere ereignisfreie Zeit festgestellt werden. Dies wird in den Abbildungen 5.3-5.5 nochmals graphisch unterlegt. Die Abszisse bildet das Überleben in Tagen ab, die Ordinate stellt das kumulative Überleben (Gesamtmortalität) dar. Die Risikopatienten sind unter der Graphik tabellarisch und farblich zuordnend abgebildet. (Log rank=0,047, Log rank=0,006, Log rank=0,023). (Abbildung 5.3-5.5)

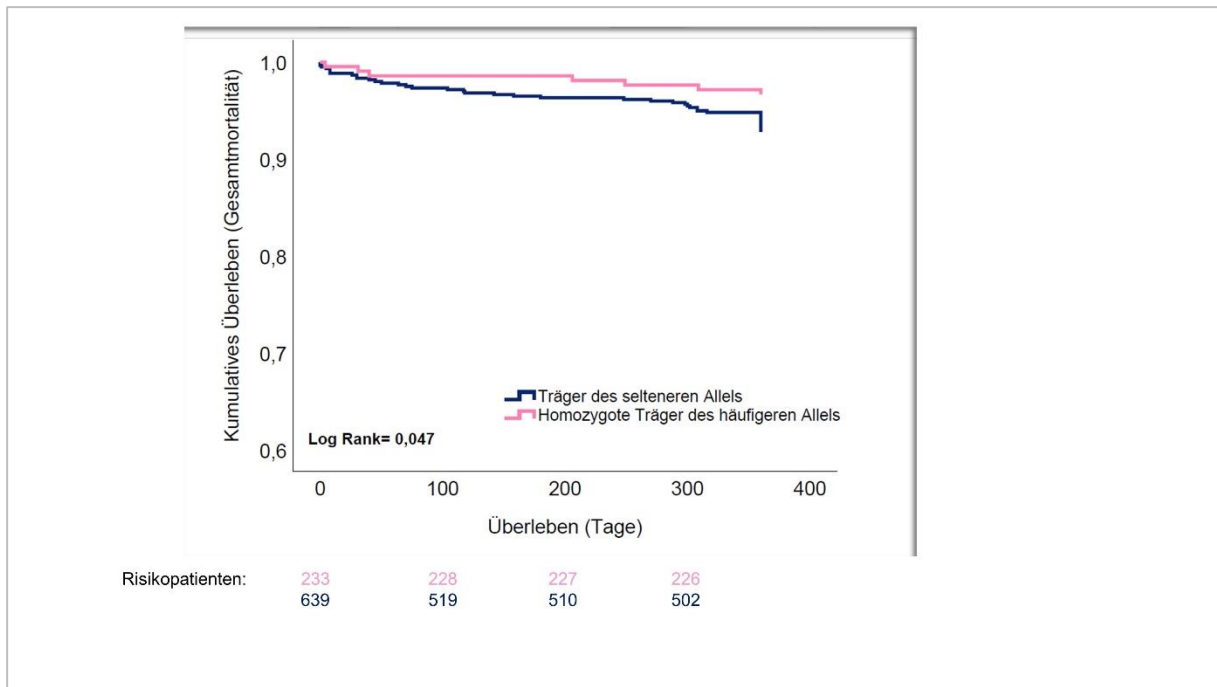


Abbildung 5.3:

Kaplan-Meier-Kurven, kumulatives Überleben [Gesamt mortalität (all-cause death, ACD)] für das dominante genetische Modell des MMP-2 Polymorphismus rs2241145, homozygote Träger des häufigeren Allels und Träger des selteneren Allels

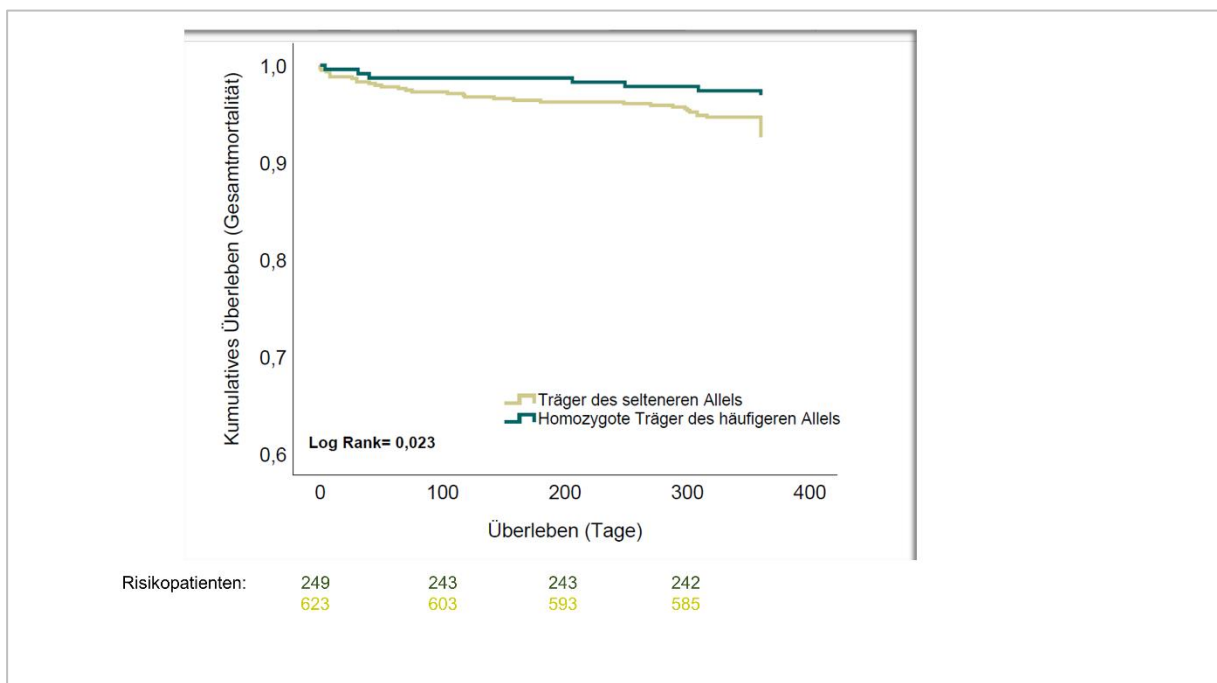
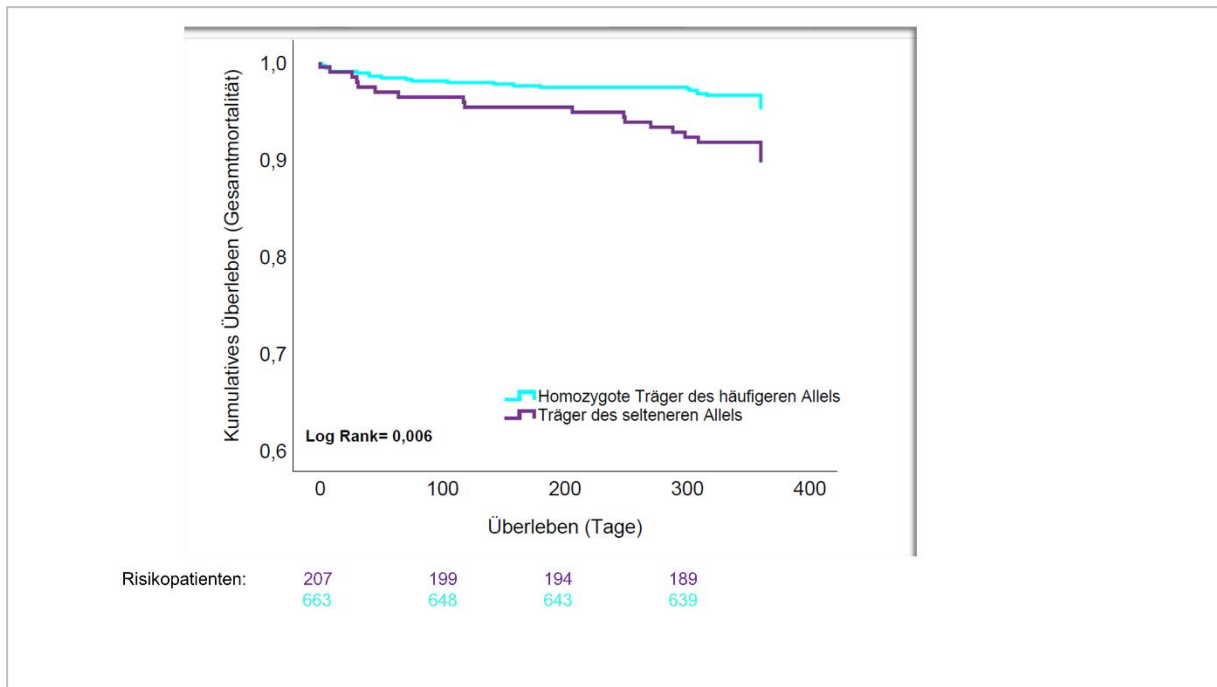


Abbildung 5.4:

Kaplan-Meier-Kurven, kumulatives Überleben [Gesamt mortalität (all-cause death, ACD)] für das dominante genetische Modell des MMP-2 Polymorphismus rs2287076, homozygote Träger des häufigeren Allels und Träger des selteneren Allels

**Abbildung 5.5:**

Kaplan-Meier-Kurven, kumulatives Überleben [Gesamt mortalität (all-cause death, ACD)] für das dominante genetische Modell des MMP-2 Polymorphismus rs2285053, homozygote Träger des häufigeren Allels und Träger des selteneren Allels

6 Diskussion

Der zentrale Erkenntnisgewinn der vorhandenen Studie ist, dass die MMP-2 Polymorphismen rs2241145, rs2287076 und rs2285053 signifikant und unabhängig mit einer besseren Prognose (dominantes Modell) bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit assoziiert sind. Dabei konnte weiterhin gezeigt werden, dass bei homozygoten Trägern des häufigeren Allels (rs2241145, rs2287076 und rs2285053), der sekundäre Endpunkt [Gesamtmortalität (all-cause death, ACD)] signifikant später eintrat, als bei Trägern des selteneren Allels. Außerdem waren die homozygoten Träger des häufigeren Allels (rs2241145 und rs2287076) bezüglich des primären Endpunktes länger ereignisfrei.

MMP-2 ist zum einen mitverantwortlich für die Entstehung von Atherosklerose, einem chronischen Entzündungsprozess. Die Endothelschäden in Verbindung mit einer erhöhten Permeabilität der Membran führen zum Einwandern von Makrophagen. *In vitro* konnte die Umwandlung von Makrophagen in Schaumzellen und folgende Ausschüttung von MMP-2 gezeigt werden. Die Folge ist der Abbau von Extrazellulärmatrix und einer Progredienz der Gefäßeinengung. (Bahreman et al., 2012, Galis et al., 1994)

Zum anderen ist die Matrix Metalloprotease-2 integraler Bestandteil des kardialen Remodeling nach Herzinfarkten. Sie löst zahlreiche intrazelluläre Signalkaskaden in kardialen Myozyten aus und ist infolgedessen an der Entstehung des Re-Perfusions-Schadens beteiligt. (Hughes and Schulz, 2014, Spinale, 2002) Wang et al. zeigten im Jahr 2002, dass Troponin I, Bestandteil von Myofilamenten in kardialen Myozyten, durch MMP-2 proteolytisch gespalten wird. Die Hemmung verhindert negative kontraktile Folgen der mechanischen Herzfunktion bei Ischämien nachhaltig. (Wang et al., 2002)

Der MMP-2 Inhibitor (PG116800) wurde zur Verhinderung von kardialen Struktur- und Funktionsschäden nach Myokardinfarkt entwickelt, konnte jedoch keine signifikant bessere Auswirkung für die Endpunkte: linksventrikuläres Remodeling, EF, Inzidenz eines Reinfarkts oder Mortalität belegen. (Hudson et al., 2006) Hier scheinen Tetracycline eine bessere Therapieoption darzustellen. Eine klinische Studie stellte bei

Einnahme einer antimikrobiellen Dosis von Doxycyclin (100mg zweimal täglich für 7 Tage nach erfolgreicher PCI) fest, dass sowohl LVEDV, Myokardinfarkt-Größe und Schwere in der Doxycyclingruppe signifikant geringer waren als in der Kontrollgruppe.(Cerisano et al., 2014, Gu et al., 2012)

Diverse klinische Studien können ebenfalls in Aussicht stellen, dass MMP-2 langfristig eine Rolle als kardialer Biomarker bei koronaren Herzkrankheiten einnimmt. Nilsson et al. trafen, mittels engmaschiger Kontrolle der MMP-2 Plasmakonzentrationen vor und nach PCI, Aussagen über die Infarktgröße und die ventrikuläre Dysfunktion nach ST-Hebungs-Myokardinfarkt.(Fan and Schulz, 2012, Nilsson et al., 2011)

Matsunaga et al. konnten durch Messung der MMP-2 Aktivität 14 Tage nach akutem Myokardinfarkt zeigen, dass Patienten mit erhöhter MMP-2 Aktivität ein halbes Jahr später, einen höheren LVEDVI und LVESVI aufweisen.(Matsunaga et al., 2005) Und auch Squire et al. wiesen mittels MMP-2 Plasmakonzentrationen bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt nach, dass im Follow-Up, geringere MMP-2 Konzentrationen mit einem besseren LV Volumen assoziiert sind.(Squire et al., 2004)

Die Rolle der genetischen Variationen in Bezug auf die koronare Herzkrankheit war und ist Gegenstand aktueller wissenschaftlicher Diskussion, allerdings bislang nicht abschließend geklärt. Einige Studien können eine Assoziation mit einem progredienten Verlauf der KHK nahelegen, bleiben jedoch kontrovers. Der MMP-2 Polymorphismus rs2285053 wurde beispielsweise in einer Studie von Balistreri et al. eingehend untersucht. Es konnte eine starke Assoziation mit Risiko, Schwere, kurz und langfristigen Folgen degenerativer Mitralklappenerkrankungen festgestellt werden. (Balistreri et al., 2016)

Mishra et al. untersuchten unter anderem den MMP-2 Polymorphismus rs2285053, in einer Kohorte mit 540 Patienten, davon 310 mit koronarer Herzerkrankung und 230 gesunden Patienten. In dieser Studie wurde keine Assoziation zwischen rs2285053 und linksventrikulärer Dysfunktion bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit nachgewiesen.(Mishra et al., 2012) Weiter konnten Sabbatini et al. 2017 zeigen, dass rs2285053 (-735C/T) bei Patienten in einer brasilianischen Klinik unabhängig mit der Wahrscheinlichkeit zur Ausprägung einer resistenten Hypertonie assoziiert war.(Sabbatini et al., 2017) Auch Alp et al. betrachteten in einer türkischen Population, die Assoziation zwischen Geno- oder haploidem Genotyp des -735 C/T Promotor

Polymorphismus und der KHK mit oder ohne Myokardinfarkt Vorgeschichte. Dabei war die Häufigkeit des -735 TT Genotyp in der Kontrollgruppe signifikant geringer als in der Gruppe mit Myokardinfarkt, im Vergleich zum -735 CC Genotyp. (Alp et al., 2011)

Nie et al. konnten ebenfalls in einer chinesischen Population darstellen, dass das C-Allel des -735 (C/T) Promotor Polymorphismus mit einer signifikant höheren MMP-2 Transkriptionsaktivität assoziiert ist und damit für das Risiko eines Schlaganfalls. (Nie et al., 2014) Und auch Manso et al. konnten dem G-Allel des MMP-2 Polymorphismus rs2241145 (G vs. C) einer besseren Prognose nach Schlaganfall zuordnen. (Manso et al., 2010) Die MMP-2 Polymorphismen rs2241145 und rs2287076 waren in einer Studie von Fatar et al. stark assoziiert mit kleinen Gefäßinfarkten und der Entwicklung lakunärer Infarkte. (Fatar et al., 2008)

In dieser Studie untersuchten wir die Rolle der MMP-2 Polymorphismen rs2241145, rs2287076 und rs2285053 in Bezug auf die Prognose bei Patienten mit symptomatischer koronarer Herzkrankheit. Wir konnten zeigen, dass die MMP-2 Polymorphismen signifikant mit wiederkehrenden Ereignissen wie dem primär kombinierten Endpunkt [Tod, Myokardinfarkt und/oder Schlaganfall (combined endpoint, CE)] und dem sekundären Endpunkt Gesamtmortalität (all-cause death, ACD) assoziiert sind.

Hierbei weisen im dominanten genetischen Modell, homozygote Träger des häufigeren Allels bei allen 3 untersuchten MMP-2 Polymorphismen scheinbar aufgrund von genetischen Unterschieden eine deutlich geringere Komplikationsrate bei koronarer Herzkrankheit auf. Dies könnte möglicherweise an den unterschiedlichen transkriptionellen Eigenschaften der Polymorphismen und der damit verbundenen Genexpression und/oder Proteinfunktion liegen, die einen negativen bzw. positiven Einfluss auf die Progression der spezifischen Krankheiten haben. (Price et al., 2001)

Die Studie von Tsakiris et al. unterstützt diese These. Diese Gruppe belegte *in vitro* eine Downregulation der MMP-2 Expression sowohl in der akuten als auch der chronischen Phase der koronaren Herzkrankheit. (Tsakiris DA, 2004) Die Thesen könnten vor allem zu einer verbesserten Risikostratifizierung bei Kohorten mit erhöhter Wahrscheinlichkeit und fördernden kardiovaskulären Faktoren führen. Die Bestimmung von genetischen Polymorphismen kann die Messung von MMP-2 Plasmakonzentrationen möglicherweise ersetzen und die Therapie optimieren.

Zusammenfassend ist die vorgelegte Arbeit, unserem Kenntnisstand zufolge, die erste Studie, welche homozygote Träger des häufigeren Allels der MMP-2 Polymorphismen rs2241145, rs2287076 und rs2285053 mit einer verbesserten Prognose bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit in Verbindung bringt. Die genetischen Polymorphismen können dazu dienen, Hochrisikokollektive mit kardiovaskulären Erkrankungen früher zu erkennen sowie entsprechend stringenter zu behandeln. Dies könnte über die Entwicklung Biomarker-gestützter Risikostratifizierungssysteme stattfinden.

7 Zusammenfassung

In dieser Studie konnten wir zeigen, dass homozygoten Träger des häufigeren Allels bestimmter MMP-2 Polymorphismen eine signifikant bessere Prognose bezüglich kardiovaskulärer Erkrankungen im Vergleich zu heterozygoten und homozygoten Trägern des selteneren Allels aufweisen. Die Kohorte bestand aus insgesamt 943 Patienten, welche auf verschiedene Genotypen der MMP-2 Polymorphismen hin untersucht wurden. Die Kohorte wurde für 360 Tage auf die Endpunkte Tod, Myokardinfarkt und ischämischer Schlaganfall nachverfolgt.

Dabei zeigten sich signifikante Assoziationen der MMP-2 Polymorphismen rs2241145, rs2287076 und rs2285053 mit dem kombinierten Endpunkt sowie dem Endpunkt Gesamtmortalität. Bislang wurden genetische Polymorphismen nicht in Risikostratifizierung und Therapie kardiovaskulärer Risikopatienten integriert. Die Ergebnisse der vorliegenden Studien könnten erstmals dazu genutzt werden das Screening einzelner genetischer Variationen voran zu bringen und in das Therapiekonzept einfließen zu lassen.

Es könnten Patienten mit einem erhöhten Risiko für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse identifiziert, ein Prophylaxekonzept entwickelt und die Mortalität der mitunter häufigsten Krankheitsbilder in Deutschland gesenkt werden.

8 Literaturverzeichnis

1997. World Medical Association Declaration of Helsinki. Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. *Cardiovasc Res*, 35, 2-3.
2001. ICH harmonized tripartite guideline: Guideline for Good Clinical Practice. *J Postgrad Med*, 47, 45-50.
2002. Directive 2001/20/EC of the European Parliament and of the Council of 4 April 2001 on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the member states relating to the implementation of good clinical practice in the conduct of clinical trials on medicinal products for human use. *Med Etika Bioet*, 9, 12-9.
- ABBATE, R., CIONI, G., RICCI, I., MIRANDA, M. & GORI, A. M. 2012. Thrombosis and Acute coronary syndrome. *Thrombosis Research*, 129, 235-240.
- ABERGEL, E. & NIKOLSKY, E. 2010. Ticagrelor: an investigational oral antiplatelet treatment for reduction of major adverse cardiac events in patients with acute coronary syndrome. *Vasc Health Risk Manag*, 6, 963-77.
- AJJAN, R. & GRANT, P. J. 2006. Coagulation and atherothrombotic disease. *Atherosclerosis*, 186, 240-59.
- ALBERIO, L. & CLEMETSON, K. J. 2005. [Platelet inhibition and activation. Mechanisms and clinical implications]. *Herz*, 30, 176-80.
- ALBINALI, H. A. H. 2012. Majnoon Lila. *Global Cardiology Science & Practice*, 2012, 4-11.
- ALP, E., MENEVSE, S., TULMAC, M., YILMAZ, A., YALCIN, R. & CENGEL, A. 2011. The role of matrix metalloproteinase-2 promoter polymorphisms in coronary artery disease and myocardial infarction. *Genet Test Mol Biomarkers*, 15, 193-202.
- ALVAREZ, B., RUIZ, C., CHACON, P., ALVAREZ-SABIN, J. & MATAS, M. 2004. Serum values of metalloproteinase-2 and metalloproteinase-9 as related to unstable plaque and inflammatory cells in patients with greater than 70% carotid artery stenosis. *J Vasc Surg*, 40, 469-75.
- AMERICAN DIABETES, A. 2010. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care*, 33, S62-S69.
- BAENZIGER, N. L., BRODIE, G. N. & MAJERUS, P. W. 1972. Isolation and properties of a thrombin-sensitive protein of human platelets. *J Biol Chem*, 247, 2723-31.
- BAHREHMAND, F., VAISI-RAYGANI, A., KIANI, A., RAHIMI, Z., TAVILANI, H., NAVABI, S. J., SHAKIBA, E., HASSANZADEH, N. & POURMOTABBED, T. 2012. Matrix metalloproteinase-2 functional promoter polymorphism G1575A is associated with elevated circulatory MMP-2 levels and increased risk of cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*, 21, 616-24.
- BAKS, T., VAN GEUNS, R.-J., BIAGINI, E., WIELOPOLSKI, P., MOLLET, N. R., CADEMARTIRI, F., BOERSMA, E., VAN DER GIESSEN, W. J., KRESTIN, G. P., DUNCKER, D. J., SERRUYS, P. W. & DE FEYTER, P. J. 2005. Recovery of left ventricular function after primary angioplasty for acute myocardial infarction. *European Heart Journal*, 26, 1070-1077.

- BALAMUTHUSAMY, S. & ARORA, R. 2007. Hematologic adverse effects of clopidogrel. *Am J Ther*, 14, 106-12.
- BALISTRERI, C. R., ALLEGRA, A., CRAPANZANO, F., PISANO, C., TRIOLO, O. F., ARGANO, V., CANDORE, G., LIO, D. & RUVOLO, G. 2016. Associations of rs3918242 and rs2285053 MMP-9 and MMP-2 polymorphisms with the risk, severity, and short- and long-term complications of degenerative mitral valve diseases: a 4.8-year prospective cohort study. *Cardiovasc Pathol*, 25, 362-70.
- BALLMAIER, M., GERMESHAUSEN, M., SCHULZE, H., CHERKAOUI, K., LANG, S., GAUDIG, A., KRUKEMEIER, S., EILERS, M., STRAUSS, G. & WELTE, K. 2001. c-mpl mutations are the cause of congenital amegakaryocytic thrombocytopenia. *Blood*, 97, 139-46.
- BARTLEY, T. D., BOGENBERGER, J., HUNT, P., LI, Y. S., LU, H. S., MARTIN, F., CHANG, M. S., SAMAL, B., NICHOL, J. L., SWIFT, S. & ET AL. 1994. Identification and cloning of a megakaryocyte growth and development factor that is a ligand for the cytokine receptor Mpl. *Cell*, 77, 1117-24.
- BEBER, A. R. C., POLINA, E. R., BIOLO, A., SANTOS, B. L., GOMES, D. C., LA PORTA, V. L., OLSEN, V., CLAUSELL, N., ROHDE, L. E. & SANTOS, K. G. 2016. Matrix Metalloproteinase-2 Polymorphisms in Chronic Heart Failure: Relationship with Susceptibility and Long-Term Survival. *PLoS ONE*, 11, e0161666.
- BEHRENDTS, J. C., BISCHOFBERGER J., DEUTZMANN R., EHMKE H., FRINGS S., GRISSMER S., HOTH M., KURTZ A., LEIPZIGER J., MÜLLER F., PEDAIN C., RETTIG J., WAGNER C., WISCHMEYER E. (ed.) 2010. *Duale Reihe Physiologie*, Stuttgart: Thieme.
- BETTEX-GALLAND, M. & CLEMETSON, K. J. 2005. First isolation of actomyosin from a non-muscle cell: first isolated platelet protein. *J Thromb Haemost*, 3, 834-9.
- BETTEX-GALLAND, M., PORTZEHL, H. & LUSCHER, E. F. 1962. Dissociation of thrombosthenin into two components comparable with actin and myosin. *Nature*, 193, 777-8.
- BIZZOZERO, G. 1869. Sul midollo delle ossa. Il Morgagni
- BIZZOZERO, G. 1881. Su di un nuovo elemento morfologico del sangue dei mammiferi e della sua importanza nella trombosi e nella coagulazione. *L'Osservatore*. 17:785-7.
- BIZZOZERO, J. 1882. Über einen neuen formbestandteil des blutes und dessen rolle bei der thrombose und blutgerinnung. *Virchows Arch*. 90:261-332.
- BOSCH, X., MARRUGAT, J. & SANCHIS, J. 2010. Platelet glycoprotein IIb/IIIa blockers during percutaneous coronary intervention and as the initial medical treatment of non-ST segment elevation acute coronary syndromes. *Cochrane Database Syst Rev*, Cd002130.
- BOUNAMEAUX, H. 2005. More on: the early discoveries of collagen-platelet interaction and studies on its role in hemostatic plug formation. *J Thromb Haemost*, 3, 1116.
- BRAUNWALD, E. 2003. The Simon Dack lecture. Cardiology: the past, the present, and the future. *J Am Coll Cardiol*, 42, 2031-41.
- BRAUNWALD, E. & RUTHERFORD, J. D. 1986. Reversible ischemic left ventricular dysfunction: evidence for the "hibernating myocardium". *J Am Coll Cardiol*, 8, 1467-70.
- BREWER, D. B. 2006. Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the discovery of the platelet. *Br J Haematol*, 133, 251-8.
- BRIEGER, D., EAGLE, K. A., GOODMAN, S. G., STEG, P. G., BUDAJ, A., WHITE, K. & MONTALESCOT, G. 2004. Acute coronary syndromes without chest pain, an

- underdiagnosed and undertreated high-risk group: insights from the Global Registry of Acute Coronary Events. *Chest*, 126, 461-9.
- BRINKHOUS, K. M. 1983. W. W. Duke and his bleeding time test. A commentary on platelet function. *Jama*, 250, 1210-14.
- BRUENN, H. G. 1970. Clinical notes on the illness and death of President Franklin D. Roosevelt. *Ann Intern Med*, 72, 579-91.
- BRUSH, J. E., JR., BRAND, D. A., ACAMPORA, D., CHALMER, B. & WACKERS, F. J. 1985. Use of the initial electrocardiogram to predict in-hospital complications of acute myocardial infarction. *N Engl J Med*, 312, 1137-41.
- BUNDESAMT, S. 2015. Todesursachen in Deutschland - Fachserie 12 Reihe 4. Statistisches Bundesamt.
- BURGGRAF, G. W. & PARKER, J. O. 1975. Prognosis in coronary artery disease. Angiographic, hemodynamic, and clinical factors. *Circulation*, 51, 146-56.
- BURKHARDT, J. D. & WILKOFF, B. L. 2007. Interventional electrophysiology and cardiac resynchronization therapy: delivering electrical therapies for heart failure. *Circulation*, 115, 2208-20.
- CAMICI, P. G. 2004. Hibernation and heart failure. *Heart*, 90, 141-143.
- CANNON, C. P., MCCABE, C. H., STONE, P. H., ROGERS, W. J., SCHAFFMAN, M., THOMPSON, B. W., PEARCE, D. J., DIVER, D. J., KELLS, C., FELDMAN, T., WILLIAMS, M., GIBSON, R. S., KRONENBERG, M. W., GANZ, L. I., ANDERSON, H. V. & BRAUNWALD, E. 1997. The electrocardiogram predicts one-year outcome of patients with unstable angina and non-Q wave myocardial infarction: results of the TIMI III Registry ECG Ancillary Study. Thrombolysis in Myocardial Ischemia. *J Am Coll Cardiol*, 30, 133-40.
- CERISANO, G., BUONAMICI, P., VALENTI, R., SCIAGRA, R., RASPANTI, S., SANTINI, A., CARRABBA, N., DOVELLINI, E. V., ROMITO, R., PUPI, A., COLONNA, P. & ANTONIUCCI, D. 2014. Early short-term doxycycline therapy in patients with acute myocardial infarction and left ventricular dysfunction to prevent the ominous progression to adverse remodelling: the TIPTOP trial. *Eur Heart J*, 35, 184-91.
- CHAKRAVARTI, A. 1999. Population genetics--making sense out of sequence. *Nat Genet*, 21, 56-60.
- CHANG, C. & WERB, Z. 2001. The many faces of metalloproteases: cell growth, invasion, angiogenesis and metastasis. *Trends Cell Biol*, 11, S37-43.
- CHAZOV, E. I., MATVEEVA, L. S., MAZAEV, A. V., SARGIN, K. E., SADOVSKAIA, G. V. & RUDA, M. I. 1976. [Intracoronary administration of fibrinolysin in acute myocardial infarct]. *Ter Arkh*, 48, 8-19.
- COLLER, B. S. 2011. Historical Perspective and Future Directions in Platelet Research. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*, 9, 374-395.
- COLLER, B. S. 2013. Foreword - A Brief History of Ideas About Platelets in Health and Disease. In: MICHELSON, A. D. (ed.) *Platelets (Third Edition)*. Academic Press.
- COMMUNICATIONS, L. H. N. C. F. B. 2018. Help Me Understand Genetics Genomic Research. 14.
- COURNAND, A. & RANGES, H. A. 1941. Catheterization of the Right Auricle in Man. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 46, 462-466.
- CREA, F. & GASPARDONE, A. 1997. New Look to an Old Symptom: Angina Pectoris. *Circulation*, 96, 3766-3773.
- DABEK, J. K., A. GASIOR, Z. 2007. The role of matrix metalloproteinases in acute coronary syndromes. *Eur J Intern Med*; 18:463-6.
- DAUB, K., LANGER, H., SEIZER, P., STELLOS, K., MAY, A. E., GOYAL, P., BIGALKE, B., SCHONBERGER, T., GEISLER, T., SIEGEL-AXEL, D.,

- OOSTENDORP, R. A., LINDEMANN, S. & GAWAZ, M. 2006. Platelets induce differentiation of human CD34+ progenitor cells into foam cells and endothelial cells. *Faseb j*, 20, 2559-61.
- DAVIES, M. J., RICHARDSON, P. D., WOOLF, N., KATZ, D. R. & MANN, J. 1993. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br Heart J*, 69, 377-81.
- DE GAETANO, G. 2001. Historical overview of the role of platelets in hemostasis and thrombosis. *Haematologica*, 86, 349-56.
- DE LUCA, G., NAVARESE, E. & MARINO, P. 2009. Risk profile and benefits from Gp IIb-IIIa inhibitors among patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary angioplasty: a meta-regression analysis of randomized trials. *Eur Heart J*, 30, 2705-13.
- DE SAUVAGE, F. J., HASS, P. E., SPENCER, S. D., MALLOY, B. E., GURNEY, A. L., SPENCER, S. A., DARBONNE, W. C., HENZEL, W. J., WONG, S. C., KUANG, W. J. & ET AL. 1994. Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. *Nature*, 369, 533-8.
- DIAMOND, G. A., FORRESTER, J. S., DELUZ, P. L., WYATT, H. L. & SWAN, H. J. 1978. Post-extrasystolic potentiation of ischemic myocardium by atrial stimulation. *Am Heart J*, 95, 204-9.
- DIERCKX, D. B., PEACOCK, W. F., HIESTAND, B. C., CHEN, A. Y., POLLACK, C. V., JR., KIRK, J. D., SMITH, S. C., JR., GIBLER, W. B., OHMAN, E. M., BLOMKALNS, A. L., NEWBY, L. K., HOCHMAN, J. S., PETERSON, E. D. & ROE, M. T. 2006. Frequency and consequences of recording an electrocardiogram >10 minutes after arrival in an emergency room in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes (from the CRUSADE Initiative). *Am J Cardiol*, 97, 437-42.
- DONATO, M., D'ANNUNZIO, V., BUCHHOLZ, B., MIKSZTOWICZ, V., CARRIÓN, C. L., VALDEZ, L. B., ZAORBONYJ, T., SCHREIER, L., WIKINSKI, R., BOVERIS, A., BERG, G. & GELPI, R. J. 2010. Role of matrix metalloproteinase-2 in the cardioprotective effect of ischaemic postconditioning. *Experimental Physiology*, 95, 274-281.
- DROPPA, M., SPAHN, P., TAKHGIRIEV, K., MULLER, K. A., ALBOJI, A., STRAUB, A., RATH, D., JEONG, Y. H., GAWAZ, M. & GEISLER, T. 2016. Periprocedural platelet inhibition with cangrelor in P2Y12-inhibitor naive patients with acute coronary syndromes - A matched-control pharmacodynamic comparison in real-world patients. *Int J Cardiol*, 223, 848-851.
- DUKE, W. W. 1983. The relation of blood platelets to hemorrhagic disease. By W.W. Duke. *Jama*, 250, 1201-9.
- ESSLER, M., RETZER, M., BAUER, M., ZANGL, K. J., TIGYI, G. & SIESS, W. 2000. Stimulation of platelets and endothelial cells by mildly oxidized LDL proceeds through activation of lysophosphatidic acid receptors and the Rho/Rho-kinase pathway. Inhibition by lovastatin. *Ann N Y Acad Sci*, 905, 282-6.
- FAN, X. & SCHULZ, R. 2012. Matrix metalloproteinase-2: an emerging biomarker for reperfusion injury following percutaneous coronary intervention. *Heart*, 98, 1-2.
- FATAR, M., STROICK, M., STEFFENS, M., SENN, E., REUTER, B., BUKOW, S., GRIEBE, M., ALONSO, A., LICHTNER, P., BUGERT, P., MEITINGER, T., WIENKER, T. F. & HENNERICI, M. G. 2008. Single-nucleotide polymorphisms of MMP-2 gene in stroke subtypes. *Cerebrovasc Dis*, 26, 113-9.
- FERNANDEZ-PATRON, C., RADOMSKI, M. W. & DAVIDGE, S. T. 1999. Vascular matrix metalloproteinase-2 cleaves big endothelin-1 yielding a novel vasoconstrictor. *Circ Res*, 85, 906-11.

- FERNANDEZ-PATRON, C., STEWART, K. G., ZHANG, Y., KOIVUNEN, E., RADOMSKI, M. W. & DAVIDGE, S. T. 2000. Vascular matrix metalloproteinase-2-dependent cleavage of calcitonin gene-related peptide promotes vasoconstriction. *Circ Res*, 87, 670-6.
- FERT-BOBER, J., LEON, H., SAWICKA, J., BASRAN, R. S., DEVON, R. M., SCHULZ, R. & SAWICKI, G. 2008. Inhibiting matrix metalloproteinase-2 reduces protein release into coronary effluent from isolated rat hearts during ischemia-reperfusion. *Basic Res Cardiol*, 103, 431-43.
- FOREMAN, R. D., HANCOCK, M. B. & WILLIS, W. D. 1981. Responses of spinothalamic tract cells in the thoracic spinal cord of the monkey to cutaneous and visceral inputs. *PAIN*, 11, 149-162.
- FOX, K., GARCIA, M. A., ARDISSINO, D., BUSZMAN, P., CAMICI, P. G., CREA, F., DALY, C., DE BACKER, G., HJEMDAHL, P., LOPEZ-SENDON, J., MARCO, J., MORAIS, J., PEPPER, J., SECHTEM, U., SIMOONS, M., THYGESEN, K., PRIORI, S. G., BLANC, J. J., BUDAJ, A., CAMM, J., DEAN, V., DECKERS, J., DICKSTEIN, K., LEKAKIS, J., MCGREGOR, K., METRA, M., MORAIS, J., OSTERSEPEY, A., TAMARGO, J. & ZAMORANO, J. L. 2006. Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary: The Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 27, 1341-81.
- FUJIMURA, Y., TITANI, K., HOLLAND, L. Z., RUSSELL, S. R., ROBERTS, J. R., ELDER, J. H., RUGGERI, Z. M. & ZIMMERMAN, T. S. 1986. von Willebrand factor. A reduced and alkylated 52/48-kDa fragment beginning at amino acid residue 449 contains the domain interacting with platelet glycoprotein Ib. *J Biol Chem*, 261, 381-5.
- FUSTER, V., BADIMON, L., BADIMON, J. J. & CHESEBRO, J. H. 1992. The Pathogenesis of Coronary Artery Disease and the Acute Coronary Syndromes. *New England Journal of Medicine*, 326, 310-318.
- GAETANO, G. D. & CERLETTI, C. 2002. Platelet adhesion and aggregation and fibrin formation in flowing blood: a historical contribution by Giulio Bizzozero. *Platelets*, 13, 85-89.
- GAGLIA, M. A., JR. & WAKSMAN, R. 2011. Overview of the 2010 Food and Drug Administration Cardiovascular and Renal Drugs Advisory Committee meeting regarding ticagrelor. *Circulation*, 123, 451-6.
- GALIS, Z. S. & KHATRI, J. J. 2002. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly. *Circ Res*, 90, 251-62.
- GALIS, Z. S., SUKHOVA, G. K., LARK, M. W. & LIBBY, P. 1994. Increased expression of matrix metalloproteinases and matrix degrading activity in vulnerable regions of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*, 94, 2493-503.
- GARDNER, F. H. & COHEN, P. 1960. The value of platelet transfusions. *Med Clin North Am*, 44, 1425-39.
- GAWAZ, M. 1999. *Das Blutplättchen*, Stuttgart, Thieme.
- GEORGE, J. N., NURDEN, A. T. & PHILLIPS, D. R. 1984. Molecular defects in interactions of platelets with the vessel wall. *N Engl J Med*, 311, 1084-98.
- GRUNDY, S. M., CLEEMAN, J. I., MERZ, C. N., BREWER, H. B., JR., CLARK, L. T., HUNNINGHAKE, D. B., PASTERNAK, R. C., SMITH, S. C., JR. & STONE, N. J. 2004. Implications of recent clinical trials for the National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III guidelines. *Circulation*, 110, 227-39.

- GRUNTZIG, A. R., SENNING, A. & SIEGENTHALER, W. E. 1979. Nonoperative dilatation of coronary-artery stenosis: percutaneous transluminal coronary angioplasty. *N Engl J Med*, 301, 61-8.
- GU, Y., WALKER, C., RYAN, M. E., PAYNE, J. B. & GOLUB, L. M. 2012. Non-antibacterial tetracycline formulations: clinical applications in dentistry and medicine. *J Oral Microbiol*, 4.
- GU, Z., KAUL, M., YAN, B., KRIDEL, S. J., CUI, J., STRONGIN, A., SMITH, J. W., LIDDINGTON, R. C. & LIPTON, S. A. 2002. S-nitrosylation of matrix metalloproteinases: signaling pathway to neuronal cell death. *Science*, 297, 1186-90.
- GURBEL, P. A., BLIDEN, K. P., HIATT, B. L. & O'CONNOR, C. M. 2003. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation*, 107, 2908-13.
- GURBEL, P. A., KEREIAKES, D. J. & TANTRY, U. S. 2010. Ticagrelor for the treatment of arterial thrombosis. *Expert Opin Pharmacother*, 11, 2251-9.
- GURM, H. S., TAMHANE, U., MEIER, P., GROSSMAN, P. M., CHETCUTI, S. & BATES, E. R. 2009. A comparison of abciximab and small-molecule glycoprotein IIb/IIIa inhibitors in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: a meta-analysis of contemporary randomized controlled trials. *Circ Cardiovasc Interv*, 2, 230-6.
- HAJAR, R. 2016. Evolution of Myocardial Infarction and its Biomarkers: A Historical Perspective. *Heart Views : The Official Journal of the Gulf Heart Association*, 17, 167-172.
- HAJAR, R. 2017. Coronary Heart Disease: From Mummies to 21(st) Century. *Heart Views : The Official Journal of the Gulf Heart Association*, 18, 68-74.
- HALADE, G. V., JIN, Y.-F. & LINDSEY, M. L. 2013. Matrix Metalloproteinase (MMP)-9: a proximal biomarker for cardiac remodeling and a distal biomarker for inflammation. *Pharmacology & therapeutics*, 139, 32-40.
- HAMM, C. W., BASSAND, J. P., AGEWALL, S., BAX, J., BOERSMA, E., BUENO, H., CASO, P., DUDEK, D., GIELEN, S., HUBER, K., OHMAN, M., PETRIE, M. C., SONNTAG, F., UVA, M. S., STOREY, R. F., WIJNS, W. & ZAHGER, D. 2011. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*, 32, 2999-3054.
- HARRINGTON, W. J., MINNICH, V., HOLLINGSWORTH, J. W. & MOORE, C. V. 1951. Demonstration of a thrombocytopenic factor in the blood of patients with thrombocytopenic purpura. *J Lab Clin Med*, 38, 1-10.
- HARRINGTON, W. J., SPRAGUE, C. C., MINNICH, V., MOORE, C. V., AULVIN, R. C. & DUBACH, R. 1953. Immunologic mechanisms in idiopathic and neonatal thrombocytopenic purpura. *Ann Intern Med*, 38, 433-69.
- HEIJNEN, H. F., DEBILI, N., VAINCHENCKER, W., BRETON-GORIUS, J., GEUZE, H. J. & SIXMA, J. J. 1998. Multivesicular bodies are an intermediate stage in the formation of platelet alpha-granules. *Blood*, 91, 2313-25.
- HEKTOEN, L. 1892. Embolism of the left coronary artery; sudden death. *Med Newsl (Lond)*. *Med Newsl (Lond)*, 61:210.
- HELLEM, A. J., BORCHGREVINK, C. F. & AMES, S. B. 1961. The role of red cells in haemostasis: the relation between haematocrit, bleeding time and platelet adhesiveness. *Br J Haematol*, 7, 42-50.
- HEROLD, G. 2018. *Innere Medizin*. 1002.

- HERRICK, J. B. 1912. Clinical features of sudden obstruction of the coronary arteries. *Journal of the American Medical Association*, LIX, 2015-2022.
- HERRICK, J. B. 1983. Landmark article (JAMA 1912). Clinical features of sudden obstruction of the coronary arteries. By James B. Herrick. *Jama*, 250, 1757-65.
- HEUSCH, B., GUTH, B. D. & HEUSCH, G. Kurze Geschichte der Angina pectoris: Vorstellungen von der Myokardischämie im Wandel der Zeit. In: HEUSCH, G., ed. Pathophysiologie und rationale Pharmakotherapie der Myokardischämie, 1990// 1990 Heidelberg. Steinkopff, 1-9.
- HEYNDRIX, G. R., MILLARD, R. W., MCRITCHIE, R. J., MAROKO, P. R. & VATNER, S. F. 1975. Regional myocardial functional and electrophysiological alterations after brief coronary artery occlusion in conscious dogs. *J Clin Invest*, 56, 978-85.
- HLATKY, M. A., ASHLEY, E., QUERTERMOUS, T., BOOTHROYD, D. B., RIDKER, P., SOUTHWICK, A., MYERS, R. M., IRIBARREN, C., FORTMANN, S. P. & GO, A. S. 2007. Matrix metalloproteinase circulating levels, genetic polymorphisms, and susceptibility to acute myocardial infarction among patients with coronary artery disease. *Am Heart J*, 154, 1043-51.
- HORNE, B. D., CAMP, N. J., CARLQUIST, J. F., MUHLESTEIN, J. B., KOLEK, M. J., NICHOLAS, Z. P. & ANDERSON, J. L. 2007. Multiple-Polymorphism Associations of Seven Matrix Metalloproteinase and Tissue Inhibitor Metalloproteinase Genes with Myocardial Infarction and Angiographic Coronary Artery Disease. *American heart journal*, 154, 751-758.
- HOUSMAN, D. & LEDLEY, F. D. 1998. Why pharmacogenomics? Why now? *Nat Biotechnol*, 16, 492-3.
- HOVIG, T. 2005. The early discoveries of collagen-platelet interaction and studies on its role in hemostatic plug formation. *J Thromb Haemost*, 3, 1-6.
- HUA, Y., SONG, L., WU, N., XIE, G., LU, X., FAN, X., MENG, X., GU, D. & YANG, Y. 2009. Polymorphisms of MMP-2 gene are associated with systolic heart failure prognosis. *Clinica Chimica Acta*, 404, 119-123.
- HUDSON, M. P., ARMSTRONG, P. W., RUZYLO, W., BRUM, J., CUSMANO, L., KRZESKI, P., LYON, R., QUINONES, M., THEROUX, P., SYDLOWSKI, D., KIM, H. E., GARCIA, M. J., JABER, W. A. & WEAVER, W. D. 2006. Effects of selective matrix metalloproteinase inhibitor (PG-116800) to prevent ventricular remodeling after myocardial infarction: results of the PREMIER (Prevention of Myocardial Infarction Early Remodeling) trial. *J Am Coll Cardiol*, 48, 15-20.
- HUGHES, B. G. & SCHULZ, R. 2014. Targeting MMP-2 to treat ischemic heart injury. *Basic Research in Cardiology*, 109, 424.
- HURST, J. W. 1998. Meaningful quotations from Paul Dudley White. *Clin Cardiol*, 21, 617-8.
- ISIS-2 1988. Randomised trial of intravenous streptokinase, oral aspirin, both, or neither among 17,187 cases of suspected acute myocardial infarction: ISIS-2. ISIS-2 (Second International Study of Infarct Survival) Collaborative Group. *Lancet*, 2, 349-60.
- JAREMKO, M., JUSTENHOVEN, C., ABRAHAM, B. K., SCHROTH, W., FRITZ, P., BROD, S., VOLLMERT, C., ILLIG, T. & BRAUCH, H. 2005. MALDI-TOF MS and TaqMan assisted SNP genotyping of DNA isolated from formalin-fixed and paraffin-embedded tissues (FFPET). *Hum Mutat*, 25, 232-8.
- JOHNSON, J. L. 2017. Metalloproteinases in atherosclerosis. *Eur J Pharmacol*, 816, 93-106.
- JORGENSEN, L. 2005. ADP-induced platelet aggregation in the microcirculation of pig myocardium and rabbit kidneys. *J Thromb Haemost*, 3, 1119-24.

- JORGENSEN, L., ROWSELL, H. C., HOVIG, T., GLYNN, M. F. & MUSTARD, J. F. 1967. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation and myocardial infarction in swine. *Lab Invest*, 17, 616-44.
- JULIAN, D. G. 1961. Treatment of cardiac arrest in acute myocardial ischaemia and infarction. *Lancet*, 2, 840-4.
- KAI, H., IKEDA, H., YASUKAWA, H., KAI, M., SEKI, Y., KUWAHARA, F., UENO, T., SUGI, K. & IMAIZUMI, T. 1998. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*, 32, 368-72.
- KANDASAMY, A. D., CHOW, A. K., ALI, M. A. M. & SCHULZ, R. 2010. Matrix metalloproteinase-2 and myocardial oxidative stress injury: beyond the matrix. *Cardiovascular Research*, 85, 413-423.
- KANNEL, W. B., DAWBER, T. R., KAGAN, A., REVOTSKIE, N. & STOKES, J., 3RD 1961. Factors of risk in the development of coronary heart disease--six year follow-up experience. The Framingham Study. *Ann Intern Med*, 55, 33-50.
- KATO, T., OGAMI, K., SHIMADA, Y., IWAMATSU, A., SOHMA, Y., AKAHORI, H., HORIE, K., KOKUBO, A., KUDO, Y. & MAEDA, E. 1995. Purification and characterization of thrombopoietin. *J Biochem*, 118, 229-36.
- KATZ, A. M. & KATZ, P. B. 1962. DISEASE OF THE HEART IN THE WORKS OF HIPPOCRATES. *British Heart Journal*, 24, 257-264.
- KELEMEN, E. 1995. Specific thrombopoietin cloned and sequenced--with personal retrospect and clinical prospects. *Leukemia*, 9, 1-2.
- KELEMEN, E., CSERHATI, I. & TANOS, B. 1958. Demonstration and some properties of human thrombopoietin in thrombocythaemic sera. *Acta Haematol*, 20, 350-5.
- KERN, M. J., BACH, R. G., MECHEM, C. J., CARACCILO, E. A., AGUIRRE, F. V., MILLER, L. W. & DONOHUE, T. J. 1996. Variations in normal coronary vasodilatory reserve stratified by artery, gender, heart transplantation and coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*, 28, 1154-60.
- KOCH, W., DE WAHA, A., HOPPMANN, P., SCHÖMIG, A. & KASTRATI, A. 2010. Haplotypes and 5A/6A polymorphism of the matrix metalloproteinase-3 gene in coronary disease: Case–control study and a meta-analysis. *Atherosclerosis*, 208, 171-176.
- KUMAR, A. & CANNON, C. P. 2009. Acute Coronary Syndromes: Diagnosis and Management, Part I. *Mayo Clinic Proceedings*, 84, 917-938.
- KUMAR, D. R., HANLIN, E., GLURICH, I., MAZZA, J. J. & YALE, S. H. 2010. Virchow's Contribution to the Understanding of Thrombosis and Cellular Biology. *Clinical Medicine & Research*, 8, 168-172.
- KUTER, D. J., BEELER, D. L. & ROSENBERG, R. D. 1994. The purification of megapoeitin: a physiological regulator of megakaryocyte growth and platelet production. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 91, 11104-8.
- LANGER, H. & GAWAZ, M. 2006. [The role of platelets for the pathophysiology of acute coronary syndromes]. *Hamostaseologie*, 26, 114-8.
- LEVIN, J. 2013. Chapter 1 - The Evolution of Mammalian Platelets. In: MICHELSON, A. D. (ed.) *Platelets (Third Edition)*. Academic Press.
- LI, Z., LI, L., ZIELKE, H. R., CHENG, L., XIAO, R., CROW, M. T., STETLER-STEVENSON, W. G., FROELICH, J. & LAKATTA, E. G. 1996. Increased expression of 72-kd type IV collagenase (MMP-2) in human aortic atherosclerotic lesions. *The American Journal of Pathology*, 148, 121-128.
- LIBBY, P. 2000. Coronary artery injury and the biology of atherosclerosis: inflammation, thrombosis, and stabilization. *Am J Cardiol*, 86, 3J-8J; discussion 8J-9J.

- LOK, S., KAUSHANSKY, K., HOLLY, R. D., KUIJPER, J. L., LOFTON-DAY, C. E., OORT, P. J., GRANT, F. J., HEIPEL, M. D., BURKHEAD, S. K., KRAMER, J. M. & ET AL. 1994. Cloning and expression of murine thrombopoietin cDNA and stimulation of platelet production in vivo. *Nature*, 369, 565-8.
- LONETTI, A., FONTANA, M. C., MARTINELLI, G. & IACOBUCCI, I. 2016. Single Nucleotide Polymorphisms as Genomic Markers for High-Throughput Pharmacogenomic Studies. *Methods Mol Biol*, 1368, 143-59.
- LOSCALZO, J. 2001. Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. *Circ Res*, 88, 756-62.
- LOVE, B. B., BILLER, J. & GENT, M. 1998. Adverse haematological effects of ticlopidine. Prevention, recognition and management. *Drug Saf*, 19, 89-98.
- MANSO, H., KRUG, T., SOBRAL, J., ALBERGARIA, I., GASPAS, G., FERRO, J. M., OLIVEIRA, S. A. & VICENTE, A. M. 2010. Variants of the Matrix Metalloproteinase-2 but not the Matrix Metalloproteinase-9 genes significantly influence functional outcome after stroke. *BMC Med Genet*, 11, 40.
- MARCUS, A. J., BROEKMAN, M. J., DROSOPOULOS, J. H., ISLAM, N., ALYONYCHEVA, T. N., SAFIER, L. B., HAJJAR, K. A., POSNETT, D. N., SCHOENBORN, M. A., SCHOOLEY, K. A., GAYLE, R. B. & MALISZEWSKI, C. R. 1997. The endothelial cell ecto-ADPase responsible for inhibition of platelet function is CD39. *J Clin Invest*, 99, 1351-60.
- MARCUS, A. J., BROEKMAN, M. J., DROSOPOULOS, J. H., OLSON, K. E., ISLAM, N., PINSKY, D. J. & LEVI, R. 2005. Role of CD39 (NTPDase-1) in thromboregulation, cerebroprotection, and cardioprotection. *Semin Thromb Hemost*, 31, 234-46.
- MARTIN, E. R., LAI, E. H., GILBERT, J. R., ROGALA, A. R., AFSHARI, A. J., RILEY, J., FINCH, K. L., STEVENS, J. F., LIVAK, K. J., SLOTTERBECK, B. D., SLIFER, S. H., WARREN, L. L., CONNEALLY, P. M., SCHMECHEL, D. E., PURVIS, I., PERICAK-VANCE, M. A., ROSES, A. D. & VANCE, J. M. 2000. SNPing away at complex diseases: analysis of single-nucleotide polymorphisms around APOE in Alzheimer disease. *Am J Hum Genet*, 67, 383-94.
- MASERI, A., CREA, F., KASKI, J. C. & DAVIES, G. 1992. Mechanisms and significance of cardiac ischemic pain. *Prog Cardiovasc Dis*, 35, 1-18.
- MATSUNAGA, T., ABE, N., KAMEDA, K., HAGII, J., FUJITA, N., ONODERA, H., KAMATA, T., ISHIZAKA, H., HANADA, H., OSANAI, T. & OKUMURA, K. 2005. Circulating level of gelatinase activity predicts ventricular remodeling in patients with acute myocardial infarction. *International Journal of Cardiology*, 105, 203-208.
- MAZZARELLO, P., CALLIGARO, A. L. & CALLIGARO, A. 2001. Giulio Bizzozero: a pioneer of cell biology. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2, 776-81.
- MCQUIBBAN, G. A., GONG, J. H., TAM, E. M., MCCULLOCH, C. A., CLARK-LEWIS, I. & OVERALL, C. M. 2000. Inflammation dampened by gelatinase A cleavage of monocyte chemoattractant protein-3. *Science*, 289, 1202-6.
- MISHRA, A., SRIVASTAVA, A., MITTAL, T., GARG, N. & MITTAL, B. 2012. Association of matrix metalloproteinases (MMP2, MMP7 and MMP9) genetic variants with left ventricular dysfunction in coronary artery disease patients. *Clin Chim Acta*, 413, 1668-74.
- MOAKE, J. L. 2004. Thrombotic thrombocytopenic purpura: survival by "giving a dam". *Trans Am Clin Climatol Assoc*, 115, 201-19.
- MONCADA, S., GRYGLEWSKI, R., BUNTING, S. & VANE, J. R. 1976. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature*, 263, 663-5.

- MONTALESCOT, G., SECHTEM, U., ACHENBACH, S., ANDREOTTI, F., ARDEN, C., BUDAJ, A., BUGIARDINI, R., CREA, F., CUISSET, T., DI MARIO, C., FERREIRA, J. R., GERSH, B. J., GITT, A. K., HULOT, J. S., MARX, N., OPIE, L. H., PFISTERER, M., PRESCOTT, E., RUSCHITZKA, F., SABATE, M., SENIOR, R., TAGGART, D. P., VAN DER WALL, E. E., VRINTS, C. J., ZAMORANO, J. L., ACHENBACH, S., BAUMGARTNER, H., BAX, J. J., BUENO, H., DEAN, V., DEATON, C., EROL, C., FAGARD, R., FERRARI, R., HASDAI, D., HOES, A. W., KIRCHHOF, P., KNUUTI, J., KOLH, P., LANCELLOTTI, P., LINHART, A., NIHOYANNOPOULOS, P., PIEPOLI, M. F., PONIKOWSKI, P., SIRNES, P. A., TAMARGO, J. L., TENDERA, M., TORBICKI, A., WIJNS, W., WINDECKER, S., KNUUTI, J., VALGIMIGLI, M., BUENO, H., CLAEYS, M. J., DONNER-BANZHOF, N., EROL, C., FRANK, H., FUNCK-BRENTANO, C., GAEMPERLI, O., GONZALEZ-JUANATEY, J. R., HAMILOS, M., HASDAI, D., HUSTED, S., JAMES, S. K., KERVINEN, K., KOLH, P., KRISTENSEN, S. D., LANCELLOTTI, P., MAGGIONI, A. P., PIEPOLI, M. F., PRIES, A. R., ROMEO, F., RYDEN, L., SIMOONS, M. L., SIRNES, P. A., STEG, P. G., TIMMIS, A., WIJNS, W., WINDECKER, S., YILDIRIR, A. & ZAMORANO, J. L. 2013. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J*, 34, 2949-3003.
- MORGUNOVA, E., TUUTTILA, A., BERGMANN, U., ISUPOV, M., LINDQVIST, Y., SCHNEIDER, G. & TRYGGVASON, K. 1999. Structure of human pro-matrix metalloproteinase-2: activation mechanism revealed. *Science*, 284, 1667-70.
- MORISHITA, T., UZUI, H., MITSUKE, Y., ARAKAWA, K., AMAYA, N., KASENO, K., ISHIDA, K., NAKAYA, R., LEE, J. D. & TADA, H. 2015. Predictive Utility of the Changes in Matrix Metalloproteinase-2 in the Early Phase for Left Ventricular Reverse Remodeling After an Acute Myocardial Infarction. *Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease*, 4, e001359.
- MORROW, D. A., CANNON, C. P., JESSE, R. L., NEWBY, L. K., RAVKILDE, J., STORROW, A. B., WU, A. H. B., CHRISTENSON, R. H., CHRISTENSON, R. H., APPLE, F. S., CANNON, C. P., FRANCIS, G., JESSE, R. L., MORROW, D. A., NEWBY, L. K., RAVKILDE, J., STORROW, A. B., TANG, W. & WU, A. H. B. 2007. National Academy of Clinical Biochemistry Laboratory Medicine Practice Guidelines: Clinical Characteristics and Utilization of Biochemical Markers in Acute Coronary Syndromes. *Clinical Chemistry*, 53, 552-574.
- MOSS, A. J., ZAREBA, W., HALL, W. J., KLEIN, H., WILBER, D. J., CANNOM, D. S., DAUBERT, J. P., HIGGINS, S. L., BROWN, M. W. & ANDREWS, M. L. 2002. Prophylactic Implantation of a Defibrillator in Patients with Myocardial Infarction and Reduced Ejection Fraction. *New England Journal of Medicine*, 346, 877-883.
- MUELLER, R. L. & SANBORN, T. A. 1995. The history of interventional cardiology: Cardiac catheterization, angioplasty, and related interventions. *American Heart Journal*, 129, 146-172.
- MUMMIDI, S., AHUJA, S. S., GONZALEZ, E., ANDERSON, S. A., SANTIAGO, E. N., STEPHAN, K. T., CRAIG, F. E., O'CONNELL, P., TRYON, V., CLARK, R. A., DOLAN, M. J. & AHUJA, S. K. 1998. Genealogy of the CCR5 locus and chemokine system gene variants associated with altered rates of HIV-1 disease progression. *Nat Med*, 4, 786-93.

- MURUGAPPAN, S., SHANKAR, H. & KUNAPULI, S. P. 2004. Platelet receptors for adenine nucleotides and thromboxane A₂. *Semin Thromb Hemost*, 30, 411-8.
- NABEL, E. G. & BRAUNWALD, E. 2012. A Tale of Coronary Artery Disease and Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine*, 366, 54-63.
- NAGASE, H., VISSE, R. & MURPHY, G. 2006. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res*, 69, 562-73.
- NCBI 2018. MMP2 matrix metalloproteinase 2 [Homo sapiens (human)] Gene ID:4313.
- NDREPEPA, G. 2017. Atherosclerosis & ischaemic heart disease: Here to stay or gone tomorrow. *The Indian Journal of Medical Research*, 146, 293-297.
- NEWBY, A. C. 2006. Matrix metalloproteinases regulate migration, proliferation, and death of vascular smooth muscle cells by degrading matrix and non-matrix substrates. *Cardiovasc Res*, 69, 614-24.
- NIE, S. W., WANG, X. F. & TANG, Z. C. 2014. Correlations between MMP-2/MMP-9 promoter polymorphisms and ischemic stroke. *Int J Clin Exp Med*, 7, 400-4.
- NIEWIAROWSKI, S. 1977. Proteins secreted by the platelet. *Thromb Haemost*, 38, 924-38.
- NILSSON, L., HALLEN, J., ATAR, D., JONASSON, L. & SWAHN, E. 2011. *Early measurements of plasma matrix metalloproteinase-2 predict infarct size and ventricular dysfunction in ST-elevation myocardial infarction.*
- NURDEN, A. T., PHILLIPS, D. R. & GEORGE, J. N. 2006. Platelet membrane glycoproteins: historical perspectives. *J Thromb Haemost*, 4, 3-9.
- O'DONNELL, C. J. & ELOSUA, R. 2008. [Cardiovascular risk factors. Insights from Framingham Heart Study]. *Rev Esp Cardiol*, 61, 299-310.
- OKAMOTO, T., AKAIKE, T., NAGANO, T., MIYAJIMA, S., SUGA, M., ANDO, M., ICHIMORI, K. & MAEDA, H. 1997. Activation of human neutrophil procollagenase by nitrogen dioxide and peroxynitrite: a novel mechanism for procollagenase activation involving nitric oxide. *Arch Biochem Biophys*, 342, 261-74.
- PAGE, M., BESTER, J. & PRETORIUS, E. 2018. The inflammatory effects of TNF- α and complement component 3 on coagulation. *Scientific Reports*, 8.
- PEPPIN, G. J. & WEISS, S. J. 1986. Activation of the endogenous metalloproteinase, gelatinase, by triggered human neutrophils. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 83, 4322-6.
- PRETORIUS, L., THOMSON, G. J. A., ADAMS, R. C. M., NELL, T. A., LAUBSCHER, W. A. & PRETORIUS, E. 2018. Platelet activity and hypercoagulation in type 2 diabetes. *Cardiovasc Diabetol*, 17, 141.
- PRICE, S. J., GREAVES, D. R. & WATKINS, H. 2001. Identification of novel, functional genetic variants in the human matrix metalloproteinase-2 gene: role of Sp1 in allele-specific transcriptional regulation. *J Biol Chem*, 276, 7549-58.
- RADOMSKI, M. W., PALMER, R. M. & MONCADA, S. 1987. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet*, 2, 1057-8.
- RAHIMTOOLA, S. H. 1989. The hibernating myocardium. *Am Heart J*, 117, 211-21.
- RAJAGOPALAN, S., MENG, X. P., RAMASAMY, S., HARRISON, D. G. & GALIS, Z. S. 1996. Reactive oxygen species produced by macrophage-derived foam cells regulate the activity of vascular matrix metalloproteinases in vitro. Implications for atherosclerotic plaque stability. *J Clin Invest*, 98, 2572-9.
- RATH, D., SCHAEFFELER, E., WINTER, S., LEVERTOV, S., MÜLLER, K., DROPPA, M., STIMPFLE, F., LANGER, H. F., GAWAZ, M., SCHWAB, M. & GEISLER, T. 2017. GPIa Polymorphisms Are Associated with Outcomes in Patients at High Cardiovascular Risk. *Frontiers in cardiovascular medicine*, 4, 52-52.

- RENZ-POLSTER, H. (ed.) 2004. *Basislehrbuch Innere Medizin : kompakt, greifbar, verständlich*, München ; Jena: Urban & Fischer.
- RICCIOTTI, E. & FITZGERALD, G. A. 2011. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 31, 986-1000.
- ROBB-SMITH, A. H. 1967. Why the platelets were discovered. *Br J Haematol*, 13, 618-37.
- ROFFI, M., PATRONO, C., COLLET, J.-P., MUELLER, C., VALGIMIGLI, M., ANDREOTTI, F., BAX, J. J., BORGER, M. A., BROTONS, C., CHEW, D. P., GENCER, B., HASENFUSS, G., KJELDSSEN, K., LANCELLOTTI, P., LANDMESSER, U., MEHILLI, J., MUKHERJEE, D., STOREY, R. F., WINDECKER, S. & GROUP, E. S. C. S. D. 2016. 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). *European Heart Journal*, 37, 267-315.
- RUGGERI, Z. M. 2002. Platelets in atherothrombosis. *Nat Med*, 8, 1227-34.
- RUMBAUT, R. T., P. 2010. Platelet-Vessel Wall Interactions in Hemostasis and Thrombosis. *San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences*; Chapter 6, Arterial, Venous, and Microvascular Hemostasis/Thrombosis.
- SABBATINI, A. R., BARBARO, N. R., DE FARIA, A. P., RITTER, A. M. V., MODOLO, R., CORREA, N. B., BRUNELLI, V., PINHO, C., FONTANA, V. & MORENO, H. 2017. Matrix metalloproteinase-2 -735C/T polymorphism is associated with resistant hypertension in a specialized outpatient clinic in Brazil. *Gene*, 620, 23-29.
- SACCO, R. L., KASNER, S. E., BRODERICK, J. P., CAPLAN, L. R., CONNORS, J. J., CULEBRAS, A., ELKIND, M. S., GEORGE, M. G., HAMDAN, A. D., HIGASHIDA, R. T., HOH, B. L., JANIS, L. S., KASE, C. S., KLEINDORFER, D. O., LEE, J. M., MOSELEY, M. E., PETERSON, E. D., TURAN, T. N., VALDERRAMA, A. L. & VINTERS, H. V. 2013. An updated definition of stroke for the 21st century: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. *Stroke*, 44, 2064-89.
- SAITO, H. & KUNISHIMA, S. 2008. Historical hematology: May-Hegglin anomaly. *Am J Hematol*, 83, 304-6.
- SALZMAN, E. W. & NERI, L. L. 1966. Adhesiveness of blood platelets in uremia. *Thromb Diath Haemorrh*, 15, 84-92.
- SAVONITTO, S., ARDISSINO, D., GRANGER, C. B., MORANDO, G., PRANDO, M. D., MAFRICI, A., CAVALLINI, C., MELANDRI, G., THOMPSON, T. D., VAHANIAN, A., OHMAN, E. M., CALIFF, R. M., VAN DE WERF, F. & TOPOL, E. J. 1999. Prognostic value of the admission electrocardiogram in acute coronary syndromes. *Jama*, 281, 707-13.
- SAWICKI, G., SALAS, E., MURAT, J., MISZTA-LANE, H. & RADOMSKI, M. W. 1997. Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation. *Nature*, 386, 616-9.
- SCHENONE, M., FURIE, B. C. & FURIE, B. 2004. The blood coagulation cascade. *Curr Opin Hematol*, 11, 272-7.
- SCHOENENBERGER, A. W. & ERNE, P. 2009. [Coronary artery disease - definitions and epidemiology]. *Ther Umsch*, 66, 223-9.
- SCHOMIG, A., NEUMANN, F. J., KASTRATI, A., SCHUHLEN, H., BLASINI, R., HADAMITZKY, M., WALTER, H., ZITZMANN-ROTH, E. M., RICHARDT, G., ALT, E., SCHMITT, C. & ULM, K. 1996. A randomized comparison of

- antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary-artery stents. *N Engl J Med*, 334, 1084-9.
- SERRUYS, P. W., DEGERTEKIN, M., TANABE, K., ABIZAID, A., SOUSA, J. E., COLOMBO, A., GUAGLIUMI, G., WIJNS, W., LINDEBOOM, W. K., LIGTHART, J., DE FEYTER, P. J. & MORICE, M. C. 2002. Intravascular ultrasound findings in the multicenter, randomized, double-blind RAVEL (RANDOMIZED study with the sirolimus-eluting VELOCITY balloon-expandable stent in the treatment of patients with de novo native coronary artery Lesions) trial. *Circulation*, 106, 798-803.
- SHAH, P. K. 2009. Inflammation and plaque vulnerability. *Cardiovasc Drugs Ther*, 23, 31-40.
- SHIOJI, K., KOKUBO, Y., GOTO, Y., NONOGI, H. & IWAI, N. 2004. An association analysis between genetic polymorphisms of matrix metalloproteinase-3 and methylenetetrahydrofolate reductase and myocardial infarction in Japanese. *Journal of Thrombosis and Haemostasis*, 2, 527-528.
- SHORT, B. 2017. Dr Edward Jenner: Eighteenth-Century Cardiology Pioneer *Health & History: Journal of the Australian & New Zealand Society for the History of Medicine*, 19, 102-117.
- SHULDINER, A. R., O'CONNELL, J. R., BLIDEN, K. P., GANDHI, A., RYAN, K., HORENSTEIN, R. B., DAMCOTT, C. M., PAKYZ, R., TANTRY, U. S., GIBSON, Q., POLLIN, T. I., POST, W., PARSA, A., MITCHELL, B. D., FARADAY, N., HERZOG, W. & GURBEL, P. A. 2009. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *Jama*, 302, 849-57.
- SIEGEL, R. E. 1968. Galen's system of physiology and medicine. *S.Karger*, 419, 344-365.
- SILVERMAN, M. E. 1985. William Harvey and the discovery of the circulation of blood. *Clinical Cardiology*, 8, 244-246.
- SLAUGHTER, M. S., ROGERS, J. G., MILANO, C. A., RUSSELL, S. D., CONTE, J. V., FELDMAN, D., SUN, B., TATOLES, A. J., DELGADO, R. M., 3RD, LONG, J. W., WOZNIAK, T. C., GHUMMAN, W., FARRAR, D. J. & FRAZIER, O. H. 2009. Advanced heart failure treated with continuous-flow left ventricular assist device. *N Engl J Med*, 361, 2241-51.
- SLIJKHUIS, W., MALI, W. & APPELMAN, Y. 2009. A historical perspective towards a non-invasive treatment for patients with atherosclerosis. *Netherlands Heart Journal*, 17, 140-144.
- SOLUM, N. O. & CLEMETSON, K. J. 2005. The discovery and characterization of platelet GPIb. *J Thromb Haemost*, 3, 1125-32.
- SONES, F. M., JR. & SHIREY, E. K. 1962. Cine coronary arteriography. *Mod Concepts Cardiovasc Dis*, 31, 735-8.
- SOROKIN, L. 2010. The impact of the extracellular matrix on inflammation. *Nat Rev Immunol*, 10, 712-23.
- SPINALE, F. G. 2002. Matrix metalloproteinases: regulation and dysregulation in the failing heart. *Circ Res*, 90, 520-30.
- SQUIRE, I. B., EVANS, J., NG, L. L., LOFTUS, I. M. & THOMPSON, M. M. 2004. Plasma MMP-9 and MMP-2 following acute myocardial infarction in man: correlation with echocardiographic and neurohumoral parameters of left ventricular dysfunction. *J Card Fail*, 10, 328-33.
- STEG, P. G., JAMES, S. K., ATAR, D., BADANO, L. P., BLOMSTROM-LUNDQVIST, C., BORGER, M. A., DI MARIO, C., DICKSTEIN, K., DUCROCQ, G., FERNANDEZ-AVILES, F., GERSHLICK, A. H., GIANNUZZI, P., HALVORSEN,

- S., HUBER, K., JUNI, P., KASTRATI, A., KNUUTI, J., LENZEN, M. J., MAHAFFEY, K. W., VALGIMIGLI, M., VAN 'T HOF, A., WIDIMSKY, P. & ZAHGER, D. 2012. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J*, 33, 2569-619.
- STORROW, A. B. & GIBLER, W. B. 2000. Chest pain centers: diagnosis of acute coronary syndromes. *Ann Emerg Med*, 35, 449-61.
- TANGELDER, G. J., TEIRLINCK, H. C., SLAAF, D. W. & RENEMAN, R. S. 1985. Distribution of blood platelets flowing in arterioles. *Am J Physiol*, 248, H318-23.
- THOMPSON, R. C., ALLAM, A. H., LOMBARDI, G. P., WANN, L. S., SUTHERLAND, M. L., SUTHERLAND, J. D., SOLIMAN, M. A., FROHLICH, B., MININBERG, D. T., MONGE, J. M., VALLODOLID, C. M., COX, S. L., ABD EL-MAKSOU, G., BADR, I., MIYAMOTO, M. I., EL-HALIM NUR EL-DIN, A., NARULA, J., FINCH, C. E. & THOMAS, G. S. 2013. Atherosclerosis across 4000 years of human history: the Horus study of four ancient populations. *Lancet*, 381, 1211-22.
- THYGESEN, K., ALPERT, J. S., JAFFE, A. S., SIMOONS, M. L., CHAITMAN, B. R., WHITE, H. D., THYGESEN, K., ALPERT, J. S., WHITE, H. D., JAFFE, A. S., KATUS, H. A., APPLE, F. S., LINDAHL, B., MORROW, D. A., CHAITMAN, B. A., CLEMMENSEN, P. M., JOHANSON, P., HOD, H., UNDERWOOD, R., BAX, J. J., BONOW, R. O., PINTO, F., GIBBONS, R. J., FOX, K. A., ATAR, D., NEWBY, L. K., GALVANI, M., HAMM, C. W., URETSKY, B. F., STEG, P. G., WIJNS, W., BASSAND, J. P., MENASCHE, P., RAVKILDE, J., OHMAN, E. M., ANTMAN, E. M., WALLENTIN, L. C., ARMSTRONG, P. W., SIMOONS, M. L., JANUZZI, J. L., NIEMINEN, M. S., GHEORGHIADE, M., FILIPPATOS, G., LUEPKER, R. V., FORTMANN, S. P., ROSAMOND, W. D., LEVY, D., WOOD, D., SMITH, S. C., HU, D., LOPEZ-SENDON, J. L., ROBERTSON, R. M., WEAVER, D., TENDERA, M., BOVE, A. A., PARKHOMENKO, A. N., VASILIEVA, E. J. & MENDIS, S. 2012a. Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J*, 33, 2551-67.
- THYGESEN, K., MAIR, J., GIANNITSIS, E., MUELLER, C., LINDAHL, B., BLANKENBERG, S., HUBER, K., PLEBANI, M., BIASUCCI, L. M., TUBARO, M., COLLINSON, P., VENGE, P., HASIN, Y., GALVANI, M., KOENIG, W., HAMM, C., ALPERT, J. S., KATUS, H. & JAFFE, A. S. 2012b. How to use high-sensitivity cardiac troponins in acute cardiac care. *Eur Heart J*, 33, 2252-7.
- TSAKIRIS DA, B. E., HEILMBAUER I, ET AL. 2004. Inverse regulation of MMP-9 and MMP-2 in long-term follow-up after acute coronary syndrome: lack of correlation with platelet and endothelial cell activation markers. *Vascular Disease Prevention*, Volume 1, Number 2, , 149-157(9).
- VAN TELLINGEN, C. 2010. Chest pain and angina pectoris – or the ugly swan and the beautiful duckling. *Netherlands Heart Journal*, 18, 561-567.
- VANOVERSCHELDE, J.-L. J., WIJNS, W., BORGERS, M., HEYNDRIKX, G., DEPRÉ, C., FLAMENG, W. & MELIN, J. A. 1997. Chronic Myocardial Hibernation in Humans. *From Bedside to Bench*, 95, 1961-1971.
- VARGA-SZABO, D., PLEINES, I. & NIESWANDT, B. 2008. Cell adhesion mechanisms in platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 28, 403-12.
- VASKU, A., GOLDBERGOVA, M., HOLLA, L. I., SPINAROVA, L., SPINAR, J., VITOVEC, J. & VACHA, J. 2003. Two MMP-2 promoter polymorphisms (-790T/G and -735C/T) in chronic heart failure. *Clin Chem Lab Med*, 41, 1299-303.
- VINE, A. K. 2009. Recent advances in haemostasis and thrombosis. *Retina*, 29, 1-7.

- WANG, W., SCHULZE COSTAS, J., SUAREZ-PINZON WILMA, L., DYCK JASON, R. B., SAWICKI, G. & SCHULZ, R. 2002. Intracellular Action of Matrix Metalloproteinase-2 Accounts for Acute Myocardial Ischemia and Reperfusion Injury. *Circulation*, 106, 1543-1549.
- WARREN, J. 1812. Remarks on Angina Pectoris. *The New England Journal of Medicine, Surgery and Collateral Branches of Science*, 1, 1-11.
- WEKSLER, B. B., MARCUS, A. J. & JAFFE, E. A. 1977. Synthesis of prostaglandin I₂ (prostacyclin) by cultured human and bovine endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 74, 3922-6.
- WHITE, J. G. & CLAWSON, C. C. 1980. Overview article: biostructure of blood platelets. *Ultrastruct Pathol*, 1, 533-58.
- WILLIAMS, B., MANCIA, G., SPIERING, W., AGABITI ROSEI, E., AZIZI, M., BURNIER, M., CLEMENT, D. L., COCA, A., DE SIMONE, G., DOMINICZAK, A., KAHAN, T., MAHFOUD, F., REDON, J., RUILOPE, L., ZANCHETTI, A., KERINS, M., KJELDSSEN, S. E., KREUTZ, R., LAURENT, S., LIP, G. Y. H., MCMANUS, R., NARKIEWICZ, K., RUSCHITZKA, F., SCHMIEDER, R. E., SHLYAKHTO, E., TSIOUFIS, C., ABOYANS, V., DESORMAIS, I. & GROUP, E. S. C. S. D. 2018. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *European Heart Journal*, ehy339-ehy339.
- WOLBERG, A. S., ALEMAN, M. M., LEIDERMAN, K. & MACHLUS, K. R. 2012. Procoagulant activity in hemostasis and thrombosis: Virchow's triad revisited. *Anesthesia and analgesia*, 114, 275-285.
- WOLDHUIS, B., TANGELDER, G. J., SLAAF, D. W. & RENEMAN, R. S. 1992. Concentration profile of blood platelets differs in arterioles and venules. *Am J Physiol*, 262, H1217-23.
- WRIGHT, J. H. 1906;. The origin and nature of blood plates. . *Boston Med Surg Journal*, 154:643-5.
- WU, A. H., APPLE, F. S., GIBLER, W. B., JESSE, R. L., WARSHAW, M. M. & VALDES, R., JR. 1999. National Academy of Clinical Biochemistry Standards of Laboratory Practice: recommendations for the use of cardiac markers in coronary artery diseases. *Clin Chem*, 45, 1104-21.
- YE, S. 2006. Influence of matrix metalloproteinase genotype on cardiovascular disease susceptibility and outcome. *Cardiovascular Research*, 69, 636-645.
- YOSHIDA, Y. 2008. Historical review. The light and shadow of Paul Kaznelson: his life and contribution to hematology. *Ann Hematol*, 87, 877-9.
- ZUCKER, M. B., FRIEDMAN, B. K. & RAPPORT, M. M. 1954. Identification and quantitative determination of serotonin (5-hydroxytryptamine) in blood platelets. *Proc Soc Exp Biol Med*, 85, 282-5.

9 Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Arbeit wurde in der Universitätsklinik Tübingen Innere Medizin III – Kardiologie und Kreislauferkrankungen in enger Zusammenarbeit und Betreuung durch Prof. Dr. Tobias Geisler verfasst.

Die Konzeption erfolgte in Kooperation mit Herrn Prof. Dr. Meinrad Gawaz, Prof. Dr. Tobias Geisler und Dr. Dominik Rath.

Als Betreuer während der Erhebung und Anfertigung der Arbeit stand mir Dr. med. Dominik Rath zur Seite. Dabei war ich seit Juli 2016 als Doktorand Teil der AG Geisler und betreut mit der Erhebung, Analyse und statistischen Auswertung von Daten der vorliegenden Kohorte.

Die statistische Auswertung erfolgte unter Zuhilfenahme der Statistikberatung an der Universität Tübingen, im kollegialen Austausch mit weiteren Doktoranden der AG Geisler und in enger Zusammenarbeit mit Dr. med. Dominik Rath, Dr. med. Patrick Grogga-Bada und Stefan Winter. Erhebung und Erstellung der Basis Charakteristika, weiterführende Literaturrecherche, die graphische Darstellung, Auswertung und Interpretation erfolgten selbstständig.

Ich versichere, dass die vorliegende Inaugural-Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades selbstständig verfasst und keine abweichenden Quellen, außer die von mir angegebenen verwendet wurden.

10 Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurde bereits in folgender Publikation veröffentlicht:

P.Groga-Bada, F.Heller, N. Lente, L.Hack, E. Schaeffeler, S. Winter, K. Mueller, M. Droppa, F. Stimpfle, M. Schwab, M. Gawaz, T. Geisler, D.Rath: **P3641 Matrix Metalloproteinase-2 polymorphisms are associated with prognosis of patients with symptomatic coronary artery disease.** European Heart Journal, Vol. 40, Issue Supplement_1, October 2019, ehz745.0498, DOI: 10.1093/eurheartj/ehz745.0498

11 Danksagung

Mein Dank gilt vor allem Herr Prof. Dr. Meinrad Gawaz, Leiter der Abteilung Innere Medizin III – Kardiologie und Kreislauferkrankungen und Herr Prof. Dr. Tobias Geisler, die es mir ermöglichten meine Dissertation in der AG Geisler zu verfassen.

Zudem Dr. med. Dominik Rath und Dr. med. Patrick Grogga-Bada für ihre Zeit, Unterstützung und Hilfestellung während der Durchführung, ihrer kritischen Revision und Anregungen bei der Erstellung dieser Arbeit.

Darüber hinaus möchte ich mich bei den weiteren Doktoranden in der Kardiologie, für die kollegiale und partnerschaftliche Zusammenarbeit und Hilfestellung bei Problemen und bei der AG Geisler, speziell den Mitarbeitern im Studienzimmer für die herzliche und freundliche Atmosphäre, bedanken.

Besonderer Dank gilt ebenso Philip Hornemann, Michael Ecke und Daniel Klement für die kritische Revision der vorhandenen Arbeit und Julian Gimbler für die technische Hilfe bei Erstellung der Abbildungen.

Außerdem bei meinem Vater Wolfgang, meiner Mutter Karin und Familie, für die Unterstützung und stetige Ermutigung auch in Zeiten in denen die Motivation zu schwinden drohte.