

**Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen
Abteilung Innere Medizin III
Schwerpunkt: Kardiologie und Kreislauferkrankungen
Ärztlicher Direktor: Professor Dr. M. Gawaz**

**Bestimmung der Thrombozytenaktivierung
(SDF-1-Expression) mittels Durchflusszytometrie
in Notaufnahme-Patienten mit akuten
Thoraxschmerzen**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen**

**vorgelegt von
Christine Fink
aus
Stuttgart**

2011

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichtstatter: Professor Dr. A. May

2. Berichtstatter: Privatdozent Dr. C. Burgstahler

Meinen Eltern gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Koronare Herzkrankheit (KHK).....	6
1.2	Koronare Atherosklerose.....	6
1.2.1	Pathogenese der Atherosklerose.....	7
1.3	Das Prinzip der Hämostase und die Thrombozytenfunktion.....	8
1.4	Das akute Koronarsyndrom (ACS).....	11
1.5	Laborchemische Marker des akuten Koronarsyndroms.....	12
1.6	Chemokine.....	13
1.6.1	Aufbau und Funktion von SDF-1.....	15
2	Hintergrund und Zielsetzung dieser Arbeit	20
3	Material und Methodik	22
3.1	Patientenkollektiv und Einschlusskriterien.....	22
3.2	Verwendete Materialien und Reagenzien.....	24
3.2.1	Monoklonale Antikörper.....	24
3.2.2	Durchflusszytometrische Messtechnik und Datenauswertung....	25
3.3	Ablauf der Studie.....	28
3.3.1	Blutentnahme.....	28
3.3.2	Blutprobenaufbereitung.....	29
3.3.3	FACS-Analyse.....	29
3.4	Verwendete statistische Methoden.....	30
4	Ergebnisse	32
4.1	Charakteristika der Studienpopulation.....	32
4.2	Thrombozytäre SDF-1-Expression.....	35
4.3	Vorhersage des individuellen Risikos für ein akutes Koronar- syndrom mittels der SDF-1-Expression.....	37

4.4	Unabhängigkeit von SDF-1 zu konventionellen Infarktmarkern....	38
5	Diskussion.....	40
5.1	SDF-1-Expression bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom....	41
5.2	Bedeutung der thrombozytären SDF-1-Expression für die Diagnostik des akuten Koronarsyndroms.....	42
6	Zusammenfassung und Ausblick.....	45
7	Literaturverzeichnis.....	47
8	Danksagung.....	58
9	Lebenslauf.....	59

1 Einleitung

1.1 Koronare Herzkrankheit (KHK)

Die koronare Herzkrankheit (KHK) ist laut Definition die Manifestation der Atherosklerose in den Herzkranzarterien. Die dadurch entstehende fluss-limitierende Koronarstenose führt zur Koronarinsuffizienz (Missverhältnis zwischen Sauerstoffangebot und –bedarf des Herzmuskels) mit nachfolgender Myokardischämie. Von besonderer Bedeutung ist die rechte Koronararterie (RCA), der R. interventricularis anterior (RIVA) und R. circumflexus (RCX). Nach der Anzahl der stenosierten Hauptgefäße spricht man von einer koronaren 1-, 2- oder 3-Gefäßerkrankung.¹¹ Die Komplikationen der KHK wie Herzinfarkt, Herzinsuffizienz und Herzrhythmusstörungen sind die führenden Todesursachen in den westlichen Industrienationen. Ihnen erlag laut dem statistischen Bundesamt fast jeder zweite Gestorbene (43,4%) im Jahre 2007. Folglich ist die frühzeitige Diagnose, mit dem Ziel der Herabsetzung von Mortalität und Morbidität sowie der Verhinderung permanenter Folgeschäden dieser Erkrankung, von höchstem Interesse. Das pathophysiologische Korrelat der KHK ist die Koronarinsuffizienz. Die Ursache ist in mehr als 90% der Fälle eine Atherosklerose, die durch eine intraluminale Verengung der Koronarien zu einer Verminderung des Sauerstoffangebotes führt.⁷⁰

1.2 Koronare Atherosklerose

Bei der Atherosklerose handelt es sich um eine über Jahrzehnte ablaufende, entzündlich-fibroproliferative Reaktion auf eine initiale Endothelschädigung, deren Folgeerscheinung zu den häufigsten Ursachen für Morbidität und Mortalität in Europa gehören.^{54, 64} Zu den Hauptrisikofaktoren, die die Athero-

sklerose und daher auch die KHK begünstigen, zählen die arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Hyperlipoproteinämie und Nikotinabusus.⁵⁹ Des Weiteren fördern auch Faktoren wie Adipositas, Bewegungsmangel, andauernder Stress, Hyperfibrinogenämie und Hyperhomocysteinämie die Arteriosklerose.^{63, 10} Die klinisch tragenden pathogenetischen Prinzipien bei der Atherosklerose sind die durch eine fibröse Plaque ausgelöste Stenosierung des Gefäßes und eine durch Ruptur einer instabilen Plaque bedingte Thrombosierung des betroffenen Gefäßabschnittes, die häufig mit einer Infarzierung im Stromgebiet einhergeht.⁵ Je nach betroffener Gefäßregion äußert sich die Atherosklerose klinisch als: KHK, periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK), viszerale oder zerebrale Durchblutungsstörung.⁵⁶

1.2.1 Pathogenese der Atherosklerose

Die aktuell am besten fundierte Theorie für die Atheroskleroseentstehung, ist die „Response-to-Injury-Hypothese“. Man unterscheidet verschiedene Phasen der Pathogenese. Teilweise kann man schon bei Kindern und Jugendlichen eine intimale Cholesterineinlagerung finden. Diese wird durch eine lokale Störung der Endothelfunktion, etwa durch Strömungsturbulenzen im Bereich von Gefäßaufzweigungen, Infektionen (z.B. Herpes-Viren) oder Risikofaktoren verstärkt. Die endotheliale Dysfunktion kann zum gesteigerten aktiven Transport von LDL (Low Density Lipoprotein) in die Gefäßwand führen, wo durch Oxidation der Lipide und eine erhöhte Expression von Entzündungsmediatoren ein Entzündungsprozess ausgelöst wird.⁵⁹ Dadurch wandern monozytäre Zellen (Makrophagen) in die Intima ein, die die oxidierten LDL-Partikel phagozytieren, speichern und sich daraufhin in Schaumzellen (Foam Cells) differenzieren. Aufgrund der veränderten Adhäsionseigenschaften an der Endotheloberfläche und Sekretion von Chemokinen lagern sich weitere Leukozyten und Thrombozyten an und T-Lymphozyten werden aktiviert. Angeregt durch Wachstumsfaktoren aus Thrombozyten und Makrophagen

kommt es zu einer Migration und Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen, sowie zur vermehrten Produktion fibrotischen Gewebes (Intimaproliferation). Die früheste, makroskopisch sichtbare atherosklerotische Gefäßläsion, besteht aus lipidbeladenen Schaumzellen, die als „Fatty Streaks“ vorliegen. Jedoch führt diese noch zu keiner relevanten Gefäßstenosierung.^{36, 55} Die Progression der Läsion wird durch die chronische Einwirkung von Risikofaktoren, lokalen Zytokinen und Wachstumsfaktoren aus Monozyten gefördert. Durch weitere Zelleinwanderung und –teilung kommt es zu einem Umbau der extrazellulären Matrix. Aus den „Fatty Streaks“ entwickelt sich schließlich eine fibrös-fettige Intermediärläsion als nächstes Stadium der Gefäßverkalkung.²⁹ Im Laufe von Jahren bis Jahrzehnten entwickelt sich durch anhaltende Zelleinwanderung und Zellproliferation eine stabile, fibröse Plaque (Atherom).⁵² Diese bindegewebige Deckplatte enthält glatte Muskelzellen, Kollagen sowie einen Kern, der überwiegend Lipide, nekrotisches Material und Calcium beinhaltet. Diese organisierte Plaque kann den betroffenen Gefäßabschnitt teilweise obliterieren. Durch die ständige Einwanderung und Aktivierung von Monozyten, die matrixdegradierende Enzyme sezernieren, dünnt die fibröse Kappe im weiteren Verlauf aus, die stabile Plaque geht in eine instabile Form über und kann rupturieren oder ulzerieren.⁴³ Durch die Exposition von thrombogenem Plaqueinhalt ins Gefäßlumen wird über eine komplexe Signalkaskade die Gerinnung aktiviert, die in einer Gefäßthrombosierung resultieren kann.^{35, 68, 1}

1.3 Das Prinzip der Hämostase und die Thrombozytenfunktion

Unter dem Begriff Hämostase werden Prozesse zusammengefasst, die zur Bildung eines Gefäßwandthrombus und dadurch zum Stillstand einer Blutung führen. Bei einer Verletzung des Gefäßsystems ist die Wiederherstellung der Integrität der Gefäßwand durch eine rasche, auf die Läsion beschränkte und exakt regulierte Blutstillung eine essentielle Funktion um Blutverluste zu reduzieren. Dies geschieht im Zusammenspiel der Thrombozyten mit löslichen

Plasmabestandteilen und Komponenten des verletzten Gefäßendothels. Der stärkste Trigger für den Ablauf dieser Gerinnungskaskade ist eine Endothelverletzung und die damit verbundene Freilegung extrazellulärer Matrix.⁷⁴ Zu dieser Endothelschädigung kann es z.B. durch ein Trauma oder durch eine Plaqueruptur kommen. Die Hämostase kann in drei Schritte unterteilt werden: die primäre Hämostase, die sekundäre Hämostase und die Fibrinolyse. In der primären Hämostase kommt es durch die Verletzung der Gefäßwand zur Exposition von Matrixbestandteilen des Subendothels. Daraufhin findet eine Interaktion des kollagengebundenen von-Willebrand-Faktors mit dem membranständigen Adhäsionsrezeptor GPIIb-V-IX der zirkulierenden Thrombozyten statt, die in der reversiblen Adhäsion der Thrombozyten an die Gefäßwandläsion resultiert.⁵⁷ Dieser rasch ablaufende, reversible Kontakt der Plättchen entlang der geschädigten Gefäßwand bezeichnet man als Rolling.⁶¹ Durch das Rolling werden die Plättchen abgebremst und können daraufhin über Glykoprotein VI direkt und irreversibel an das freiliegende Kollagen des Subendothels gebunden werden.⁴⁴ Die primäre Adhäsion der Thrombozyten an freiliegendes Kollagen der Verletzungsstelle über GPVI führt über komplexe Zwischenschritte zu einer Formveränderung und Aktivierung der Thrombozyten mit darauffolgender Degranulation. Durch die Formveränderung kommt es zu einer Oberflächenzunahme durch Bildung von Pseudopodien und einer Spreizung der Plättchen über der Läsion, was eine effektive Abdichtung zur Folge hat. Die Adhäsion wird durch eine Vasokonstriktion im Verletzungsgebiet begünstigt, der ein verlangsamter Blutstrom folgt. Die Konstriktion wird durch Mediatoren wie Thromboxan A₂ und Serotonin hervorgerufen, die u.a. von aktivierten Plättchen sezerniert werden.²⁷ Darüber hinaus regt die Degranulation verschiedener Komponenten wie Adenosindiphosphat (ADP) auch die Aggregatbildung zwischen zirkulierenden und schon adhären Plättchen an. Dies geschieht unter der Einwirkung von Calciumionen und Fibrinogen durch den GPIIb-IIIa-Komplex, der sich auf der Thrombozytenoberfläche befindet und die Blutplättchen miteinander verbindet. Mit der Ausbildung eines provisorischen thrombozytenreichen Thrombus ist die primäre Hämostase beendet. Die sekundäre Hämostase dient dem dauerhaften

Verschluss der Läsion durch Konsolidierung des weißen Ausscheidungsthrombus hin zu einem Fibrinthrombus. Es können dabei drei Phasen unterschieden werden: die Aktivierungsphase, die Koagulationsphase und die Retraktionsphase. Außerdem lassen sich nach der Herkunft der beteiligten Phospholipoproteine zwei Systeme differenzieren, in dem sich die Faktoren in einem kaskadenartigen Ablauf jeweils gegenseitig aktivieren. Vom extrinsischen System der Gerinnung spricht man, wenn die Phospholipoproteine wie z.B. Gewebethromboplastin (Tissue Factor) aus verletzten Gefäß- und Bindegewebszellen stammen. Als intrinsische Gerinnung bezeichnet man den Prozess, in dem plasmatische Gerinnungsfaktoren beteiligt sind. Er stellt überwiegend die Reaktion an der Oberfläche aktivierter Thrombozyten dar, wo mittels Exponierung von Phosphatidylserin die Gerinnungskaskade eingeleitet wird. Gemeinsamer Endschritt der beiden Schenkel stellt die calciumabhängige Aktivierung der Faktoren X und V dar, die unter Anwesenheit von Phospholipiden den Prothrombin-Aktivator-Komplex bilden. Der Prothrombinasekomplex spaltet nun proteolytisch Thrombin vom inaktiven Proenzym Prothrombin ab (Aktivierungsphase). Thrombin wandelt daraufhin im Plasma zirkulierendes Fibrinogen in Fibrinmonomere um, die sich schließlich zu Polymeren zusammenlagern (Koagulationsphase). Diese bilden das stabile Fibrinfasernetzwerk des Thrombus in dem sich Blutzellen, wie z.B. Erythrozyten, einschließen. Anschließend kommt es zu einer weiteren mechanischen Verfestigung des Gerinnsels durch Retraktion, vermittelt durch aktomyosin-ähnliche Proteine (Thrombosthenin) der Thrombozyten, die sich unter ATP-Spaltung kontrahieren können (Retraktionsphase). So wird das primäre Plättchenaggregat irreversibel vernetzt und festigt sich zu einem fibrinreichen, roten Thrombus.^{57, 39} Den Blutgerinnungsvorgängen kann später eine Phase der Fibrinolyse folgen, in der sich das Gerinnsel auflöst.¹⁸ Findet die Thrombusbildung nach Plaqueruptur in einer Koronararterie statt, so ergibt sich klinisch das Bild des akuten Koronarsyndroms.

1.4 Das akute Koronarsyndrom (ACS)

Unter dem Überbegriff des akuten Koronarsyndroms (ACS) fasst man die unmittelbar lebensbedrohlichen Phasen der KHK zusammen. Klinisch können die instabile Angina pectoris, der akute Myokardinfarkt und der plötzliche Herztod unterschieden werden. Grundlage dieser Einteilung ist die gemeinsame Pathophysiologie mit Ruptur einer vulnerablen Plaque im Koronargefäß und darauffolgender Hämostase mit Teil- oder Kompletverschluss des Gefäßes. Die Übergänge dieser klinischen Formen sind fließend, deshalb werden Patienten anhand des EKGs in die Gruppen mit ST-Streckenhebung (STEMI) und ohne ST-Streckenhebung (NSTEMI / instabile Angina pectoris) unterteilt. Ohne eine solche ST-Streckenhebung kann erst nach ca. zwei Stunden, anhand der Labordiagnostik mit Bestimmung der biochemischen Marker des Blutes, zwischen Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt und instabiler Angina pectoris unterschieden werden. Leitsymptom des ACS ist der akute Thoraxschmerz, der allerdings nur geringe Spezifität aufweist, denn auch andere Erkrankungen können zu ähnlicher Symptomatik führen. Verdächtig für das Vorliegen eines ACS ist der Ruheschmerz, der länger als 20 Minuten andauert und sich nach Gabe von antiischämischen Medikamenten nicht bessert.¹⁹ Als Differentialdiagnose können andere kardiale Ursachen, wie z.B. eine Peri- oder Myokarditis und Rhythmusstörungen in Frage kommen, außerdem pulmonale Erkrankungen, wie z.B. eine Lungenarterienembolie oder ein Pneumothorax sowie Erkrankungen des Skeletts und des Gastrointestinaltraktes. Deshalb ist die ausführliche Anamnese mit Evaluierung der Risikofaktoren, die klinische Untersuchung, Labordiagnostik und 12-Kanal-EKG unabdingbar.⁴

1.5 Laborchemische Marker des akuten Koronarsyndroms

Für die rasche Sicherung der Diagnose, bei Verdacht auf ein ACS, ist die Bestimmung der biochemischen Marker des Blutes von entscheidender Bedeutung. Besonders wichtig dabei ist die Abgrenzung zwischen NSTEMI und anderen Ursachen die zu thorakalen Beschwerden führen können. In der klinischen Routine stehen in der akuten Phase Marker der Zellnekrose zur Verfügung, da die kardiale Ischämie die Zellmembran der Myozyten schädigt. Aus den Herzmuskelzellen werden Enzyme in das Blut abgegeben, die als Indikatoren der Schädigung dienen. Die Bestimmung des kardialen Troponins ist zur Zeit der Goldstandard in der Labordiagnostik bei Verdacht auf ein ACS. Dies gründet sich auf eine große Anzahl von Studien und wurde auch in den neuen Richtlinien der European Society of Cardiology und des American College of Cardiology bestätigt.^{45, 47, 30} Troponin ist ein Regulatorprotein, das in den dünnen Aktinfilamenten der quergestreiften Muskulatur vorkommt und an der Kontraktion beteiligt ist. Für die kardialen Isoformen von Troponin-I und -T (Tn-I, Tn-T), die etwa zwei Stunden nach Myokardschädigung ins Blut freigesetzt werden, wurden hochspezifische und hochsensitive Antikörpertests entwickelt. Da der Herzmuskel auch durch andere Erkrankungen, wie beispielsweise die Myokarditis, geschädigt werden kann, darf ein erhöhter Troponinwert keinesfalls automatisch mit einem ACS gleichgesetzt werden.³⁴ Außerdem findet sich eine falsch-positive Erhöhung von Tn-T und Tn-I nicht selten bei Patienten mit Niereninsuffizienz und der hypertensiven Entgleisung.^{19, 3} Die Kreatinkinase (CK) findet sich in der Skelett-, und Herzmuskulatur und ist etwa vier Stunden nach Ischämiebeginn im Blut nachweisbar. Da der Wert auch nach Skelettmuskelschädigung erhöht sein kann, muss das spezifische kardiale Isoenzym Kreatinkinase-MB (CK-MB) mitbestimmt werden. Beträgt der Anteil der CK-MB mehr als 6% der Gesamt-CK, dann spricht dies für eine kardiale Ursache.⁶² Ein weiterer, wenig spezifischer Parameter, ist das Myoglobin, das erstmals zwei bis vier Stunden nach Herzmuskelschädigung nachweisbar ist. Andere biochemische Marker der

Inflammation spielen in der Akutdiagnostik keine Rolle, jedoch aber bei der Entstehung und der Destabilisierung einer atherosklerotischen Plaque und sind außerdem wichtig für die langfristige Prognosebeurteilung. Eine Erhöhung verschiedener inflammatorischer Marker findet sich bei ca. 40% der Patienten mit ACS.⁵⁶ Im klinischen Alltag hat nur die Bestimmung des C-reaktiven Proteins (CRP), einem in der Leber gebildeten Akute-Phase-Protein, eine gewisse Bedeutung. Es steigt bei entzündlichen Erkrankungen an und geht mit einem erhöhten Langzeitrisiko für die Ausbildung eines ACS einher.⁵³ Auch zirkulierende CD-40-Liganden haben prognostische Aussagekraft. Sie sind neue Marker, die bei der Thrombozytenaktivierung freigesetzt werden.²⁰ Als neurohumoraler Marker, der die myokardiale Funktion reflektiert, korreliert BNP (brain natriuretic peptide) und NT-proBNP (N-terminales proBNP) mit der Letalität.²⁴ Ein Nachteil der etablierten Infarktmarker ist der verzögerte Anstieg im Serum nach stattgefundenem myokardialen Gewebsuntergang. Sinnvoller wäre es, schon die Thrombozytenaktivierung und –adhäsion nachweisen zu können.

1.6 Chemokine

Chemokine stellen eine der fünf Untergruppen der Zytokine dar, die eine regulierende Funktion für Wachstum und Differenzierung, sowie das Überleben von Körperzellen ausüben und auch „Zellbotenstoffe“ genannt werden. Die Bezeichnung „Chemokin“ setzt sich aus dem Wort „**Chemotaktisches Zytokin**“ zusammen. Chemokine sind kleine regulatorische Polypeptide (8-12 kDa), die strukturell und funktionell miteinander verwandt sind und eine chemotaktische Wirkung besitzen. Sie werden von einer Vielzahl unterschiedlicher Zelltypen freigesetzt.³⁷ Als Chemotaxis wird die zielgerichtete Wanderung der Zellen entlang eines Chemokingradienten bezeichnet. Die Chemokinrezeptoren gehören zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren mit 7 transmembranären Domänen. Zur Zeit sind über 50 humane Chemokine und 20

Chemokinrezeptoren bekannt und damit gehören sie zur größten Untergruppe der Zytokine. Traditionell wurden sie abhängig von der Anzahl und dem Abstand der ersten Cysteine in der Aminosäuresequenz in vier Familien (CXC, CC, C und CX3C) eingeteilt. Nun wird jeder Ligand und sein zugehöriger Rezeptor entsprechend einer neuen Nomenklatur durch die Zugehörigkeit zu einer Unterfamilie identifiziert und mit einer Nummer versehen.⁷⁸ Des Weiteren existiert auch eine funktionelle Unterteilung, die inflammatorische und homöostatische Chemokine differenziert. Homöostatische Chemokine wie CXCR4 (SDF-1) oder CXCR5 (BLC) werden kontinuierlich ausgeschüttet. Im Vergleich dazu werden inflammatorische Chemokine, beispielsweise CXCR1 (Interleukin 8) passager, im Falle einer Gewebsentzündung sezerniert um Leukozyten anzulocken.⁸

Tabelle 1: Die Familie der CXC-Chemokine³¹

Ligand	Bezeichnung (alte Nomenklatur)	Rezeptor
CXCL1	GRO α , GRO1, NAP-3, KC	CXCR2
CXCL2	GRO β , GRO2, MIP-2a	CXCR2
CXCL3	GRO γ , GRO3, MIP-2 β	CXCR2
CXCL4	PF4	unbekannt
CXCL5	ENA-78	CXCR2
CXCL6	GCP-2	CXCR2
CXCL7	LDGF-PBP, NAP-2, PEP, CTAPIII	CXCR2
CXCL8	IL-8, NAP-1, GCP-1, MDNCF	CXCR1
CXCL9	MIG, CRG-10	CXCR3
CXCL10	IP-10, CRG-2	CXCR3
CXCL11	I-TAC, IP-9	CXCR3
CXCL12	SDF-1 α/β , PBSF	CXCR4
CXCL13	BLC/BCA-1	CXCR5
CXCL14	BRAK, Bolekin	unbekannt
CXCL15	Lungkin, WECHÉ	unbekannt
CXCL16	BUNZO/STRC33, SRPSOX	CXCR6
CXCL17	DMC, VCC-1	unbekannt

1.6.1 Aufbau und Funktion von SDF-1 (CXCL12)

Stromal cell derived Factor-1 (SDF-1), das nach neuer Nomenklatur auch als CXCL12 bezeichnet wird, zählt aufgrund des Cys(30)-Pro(31)-Cys(32) Motivs zur CXC-Chemokin-Familie. Da die Aminosäuresequenz von SDF-1 stark konserviert ist, wird es spezienübergreifend gefunden. So besteht beispielsweise eine 99%ige Homologie zwischen Mensch und Maus.⁶⁶ Es ist als effektiver chemotaktischer Faktor für eine Vielzahl von Zelltypen bekannt, die den G-Protein-gebundenen Rezeptor CXCR4 enthalten, z.B. CD34-positive Progenitorzellen und ausgereifte Blutzellen (Lymphozyten und Monozyten).² Erstmals konnte SDF-1 im Jahre 1993 aus einer Maus-Knochenmarkszelllinie isoliert werden.⁷¹ Ein Jahr später gelang es Nagasawa et al. SDF-1 im menschlichen Knochenmark nachzuweisen.⁴² Im Gegensatz zu proinflammatorischen Zytokinen wird SDF-1 konstitutiv in vielen Organen produziert, z. B. Knochenmark, Milz, Herz, Leber, und Nieren und spielt eine zentrale Rolle in der Homöostase von Organen, in der Retention von Stamm- und Progenitorzellen im Knochenmark und ganz allgemein in Entwicklungsprozessen.

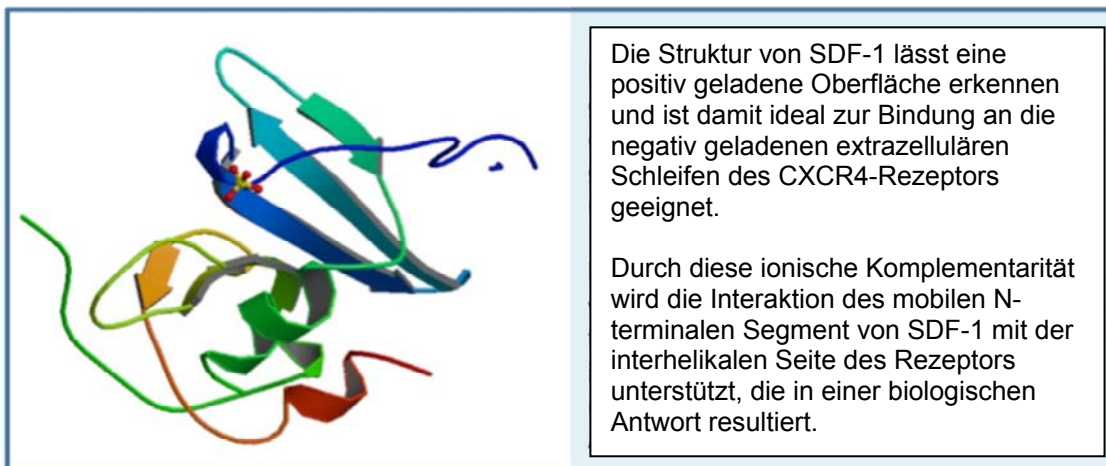


Abbildung 1: Struktur des Chemokins SDF-1 (modifiziert nach Dealwis et al.¹⁴)

Im nachfolgenden Abschnitt soll nochmals explizit auf die vielfältige Relevanz von SDF-1 in unterschiedlichen Bereichen eingegangen werden.

Die Bedeutung von SDF-1 in der Angiogenese: Für Patienten, die sich von einem akuten thromboembolischen Ereignis erholen, ist die Angiogenese überaus wichtig. Im ischämisch geschädigten Gewebe kommt es durch die Einsprossung von Kapillaren aus dem Randbereich der Nekrose zur Entwicklung neuer Gefäße. Wie in verschiedenen Tiermodellen nachgewiesen wurde, spielen in diesem Prozess die endothelialen Progenitorzellen eine herausragende Rolle. Diese werden als Antwort auf bestimmte Zytokine und/oder aufgrund einer Gewebsischämie aus dem Knochenmark ausgesandt um die Integrität der Gefäße wiederherzustellen.⁶⁹ Progenitorzellen sind in der Lage sich zu Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Makrophagen zu differenzieren.^{75, 60} Man konnte nach einer künstlich ausgelösten Extremitätenischämie am lebenden Tier eine Mobilisierung der endothelialen Vorläuferzellen aus dem Knochenmark feststellen. Diese zirkulierenden Stammzellen wandern zum Ort der Gefäßneubildung, um sich dort anzusiedeln und zu proliferieren.^{69, 6} Auch bei einer Studie, die bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt durchgeführt wurde, zeigte sich eine erhöhte Mobilisation endothelialer Vorläuferzellen direkt nach dem ischämischen Ereignis. So konnte man im Blut dieser Patienten ein Konzentrationsanstieg der CD34+-Zellen beobachten.⁶⁵ Das Zytokin, welches die Mobilisation der endothelialen Progenitorzellen steuert, ist SDF-1.⁴⁸ Die Sezernierung wird über den Hypoxie-induzierten-Faktor-1 (HIF-1) der ischämischen Endothelzellen vermittelt.¹² Wenn die Sauerstoffversorgung des Gewebes wieder normal ist, geht auch die Ausschüttung von SDF-1 zurück. Des Weiteren muss die äußerst wichtige Rolle der Thrombozyten beim vaskulären Remodeling hervorgehoben werden. So wird SDF-1 bei einem ischämischen Ereignis auch von aktivierten Thrombozyten sezerniert, welches die Migration und die primäre Adhäsion von Progenitorzellen an den arteriellen Thrombus begünstigt.³⁸ In der von Kaminski et al. veröffentlichten Studie, „Bedeutung von stromal cell derived factor-1 (SDF-1) für das „homing“ von Stammzellen“ waren zu diesem Thema weitere interessante Daten zu finden. So wurde bei Mäusen der R. interventrikularis anterior durch eine Ligatur

verschlossen, um einen künstlichen Myokardinfarkt herbeizuführen. 24 Stunden nach Infarkt wurde die kardiale Expression von SDF-1 mittels RT-PCR analysiert. SDF-1 mRNA war 24 Stunden nach akutem Myokardinfarkt um das 7-fache hochreguliert.²⁵

Stammzellchemotaxis: Darüber hinaus kommt dem Chemokin SDF-1 eine wichtige Rolle beim Homing von transplantierten hämatopoetischen Stammzellen zu, da es der entscheidende chemotaktische Regulator der menschlichen Stammzellchemotaxis ist. Es ist bekannt, dass CD34-positive Zellen den Rezeptor CXCR4 exprimieren, während sein Ligand SDF-1 die Zellmigration der CD34+-Zellen induziert.⁴⁰ Dabei beschränkt sich die chemotaktische Empfindlichkeit der Stammzellen auf SDF-1.⁷⁷ Infolgedessen lässt sich schließen, dass SDF-1 einer der Schlüsselregulatoren der hämatopoetischen Stammzellmigration zwischen Knochenmark und Peripherie darstellt.⁵¹ Die Eigenschaft, sich im Empfänger Knochenmark anzusiedeln und dort durch Proliferation und Differenzierung zur Blutbildung beizutragen, wird als Homing bezeichnet.⁷³ Studien über die Chemotaxis von Stammzellen haben gezeigt, dass CXCR4 der einzig relevante Chemokinrezeptor auf hämatopoetischen Stammzellen ist. Über das von Knochenmarkstromazellen sezernierte SDF-1 werden die sich im peripheren Blut befindenden Stammzellen ins Kapillarsystem des Knochenmarks gelockt. Dem Chemokingradienten folgend, gelangen die Zellen in die Knochenmarksnischen und sind in dieser Umgebung zur Proliferation und Differenzierung fähig.⁴⁹ Die Knochenmarkstromazellen produzieren konstitutiv SDF-1 und schaffen Zellenischen, um Retention, Wachstum und Differenzierung der Stammzellen zu ermöglichen.^{16,}
¹⁷ Über die SDF-1/CXCR4-Achse wird die Proliferation und Differenzierung der CD34+-Zellen gefördert und die Apoptose gehemmt und damit stellt SDF-1 ein Überlebensfaktor für die Stammzellen dar.^{32, 33}

Myelo- und Lymphopoese: Ebenso belegen Studien die zentrale Rolle von SDF-1 bei der Hämatopoese und Immunmodulation.⁵⁰ Das von Stromazellen sezernierte SDF-1 wirkt stimulierend auf die Proliferation von B- und myeloischen Vorläuferzellen im Knochenmark. Ein verfrühtes Ausschwemmen dieser Zellen, aus dem protegierend wirkenden Knochenmarkmilieu in das

periphere Blut, wird durch die Retention der unreifen hämatopoetischen Zellen verhindert. Knockout-Mäuse, bei denen das SDF-1-Gen ausgeschaltet war, zeigten schwere Defekte ihrer Myelo- und Lymphopoese und hatten als Folge multiple Defekte, die unter anderem zum Absterben des Embryos geführt haben.^{79, 41}

Entwicklung des zentralen Nervensystems: Des Weiteren induziert SDF-1 die Migration von mikroglialen Zellen und Astrozyten im Gehirn sowie die durch CXCR4 vermittelte Apoptose in humanen neuronalen Zelllinien in vitro.^{21, 26} Die apoptotische Elimination von fehlerhaft migrierten Zellen könnte während der Entwicklung des zentralen Nervensystems zum korrekten Aufbau des Gewebes beitragen.

Tumorstadium und Metastasierung: Außerdem ist SDF-1 in bestimmte Mechanismen involviert, die mit malignen Umbauprozessen, z.B. der Proliferation und Migration von Zellen sowie der Angiogenese, assoziiert werden. So werden durch die SDF-1/CXCR4-Achse beispielsweise die Proliferation und Migration von Gliomzellen aufrecht erhalten und damit die maligne Progression gefördert.⁹ Zudem fördert SDF-1 das Wachstum von kolorektalen Metastasen durch die Beschleunigung der Angiogenese, Induktion der Tumorzellproliferation und Inhibition der Apoptose.²⁸

HIV-Progression: Des Weiteren konnte eine Assoziation zwischen einer genetischen Veränderung des Chemokins SDF-1 und der Ausprägung der HIV-Infektion festgestellt werden. Neben dem CD4-Rezeptor kann das HI-Virus auch CXCR4 auf der Zellmembran zur Infizierung von T-Zellen nutzen. In späten Phasen der HIV-Infektion werden die Zellen des Immunsystems sogar vorwiegend über CXCR4 vom HI-Virus infiziert. Das körpereigene SDF-1 kann aber auch an diesen Rezeptor binden und ihn somit blockieren. Der Genpolymorphismus SDF-1-3'A ist in der Bevölkerung zu 20% prävalent und bei HIV-Infizierten „slow progressors“ erhöht. Er ist bei erwachsenen AIDS-Betroffenen möglicherweise für eine unterschiedliche Progression verantwortlich, wobei der protektive Effekt der SDF-1-Mutation besonders in homozygoten Individuen zum Tragen kommt, die schon lange mit HIV-1 infiziert sind.^{67, 23, 76}

Atherogenese: Zudem kann man vermuten, dass SDF-1 direkt bei der Atherogenese beteiligt ist. Bei HIV-infizierten Patienten mit dem SDF-1-3'A-Genpolymorphismus war eine subklinische Atherosklerose seltener zu finden, was durch die Sonographie der Karotiden ermittelt werden konnte.¹³ Zusammengefasst lässt sich sagen, dass die SDF-1/CXCR4 Achse an zahlreichen pathophysiologischen Mechanismen beteiligt ist (siehe Abbildung 2).

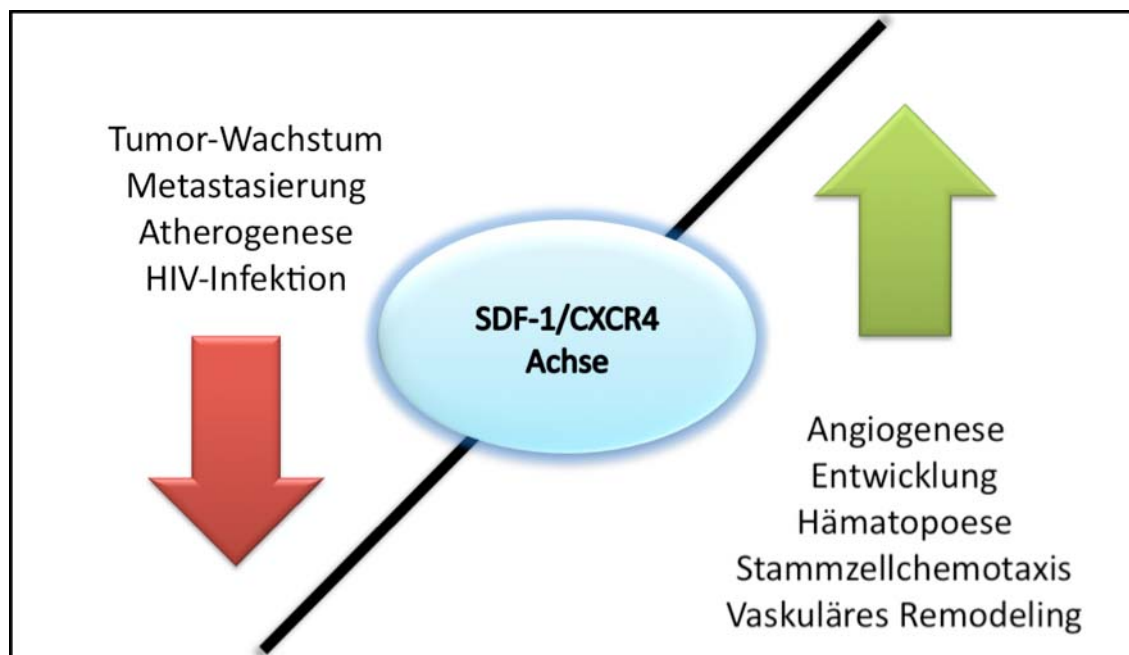


Abbildung 2:

Der Einfluss der SDF-1/CXCR4-Achse auf zahlreiche Mechanismen

Die KHK wird in mehr als 90% der Fälle durch eine Atherosklerose in den Herzkranzarterien verursacht und resultiert letztendlich in der Insuffizienz der Koronarien mit nachfolgender Myokardischämie. Die Folgeerscheinungen dieser Erkrankung gehören zu den häufigsten Ursachen für Morbidität und Mortalität in Europa.⁶⁴ Im Jahre 2007 erlag laut dem statistischen Bundesamt beinahe jeder zweite Gestorbene an den Folgen kardiovaskulärer Erkrankungen, wie beispielsweise dem Myokardinfarkt. Demzufolge ist die frühe Diagnose des akuten Koronarsyndroms, mit dem Ziel der Reduzierung der Mortalität und Morbidität, sowie der Vermeidung permanenter Folgeschäden von immenser Bedeutung. Allerdings kann zur Zeit, bei einem EKG ohne eindeutige ST-Streckenhebung, erst nach ca. zwei Stunden anhand der Troponinbestimmung sicher ein ACS diagnostiziert werden. Nachteil der etablierten Labordiagnostik ist also die späte Erhöhung der Infarktmarker im Serum des Patienten, bei schon fortgeschrittenem myokardialen Gewebsuntergang.^{19, 58} Bei der Entstehung des ACS verkörpern die Thrombozyten die zentrale Schlüsselfigur, da eine gesteigerte systemische Plättchenaktivierung maßgeblich zur Pathophysiologie beiträgt. Der kontinuierlich repetierende Kontakt der Thrombozyten mit der Läsion führt zu einer systemischen Plättchenaktivierung.⁴⁶ Diese Aktivierung der Thrombozyten findet somit vor der ischämischen Myozytenschädigung durch die Gefäßstenose statt. Dementsprechend wäre es von Vorteil, schon die drohende Myokardischämie aufgrund der Thrombozytenaktivierung zu diagnostizieren, um weitere Gewebeschäden zu verhindern. Bei einem ischämischen Ereignis wird SDF-1 von aktivierten Thrombozyten exprimiert, welches die Migration und die primäre Adhäsion von Progenitorzellen an den arteriellen Thrombus begünstigt.³⁸ Dieses Erkenntnis konnte durch eine Studie mit Mäusen bestätigt werden. Dabei konnte eine gesteigerte Expression von SDF-1 direkt nach Myokardinfarkt und eine abfallende Sezernierung binnen 7 Tagen festgestellt werden.⁷ Auch bei der von Kaminski et al. veröffentlichten Studie, war bei Mäusen, bei denen

künstlich ein Myokardinfarkt ausgelöst wurde, SDF-1-mRNA 24 Stunden nach Infarkt um das 7-fache hochreguliert.²⁵ Infolge dieser Erkenntnisse wäre es möglich, dass die vermehrte SDF-1 Expression frühzeitig auf ein thromboembolisches Ereignis hinweisen könnte. Die Entdeckung eines Markers, der zu einem früheren Zeitpunkt im Blut nachgewiesen werden kann, wäre von ungemeiner Bedeutung für eine baldmögliche Therapieeinleitung, um die einsetzende Myokardnekrose zu verhindern oder zumindest aufzuhalten. Unsere Studie evaluiert daher die Expression des Chemokins SDF-1 von aktivierten Thrombozyten bei einer großen Anzahl von Patienten, die sich mit akuten Thoraxschmerzen in der internistischen Notaufnahme vorstellten.

3 Material und Methodik

Mit Hilfe monoklonaler Antikörper wurde die Expression des Chemokins SDF-1 der aktivierten Thrombozyten mittels Zweifarben-Vollblut-Durchflusszytometrie festgestellt. Jede Messung wurde zweifach durchgeführt und als Maß der SDF-1-Expression die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) verwendet.

3.1 Patientenkollektiv und Einschlusskriterien

Die konsekutiv in die Studie aufgenommene Population umfasst 1004 Patienten. Diese evaluierten Patienten stellten sich in der internistischen Notaufnahme des Universitätsklinikum Tübingen mit akuten Thoraxschmerzen vor. Aus dem Patientenkollektiv konnte in 64,6% der Fälle eine koronare Ursache der Thoraxschmerzen mittels Herzkatheterisierung verifiziert werden. Bei diesen Patienten, mit symptomatischer koronarer Herzerkrankung, die sich einer Koronarangiographie unterzogen, zeigte sich bei 23,3% (n=233) eine stabile Angina pectoris (SAP) und in 41,4% (n=416) der Fälle ein akutes Koronarsyndrom (ACS). In 35,4% (n= 355) der Fälle wurde eine nicht-koronare Ursache diagnostiziert. Bei diesen Patienten mit Thoraxbeschwerden, die nicht auf der Erkrankung der Koronarien beruhten, litten 1,3% (n=13) an einer Pneumonie und bei 1,8% (n=18) wurde computertomographisch eine Lungenarterienembolie (LAE) diagnostiziert. Des Weiteren fand man bei 29 Patienten (2,9%) eine hypertensive Entgleisung, bei 17 Patienten (1,7%) Vorhofflimmern, bei 7 Patienten (0,7%) eine Angstneurose, bei 5 Patienten (0,5%) eine Myokarditis und bei 9 Patienten (0,9%) orthopädische Ursachen als Erklärung für die Thoraxbeschwerden. Für jeden Patienten wurde das Geschlecht, Alter, Prämedikation und kardiovaskuläre Risikofaktoren erfasst. Des Weiteren wurde bei allen Patienten die thrombozytäre SDF-1-Expression mittels Durchflusszytometrie bestimmt.

Die Einteilung der Patienten mit symptomatischer koronarer Herzerkrankung erfolgte nach folgenden, anerkannten Definitionen:¹⁹

Stabile Angina pectoris (SAP):

Belastungsabhängige Symptome konstanter Intensität ohne Progression. Körperliche Ruhe und/oder die Gabe von Nitropräparaten, wie beispielsweise sublinguales Nitrat führt innerhalb von Minuten zu einer Besserung der Symptome.

Akutes Koronarsyndrom (ACS):

Belastungsunabhängige oder wiederkehrende Episoden von Angina pectoris von mehr als 20 Minuten Dauer, die in der Intensität zunehmen. Die Angina kann sich de novo, aus völligem Wohlbefinden entwickeln oder sich als eine Akzeleration einer bisher stabilen Symptomatik präsentieren.

Das 12-Kanal-Elektrokardiogramm (EKG) nimmt eine zentrale Stellung bei der Diagnosestellung ein und wird nach folgenden Kriterien beurteilt:¹⁹

- Eine erstmalig aufgetretene ST-Streckensenkung von $> 0,1$ mV in zwei oder mehr Ableitungen hat den höchsten diagnostischen Stellenwert.
- Eine transiente (< 20 Minuten) ST-Streckenhebung von mindestens $0,1$ mV findet sich selten.
- Eine T-Wellen-Inversion $> 0,1$ mV in Ableitungen mit hoher R-Zacke ist wenig spezifisch.

3.2 Verwendete Materialien und Reagenzien

Für die Untersuchung der thrombozytären SDF-1-Expression wurden die nachfolgenden Materialien verwendet:

- S-Monovette® (5ml, gelb, Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin (CPDA) 1ml, Firma Sarstedt, Nümbrecht)
- Phosphatpuffersaline (PBS), (Firma Invitrogen, Karlsruhe)
- Cups (2,5ml, weiß, Firma Eppendorf, Hamburg)
- FACS-Röhrchen (5ml, Firma BD Biosciences Discovery Labware, MA, Bedford, USA)
- Monoklonale Antikörper: CD42b-PE, Anti-SDF-AK (siehe 3.2.1)
- 0,5 % Paraformaldehyd (PFA), (Firma Merck, Darmstadt)
- Einkanal-Pipetten „Eppendorf Reference“ mit variabler Volumeneinstellung (Firma Eppendorf, Hamburg)
- Pipettenspitzen (Firma Ratiolab, Dreieich-Buchsschlag)
- Zentrifuge „Megafuge 1.0R“ (Firma Heraeus Sepatech, Hanau)
- Durchflusszytometer “FACS-Calibur” (Firma Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA)

3.2.1 Monoklonale Antikörper

Zur Markierung der Thrombozyten wurde CD42b als Konjugat mit Phycoerythrin (CD42b-PE) verwendet. Der monoklonale Antikörper gegen CD42b bindet an das Glykoprotein GPIb-V-IX und ist ein Thrombozytenmarker (Klon SZ2) der Firma Immunotech, Beckman Coulter, Inc., USA. Zur Bestimmung der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) des Chemokins SDF-1 wurde ein monoklonaler SDF-1-Antikörper verwendet. Zur Anwendung kam der Klon 79014 der Firma R&D Systems, Minneapolis, MN, USA.

3.2.2 Durchflusszytometrische Messtechnik und Datenauswertung

Neben dem Begriff „fluoreszenzaktivierte Zellanalyse“ (engl.: fluorescence activated cell sorting = FACS), der ein registriertes Markenzeichen der Firma Becton-Dickinson ist, wird auch das Synonym „Durchflusszytometrie“ verwendet. Damit wird ein Verfahren zur Differenzierung und quantitativen Bestimmung von Zellen anhand der Größe, Oberflächenbeschaffenheit und Zellinhalt bezeichnet. Zusätzlich kann das Durchflusszytometer, das ein optisches Messgerät darstellt, eine Vielzahl von Merkmalen auf den Blutzellen mit Hilfe eines Fluoreszenzsignals untersuchen. Zellen sind in der Lage Licht in verschiedene Richtungen zu streuen. Bei der Durchflusszytometrie durchqueren, die sich in einer Suspension befindenden Zellen, im Sensormodul des Gerätes einen Laserstrahl, der monochromatisch kohärentes Licht liefert. Während der Laser von den Blutzellen im rechten Winkel passiert wird, wird Streulicht emittiert. Wichtig dabei sind laminare Strömungsverhältnisse und das singuläre Durchtreten der Zellen. Die Anordnung der Blutzellen in Reih und Glied wird durch die Anwendung von zwei unterschiedlichen Flüssigkeitsströmen gewährleistet. Der Probenstrom, der die Zellen beinhaltet und der Hüllstrom treffen in der Messzelle aufeinander. Beide werden durch eine Kapillare gesaugt und aufgrund des höheren Druckes des äußeren Hüllstromes wird der innen verlaufende Probenstrom zu einem dünnen Faden ausgezogen, in dem sich die Zellen daraufhin hintereinander reihen und Streulicht emittieren. Gemessen wird die Emission der optischen Signale mittels Detektoren (Photomultiplier) an 2 Stellen:

- Das Vorwärtsstreulicht (FSC = Foward Scatter):
wird auch als Engwinkelstreulicht bezeichnet und ist das, fast in flachem Winkel zum ursprünglichen Laserstrahl, gestreute Licht. Dieses ist abhängig von der Zellgröße, d. h. Zellen mit kleinem Volumen verursachen ein kleines und große Zellen ein großes Vorwärtsstreulicht.

- Das Seitwärtsstreulicht (SSC = Sidewards Scatter):

ist das Maß für die Brechung im 90° Winkel zum ursprünglichen Strahl und wird in erster Linie durch die Granularität der Zelle aber auch durch die Größe und Struktur des Zellkerns sowie der Menge der Zellvesikel beeinflusst.

Um die Resultate der Streulichtmessung anschaulich darzustellen, werden die Zellen in einem sogenannten zweidimensionalen Dot-Plot-Diagramm dargestellt, wobei jeder Punkt einer gemessenen Zelle entspricht. Dabei wird in der Regel auf der Abszisse das Vorwärts- und auf der Ordinate das Seitwärtsstreulicht aufgetragen. Dabei werden Anhäufungen von Zellen erkennbar, die ähnliche Streulichteigenschaften haben (siehe Abbildung 3).

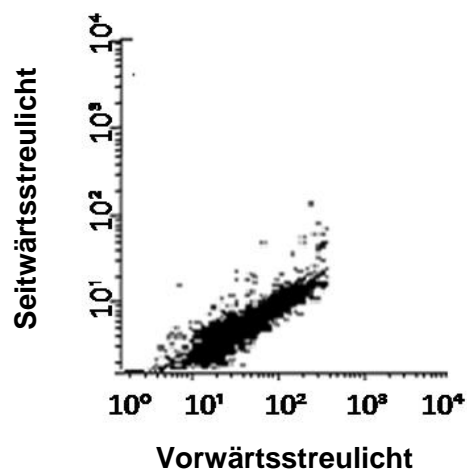


Abbildung 3: Dot-Plot-Diagramm einer FACS-Analyse mit Fokus auf die Thrombozyten

Unabhängig davon, lässt sich im Durchflusszytometer die Fluoreszenzmessung durchführen. Diese basiert auf der Grundlage der Antigen-Antikörper-Reaktion bestimmter Oberflächenstrukturen der Zelle, mit Fluoreszenzfarbstoff-markierten monoklonalen Antikörpern, die vom Gerät erkannt werden können. Mittlerweile gibt es eine große Auswahl an Fluoreszenzkonjugaten zur

Antikörpermarkierung. Die drei gängigsten Fluoreszenzfarbstoffe sind Fluoresceinisothiozyanat (FITC), Phycoerythrin (PE), ein gelbrot fluoreszierendes Molekül, mit einem Emissionsmaximum von etwa 578nm und Peridin Chlorophyll (PerCP). Eine gleichzeitige FACS-Messung mit verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen ist möglich, wenn die Marker eine identische Anregungswellenlänge aber unterschiedliche charakteristische Emissionsspektren aufweisen. Bei exakter Stimulation auf der Anregungswellenlinie der Farbstoffe durch den Laser, wandern die Elektronen auf ein höheres Energieniveau. Nach der Passage des Lasers fallen die Elektronen wieder auf ihr altes Niveau herab und geben dabei Energie in Form von Photonen ab. Die Emission dieser Photonen wird durch einen Photodetektor registriert und verhält sich dabei proportional zur gebundenen Antikörpermenge pro Zelle. Aufgrund der geringen Lichtmenge werden Photomultiplierrohren, zur Umwandlung der Photonen in elektrische Ströme benötigt. Diese werden letztlich in digitale Signale umgewandelt, die vom Computer verarbeitet werden können. Das Ergebnis kann auf verschiedene Weise dargestellt werden. Eine Möglichkeit ist das eindimensionale Histogramm. Dabei handelt es sich um eine einfache Häufigkeitsverteilung, bei der die Stärke eines Fluoreszenzsignals gegen die Anzahl der Ereignisse entweder lineal oder logarithmisch aufgetragen wird (siehe Abbildung 4).

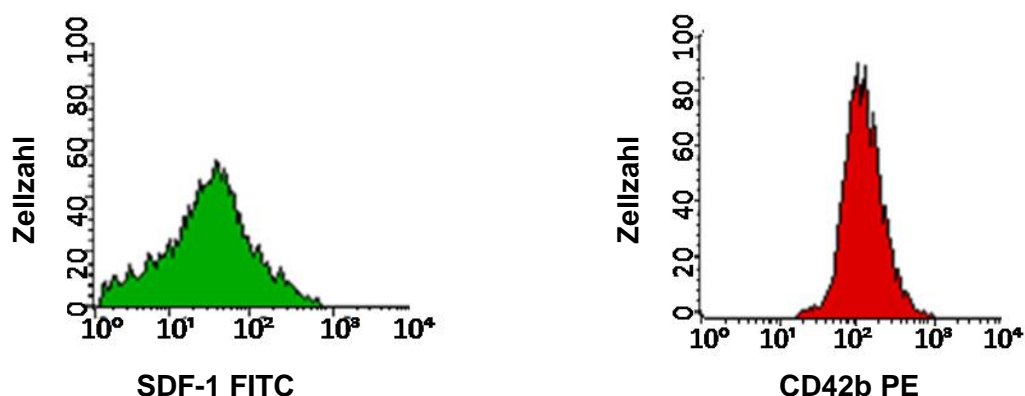


Abbildung 4: Histogramm einer FACS-Messung mit anti-SDF-1-Antikörper und anti-CD42b-PE mit logarithmischer Auftragung

Bei der Mehrfarbanalyse, bei der zwei oder mehr Fluoreszenzfarbstoffe gleichzeitig verwendet werden, ist eine Auftrennung in Fluoreszenzspektren notwendig. Dieser Vorgang wird als Kompensation bezeichnet. Möchte man detailliertere Analysen durchführen, so kommt das Gaten (Schleusen) zur Anwendung. Ein Software-Fenster wird in einer frei wählbaren Region im Streulichtdiagramm um eine bestimmte Zellwolke gelegt. Daraufhin schleust das Computerprogramm nur die Zellen dieser Region in den Fluoreszenz-Dot-Plot. Die Vorteile der FACS-Messung, im Vergleich zu anderen Methoden wie der Fluoreszenzmikroskopie, liegen auf der Hand. Im Durchflusszytometer können bis zu 10 000 Zellen pro Sekunde typisiert werden und die eigentliche Messung dauert nur wenige Minuten. Des Weiteren können auch geringe Schwankungen der Fluoreszenzintensität erfasst werden und die gleichzeitige Erfassung verschiedenster Parameter einer jeden Zelle ist möglich.^{22, 15}

3.3 Ablauf der Studie

3.3.1 Blutentnahme

Dem Patientenkollektiv der Studie wurde bei Einlieferung in die internistische Notaufnahme durch Venenpunktion der Vena cubitalis venöses Blut abgenommen und in eine CPDA-Monovette (5ml) abgefüllt. Die Blutprobe wurde daraufhin innerhalb eines Zeitraums von weniger als 3 Stunden nach gültigem Assay pipettiert. Anschließend wurde die Probe binnen der darauffolgenden 48 Stunden mittels Zweifarben-Vollblut-Durchflusszytometrie untersucht.

3.3.2 Blutprobenaufbereitung

Die gewonnenen venösen Blutproben wurden umgehend (<3h) nach dem folgenden Pipettierassay für die Auswertung mittels Durchflusszytometrie aufbereitet. Jede Messung erfolgte zweifach.

- Als Erstes wurde das CPDA-Blut im Verhältnis 1:50 mit Phosphatpuffer-saline (PBS) in einem Cup verdünnt.
- Anschließend wurden je 35µl dieser Suspension auf zwei FACS-Röhrchen verteilt und weitere 5µl PBS hinzugefügt.
- Daraufhin wurde in diese zwei Behälter 5µl des Anti-SDF-1-Antikörpers hinzugegeben.
- Darauffolgend wurde in jedes FACS-Röhrchen 5µl des PE-markierten CD42b-Antikörpers als Thrombozytenmarker hinzugefügt. Das ergibt zwei Proben von jeweils 50µl, die mit Anti-SDF-1-Antikörper versetzt sind.
- Im Anschluss daran wurden die Proben für 25 Minuten im Dunkelraum bei Raumtemperatur inkubiert.
- Nach Ablauf der Inkubationszeit wurden die Proben mit jeweils 300µl 0,5% Paraformaldehyd konserviert.
- Zum Schluss wurden die Proben im Kühlschrank (+4°C) in Dunkelheit bis zur FACS-Messung aufbewahrt, die spätestens 48 Stunden nach der Probenentnahme erfolgte.

3.3.3 FACS-Analyse

Nach spätestens 48 Stunden erfolgte die Probenanalyse mittels Durchflusszytometrie. Hierzu kam das Gerät „FACS Calibur“ der Firma Becton-Dickinson, USA, zur Anwendung.

Die FACS-Messung wurde mit folgender Instrumenteneinstellung durchgeführt:

- P1: FSC (Vorwärtsstreulicht) E.00 log
- P2: SSC (Seitwärtsstreulicht) 266 log
- P3: FL1 (Anti-SDF-1-Antikörper) 512 log
- P4: FL2 (CD42b-PE) 422 log

Die Kompensation betrug für FL1→ 1,1 und für FL2→1,0.

Es wurden 300 Ereignisse pro Sekunde gemessen und Gesamtereignisse auf 10 000 begrenzt. Die „Mittlere Fluoreszenzintensität“ (MFI) diente dabei als Maß für die Rezeptordichte.

3.4 Verwendete statistische Methoden

Die für statistisch signifikante Aussagen notwendige Probenanzahl wurde nach etablierten Methoden ermittelt. Für die paarweise Gegenüberstellung des ACS mit der stabilen Angina pectoris, der Lungenarterienembolie, der Pneumonie sowie anderer Ursachen wurde der Kruskal-Wallis-Test angewendet. Dieses Verfahren, das auch als H-Test bezeichnet wird, basiert auf Rangplatzsummen und gehört zum Gebiet der verteilungsfreien Statistik. Bei nicht-parametrischen Tests wird die Modellstruktur aus den Daten bestimmt, d.h. die Art und Anzahl der Parameter ist flexibel. Der Test nach Kruskal und Wallis ist eine parameterfreie Methode zum Vergleich der Mittelwerte mehrerer Stichproben/Gruppen und vergleicht statt der Original-Messwerte die Rangwerte der Daten. Entscheidend ist folglich die Rangplatzsumme jeder Gruppe. Für die Korrektur des multiplen Testproblems wurden die Ergebnisse einer Bonferroni-Holm-Korrektur unterzogen, wobei eine Adjustierung des globalen α -Niveaus durch die Verteilung zu gleichen Teilen auf die Einzeltests erfolgt. Ein Wahrscheinlichkeitswert von $p \leq 0,05$ galt als statistisch signifikant. Des Weiteren wurde mittels einer ROC (Receiver Operating Characteristic)-Kurve

ein Cut-Off-Wert bestimmt um das individuelle Risiko für ein ACS mit Hilfe des SDF-1-Wertes vorherzusagen. Um eventuelle Einflussfaktoren zu identifizieren, die mit einer erhöhten SDF-1-Expression zusammen hängen könnten, wurde eine multifaktorielle Kovarianzanalyse durchgeführt. Dazu wurde der dekadische Logarithmus der SDF-1-Werte zwischen ACS und SAP mit der Prämedikation, den kardiovaskulären Risikofaktoren sowie den etablierten Laborparametern verglichen. Die Vorhersagewahrscheinlichkeit von SDF-1 für ein akutes Koronarsyndrom, im Vergleich zu etablierten, bei Aufnahme ins Krankenhaus abgenommene Infarktmarker (Kreatinkinase, C-reaktives Protein, Troponin), wurde mit einer logistischen Regressionsanalyse ermittelt. Alle statistischen Analysen erfolgten mit dem Computerprogramm *SPSS, for Windows Version 15.0*.

4 Ergebnisse

4.1 Charakteristika der Studienpopulation

Die thrombozytäre Oberflächenexpression des Chemokins SDF-1 (Stromal cell derived Factor-1) wurde konsekutiv in einer Gruppe von 1004 Patienten mit akuten thorakalen Beschwerden untersucht, die sich in der internistischen Notaufnahme vorstellten. Aus dem Patientenkollektiv konnte bei 649 Patienten (64,6%) eine koronare Ursache mittels Koronarangiographie diagnostiziert werden. Bei 355 Patienten (35,4%) der Studienpopulation war die Ursache nicht auf die Erkrankung der Koronarien zurückzuführen. Bei Patienten mit symptomatischer koronarer Erkrankung wurde mittels Herzkatheterisierung bei 416 Patienten (41,4%) ein akutes Koronarsyndrom (ACS) und bei 233 Patienten (23,3%) eine stabile Angina pectoris (SAP) diagnostiziert. Bei den insgesamt 355 nicht-koronaren Fällen wurde in 1,3% der Fälle eine Pneumonie diagnostiziert und bei 1,8% der Patienten konnte computertomographisch eine Lungenarterienembolie (LAE) nachgewiesen werden (siehe Abbildung 5). Außerdem stellte man bei 2,9% (n=29) der Patienten eine hypertensive Entgleisung, bei 0,7% (n=7) Patienten eine Angstneurose und bei 1,7% (n=17) Vorhofflimmern fest. Des Weiteren konnte als Ursache der Thoraxbeschwerden bei 0,5% (n=5) der Patienten eine Myokarditis und bei 0,9% (n=9) eine orthopädische Genese festgestellt werden. Bei Aufnahme in die Studie wurde das Alter, Geschlecht und Medikation bei Aufnahme sowie Entlassung erfasst. Des Weiteren wurden die kardiovaskulären Risikofaktoren, wie Hypertonie, Hyperlipoproteinämie, Diabetes, eine positive Familienanamnese sowie Nikotinabusus protokolliert (siehe Tabelle 2).

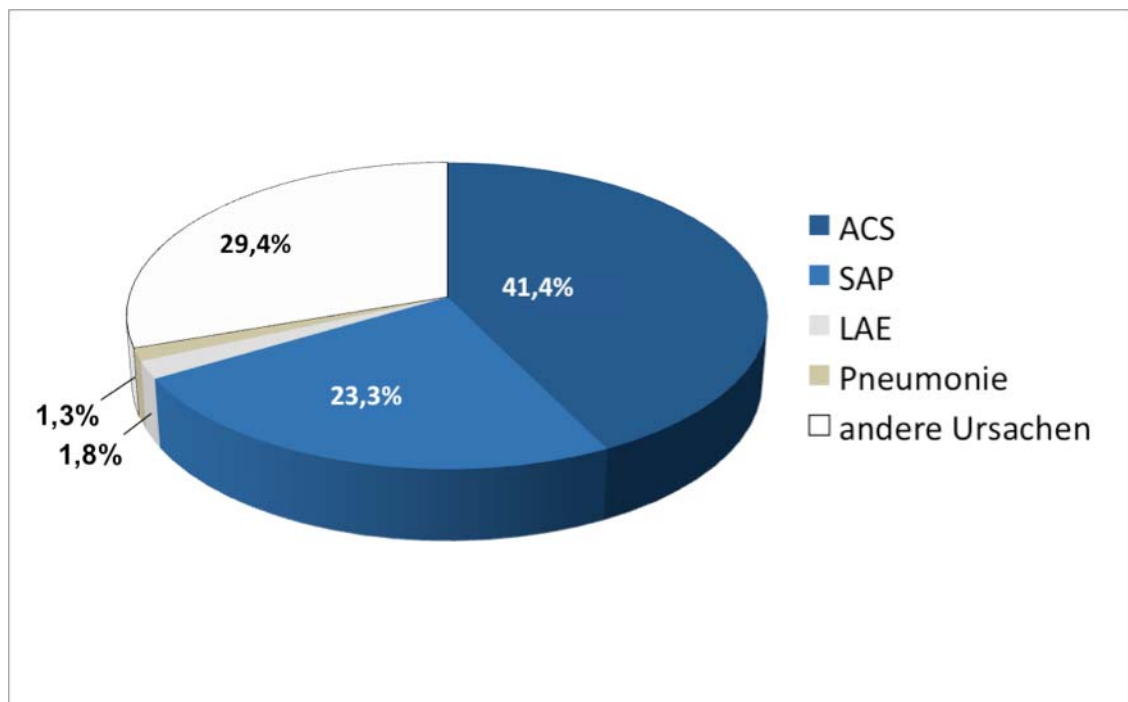


Abbildung 5: Prozentuale Verteilung der Ursachen, die für die thorakalen Schmerzen verantwortlich waren

Mehrheitlich konnten die Thoraxbeschwerden durch koronare Ursachen erklärt werden. Bei 41,4% (n=416) der Patienten zeigte sich ein akutes Koronarsyndrom (ACS) und bei 23,3% (n=233) eine stabile Angina pectoris (SAP). In 1,3% (n=13) der Fälle litten die Patienten an einer Pneumonie und bei 1,8% (n=18) wurde computertomographisch eine Lungenarterienembolie (LAE) diagnostiziert.

Tabelle 2: Charakteristik der Studienpopulation

	Gesamt (n=1004)	SAP (n=233)	ACS (n=416)	Nicht-koronar (n=355)
<u>Alter in Jahren</u>	65,6±14,6	69,4±11,5	67,7±13	60,8±16,7
<u>Geschlecht</u>				
männlich	673 (67%)	160 (68,7%)	314 (75,5%)	199 (56,0%)
weiblich	331 (33,0%)	73 (31,3%)	102 (24,5%)	156 (44,0%)
<u>Kardiovaskuläre Risikofaktoren</u>				
Hypertonie	766 (76,3%)	207 (88,8%)	352 (84,8%)	207 (58,3%)
Hyperlipoproteinämie	543 (54,1%)	164 (70,4%)	252 (60,6%)	127 (35,8%)
Diabetes mellitus	274 (27,3%)	83 (35,6%)	113 (27,2%)	78 (22,0%)
Positive Familienanamnese	167 (16,6%)	51 (21,9%)	71 (17,1%)	45 (12,7%)
Nikotinabusus	345 (34,4%)	90 (38,6%)	181 (43,5%)	74 (20,8%)
<u>Medikation bei Entlassung</u>				
ACE-Hemmer	649 (64,6%)	165 (70,8%)	327 (78,6%)	157 (44,2%)
AT1-Antagonist	98 (9,7%)	27 (11,6%)	40 (9,6%)	31 (8,7%)
Beta-Blocker	741 (73,8%)	195 (83,7%)	363 (87,3%)	183 (51,5%)
Statine	666 (66,3%)	170 (72,9%)	339 (81,4%)	157 (44,2%)
Aspirin	734 (73,1%)	202 (86,7%)	366 (87,9%)	166 (46,7%)
Clopidogrel	423 (42,1%)	66 (28,3%)	344 (82,7%)	13 (3,6%)
Vitamin-K-Antagonist	113 (11,3%)	41 (17,6%)	34 (8,2%)	38 (10,7%)

4.2 Thrombozytäre SDF-1-Expression

In dieser Studie wurde die thrombozytäre SDF-1-Expression von insgesamt 1004 Patienten untersucht, welche konsekutiv zu jeder Tages- und Nachtzeit in die Studie aufgenommen wurden. Diese evaluierten Patienten stellten sich in der internistischen Notaufnahme des Universitätsklinikum Tübingen mit akuten Thoraxschmerzen vor. Aus diesem Kollektiv konnte bei 649 Patienten eine koronare Ursache mittels Koronarangiographie diagnostiziert werden. Diese Patienten wurden anhand von bestehenden Definitionen in die Gruppe des akuten Koronarsyndroms (ACS) und der Gruppe der stabilen Angina pectoris (SAP) eingeteilt. Mit Hilfe monoklonaler Antikörper wurde die Expression des Chemokins SDF-1 (Stromal cell derived Factor-1) der aktivierten Thrombozyten mittels Zweifarben-Vollblut-Durchflusszytometrie festgestellt. Jede Messung wurde zweifach durchgeführt und als Maß der SDF-1-Expression die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) verwendet. Für die paarweise Gegenüberstellung von ACS mit SAP, Lungenarterienembolie (LAE), Pneumonie sowie anderer Ursachen wurde der Kruskal-Wallis-Test angewendet. Wie in Abbildung 6 zu sehen ist, ist die thrombozytäre Expression von SDF-1 bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom im Vergleich zu Patienten mit stabiler Angina pectoris, Lungenarterienembolie, Pneumonie sowie anderer Ursachen signifikant erhöht (ACS [Mittlere Fluoreszenzintensität, MFI \pm Standardabweichung, SD] $39,7 \pm 26,3$; SAP $37,6 \pm 31,5$; $p=0,043$; ACS vs. LAE $26,6 \pm 19,1$; $p=0,003$; ACS vs. Pneumonie $26,2 \pm 17,5$; $p=0,001$; ACS vs. andere Ursachen $36,2 \pm 30,7$; $p=0,002$). (siehe Abbildung 6).

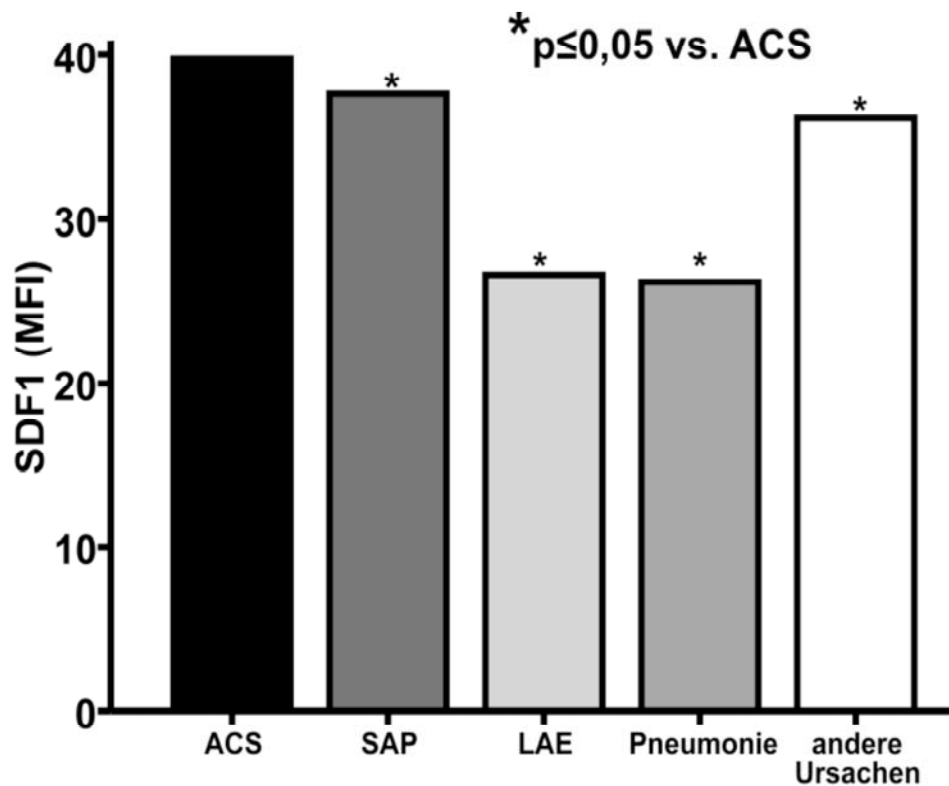


Abbildung 6: Expression des Chemokins SDF-1 (Stromal cell derived Factor-1) bei Patienten mit thorakalen Beschwerden unterschiedlicher Ursache

Die thrombozytäre SDF-1-Expression von Patienten mit akutem Koronarsyndrom (ACS) ist im Vergleich zu der SDF-1-Expression bei stabiler Angina pectoris (SAP), Lungenarterienembolie (LAE), Pneumonie sowie anderer Ursachen signifikant erhöht. Die durchflusszytometrischen Ergebnisse sind auf der Ordinate als mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) dargestellt.

4.3 Vorhersage des individuellen Risikos für ein akutes Koronarsyndrom mittels der SDF-1-Expression

Um das individuelle relative Risiko für ein akutes Koronarsyndrom mit Hilfe des SDF-1-Wertes vorherzusagen, wurde mittels einer Receiver Operating Characteristic (ROC) - Kurve ein Cut-Off-Wert bestimmt. Dieser beträgt 27,7. Patienten, bei denen ein SDF-1-Wert von $\geq 27,7$ gemessen wurde, hatten ein 1,3-fach erhöhtes relatives Risiko für ein akutes Koronarsyndrom als Patienten, die unter diesem Wert lagen. (Odds Ratio: 1,5 [95% Konfidenzintervall: 1,14-1,88]; Relatives Risiko: 1,3 [95% Konfidenzintervall: 1,07-1,42]) (siehe Abbildung 7).

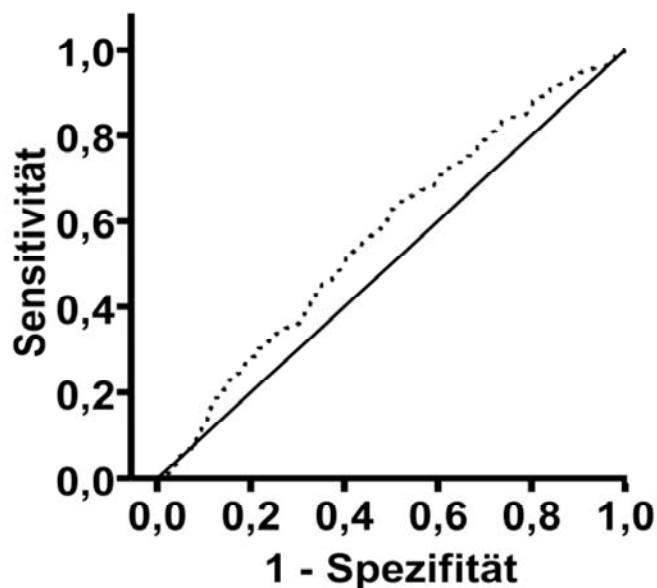


Abbildung 7: Receiver Operating Characteristic (ROC) - Kurve

Patients, bei denen ein SDF-1-Wert von $\geq 27,7$ gemessen wurde, hatten ein 1,3-fach erhöhtes relatives Risiko für ein akutes Koronarsyndrom im Vergleich zu Patienten, die unter diesem Cut-Off-Wert lagen. (Odds Ratio: 1,5 [95% Konfidenzintervall: 1,14-1,88]; Relatives Risiko: 1,3 [95% Konfidenzintervall: 1,07-1,42])

4.4 Unabhängigkeit von SDF-1 zu konventionellen Infarktmarkern

Es wurde ein Vergleich des dekadischen Logarithmus von SDF-1 (Stromal cell derived Factor-1) zwischen ACS und SAP mit möglichen Einflussfaktoren durchgeführt um eventuelle störende Einflüsse auf die Höhe der SDF-1-Expression zu identifizieren. Hierfür wurde die multifaktorielle Kovarianzanalyse unter Einbeziehung der Prämedikation, der kardiovaskulären Risikofaktoren sowie der konventionellen Laborparameter angewendet (siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Multifaktorielle Kovarianzanalyse für den Logarithmus von SDF-1

Kategorie	Faktor	p-Wert
Alter		0,255
Geschlecht		0,554
Medikation	ACE-Hemmer	0,270
	Angiotensin-Rezeptor-Blocker	0,351
	Beta-Blocker	0,242
	Statine	0,083
	Aspirin	0,584
	Clopidogrel	0,492
	Vitamin-K-Antagonist	0,638
Kardiovaskuläre Risikofaktoren	Arterielle Hypertonie	0,298
	Hyperlipidämie	0,774
	Diabetes mellitus	0,097
	Positive Familienanamnese in Bezug auf eine KHK	0,425
	Nikotinabusus	0,445
	Vorhofflimmern	0,880
Konventionelle Laborparameter	Initiales Troponin-I (ng/ml)	0,657
	Initiale Kreatinkinase (U/l)	0,240
	Initiale CK-MB (U/l)	0,781
	Initiales C-reaktives Protein (mg/dl)	0,871
Gruppen	ACS vs. SAP	0,475

Die folgende Methode zeigt die Vorhersagewahrscheinlichkeit für ein ACS durch SDF-1 (Stromal cell derived Factor-1) im Vergleich zur Vorhersagewahrscheinlichkeit durch konventionelle, bei Aufnahme abgenommene Infarktmarker an. Zu diesem Zweck wurden die Parameter Troponin, Kreatinkinase, C-reaktives Protein sowie SDF-1 einer logistischen Regressionsanalyse unterzogen (siehe Tabelle 4).

Tabelle 4: Logistische Regressionsanalyse

Parameter	p-Wert	Odds Ratio	95% KI für OR	
			Untere Grenze	Obere Grenze
SDF-1 (MFI)	0,871	1,001	0,994	1,007
Troponin (ng/ml)	0,037	1,019	1,001	1,037
Kreatinkinase (U/l)	0,373	1,000	1,000	1,001
CK-MB (U/l)	0,736	0,928	0,603	1,430
CRP (mg/dl)	0,127	1,038	0,989	1,090

OR: Odds Ratio; KI: Konfidenzintervall; MFI: Mittlere Fluoreszenzintensität

Stromal cell derived Factor-1 (SDF-1) zählt zur CXC-Chemokin-Familie und ist als effektiver chemotaktischer Faktor für eine Vielzahl von Zelltypen bekannt, die den G-Protein-gebundenen Rezeptor CXCR4 enthalten. Bei ischämischen Ereignissen, wie dem akuten Koronarsyndrom, wird über den Hypoxie-induzierten-Faktor-1 (HIF-1) der ischämischen Endothelzellen und über die aktivierten Thrombozyten die Sezernierung von SDF-1 induziert.¹² Als Folge der SDF-1-Sekretion werden endotheliale Progenitorzellen aus dem Knochenmark zum Herzen mobilisiert. Diese zirkulierenden Stammzellen wandern zum Ort der Ischämie in den Koronarien um sich dort an den Thrombus anzulagern und zu proliferieren.^{69, 6, 38} Dort sind Progenitorzellen in der Lage sich zu Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Makrophagen zu differenzieren.^{75, 60} Neuere Studien beschreiben, dass die kardiale Expression von SDF-1 beim ACS um das Vielfache hochreguliert ist.⁷ Die Aktivierung der Thrombozyten findet jedoch schon vor der ischämischen Myozytenschädigung durch die Gefäßstenose statt. Dementsprechend wäre es von Vorteil, schon die drohende Myokardischämie aufgrund der Thrombozytenaktivierung zu prognostizieren, um weitere Gewebeschäden zu verhindern. Etablierte Marker, wie das Troponin, steigen erst verzögert nach ca. 2 Stunden bei schon stattgefundenem myokardialen Gewebeuntergang an. Sinnvoller wäre es, schon die Thrombozytenaktivierung und –adhäsion nachweisen zu können. Deshalb wäre die Entdeckung eines Markers, der zu einem früheren Zeitpunkt im Blut nachgewiesen werden kann, von ungemeiner Bedeutung für eine baldmögliche Therapieeinleitung, um die einsetzende Myokardnekrose zu verhindern oder zumindest aufzuhalten. In dieser Studie wird daher die Expression von SDF-1 bei einer großen Anzahl von Patienten evaluiert, um die Möglichkeit von SDF-1 als möglichen frühen Infarktmarker zu hinterfragen.

5.1 SDF-1-Expression bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom

In dieser Studie wurde die thrombozytäre SDF-1-Expression von insgesamt 1004 Patienten untersucht, welche konsekutiv zu jeder Tages- und Nachtzeit in die Studie aufgenommen wurden. Diese evaluierten Patienten, stellten sich in der internistischen Notaufnahme des Universitätsklinikum Tübingen mit akuten Thoraxschmerzen vor. Mit Hilfe monoklonaler Antikörper wurde die Expression des Chemokins SDF-1 (Stromal cell derived Factor-1), der aktivierten Thrombozyten, mittels Zweifarben-Vollblut-Durchflusszytometrie festgestellt. In diesem Fall diente die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) als Maß der Expression. Ein wichtiges Ergebnis dieser Studie, ist die im Vergleich signifikant erhöhte SDF-1-Expression bei Patienten, die an einem ACS litten. Verglichen wurde sie mit der thrombozytären Expression von SDF-1 bei Patienten, bei denen andere Erkrankungen diagnostiziert wurden. Bei der paarweisen Gegenüberstellung sind die Werte beim ACS im Vergleich zur stabilen Angina pectoris, der Lungenarterienembolie, der Pneumonie sowie anderer Ursachen signifikant erhöht. Die signifikante SDF-1-Erhöhung beim akuten Koronarsyndrom ist außerordentlich interessant, denn zur Zeit kann ein ACS, mit einem EKG ohne eindeutige ST-Streckenhebung (NSTEMI), erst nach ca. zwei Stunden anhand der Troponinbestimmung sicher diagnostiziert werden. Mit der Entdeckung eines frühen Infarktmarkers könnte einerseits, bei unsicherer Befundlage, eine eventuell unnötige, sowie kostspielige Krankenhausaufnahme verhindert werden. Andererseits könnte dem Patienten eine belastende, invasive Behandlungsmaßnahme erspart bleiben, denn ca. 25% der Patienten mit Verdacht auf ein akutes Koronarsyndrom haben einen normalen koronarangiographischen Befund oder nur geringgradige Wandveränderungen.

5.2 Bedeutung der thrombozytären SDF-1-Expression für die Diagnostik des akuten Koronarsyndroms

Die koronare Herzkrankheit wird in mehr als 90% der Fälle durch eine Atherosklerose in den Herzkranzarterien verursacht und resultiert letztendlich in der Insuffizienz der Koronarien mit nachfolgender Myokardischämie. Die Folgerscheinung dieser Erkrankung gehört zu den häufigsten Ursachen für Morbidität und Mortalität in Europa.⁶⁴ Im Jahre 2007 erlag laut dem statistischen Bundesamt beinahe jeder zweite Gestorbene an den Folgen kardiovaskulärer Erkrankungen, wie beispielsweise dem Myokardinfarkt. Demzufolge ist die frühe Diagnose des ACS, mit dem Ziel der Reduzierung der Mortalität und Vermeidung permanenter Folgeschäden, von immenser Bedeutung. Unter dem Begriff „akutes Koronarsyndrom“ werden die Phasen der koronaren Herzerkrankung zusammengefasst, die unmittelbar lebensbedrohlich sind. Dies sind die instabile Angina pectoris, der Myokardinfarkt und der plötzliche Herztod. Für die rasche Sicherung der Diagnose ist die ausführliche Anamnese, die klinische Untersuchung, die Labordiagnostik sowie ein 12-Kanal-EKG unabdingbar. Allerdings kann zur Zeit bei einem EKG ohne eindeutige ST-Streckenhebung (NSTEMI) erst nach ca. zwei Stunden anhand der Troponinbestimmung ein ACS diagnostiziert werden. Nachteil der etablierten Labordiagnostik ist also die späte Erhöhung der Infarktmarker im Serum des Patienten bei schon fortgeschrittenem myokardialen Gewebeeruntergang.^{19, 58} Bei einem ischämischen Ereignis, wird SDF-1 (Stromal cell derived Factor-1) von aktivierten Thrombozyten exprimiert, welches die Migration und die primäre Adhäsion von Progenitorzellen an den arteriellen Thrombus begünstigt.³⁸ Diese Erkenntnis konnte durch eine Studie mit Mäusen, die von Askari et al. durchgeführt wurde, bestätigt werden. Dabei konnte eine gesteigerte Expression von SDF-1 direkt nach Myokardinfarkt und eine abfallende Sezernierung binnen 7 Tagen festgestellt werden.⁷ Auch bei der von Kaminski et al. veröffentlichten Studie, war bei Mäusen, bei denen künstlich ein Myokardinfarkt ausgelöst wurde, SDF-1-mRNA 24 Stunden nach

Infarkt um das 7-fache hochreguliert.²⁵ Infolge dieser Erkenntnisse wäre es möglich, dass die vermehrte SDF-1 Expression frühzeitig auf ein thromboembolisches Ereignis hinweisen könnte. Diese Möglichkeit wurde vielfach in vitro und in Tiermodellen erforscht, jedoch ist die Bedeutung von SDF-1 im Menschen und besonders bei Patienten, die an einem akuten Koronarsyndrom leiden, bis jetzt wenig beschrieben. Diese Studie evaluiert nun die Rolle von SDF-1 in vivo bei 1004 Patienten. Um eventuelle Einflussfaktoren zu identifizieren, die mit einer erhöhten SDF-1-Expression zusammen hängen könnten, wurde eine multifaktorielle Kovarianzanalyse durchgeführt. Dazu wurde der dekadische Logarithmus der SDF-1-Werte zwischen ACS und SAP, unter Einbeziehung der Prämedikation, den kardiovaskulären Risikofaktoren sowie den etablierten Laborparametern verglichen. Hierbei zeigte sich, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von SDF-1 unabhängig von Medikation, Risikofaktoren sowie Laborparametern ist. Die Vorhersagewahrscheinlichkeit von SDF-1 für ein ACS, im Vergleich zu etablierten Infarktmarkern, wurde mittels einer logistischen Regressionsanalyse ermittelt. Als Laborparameter wurden die bei Aufnahme ins Krankenhaus gemessenen Werte für Troponin, Kreatinkinase, C-reaktives Protein sowie SDF-1 herangezogen. Dabei zeigte sich, dass von allen untersuchten Markern Troponin die höchste Vorhersagekraft für ein akutes Koronarsyndrom hat. In diesem Fall bleibt also Troponin als Infarktmarker im Bezug auf die Prädiktion überlegen. Des Weiteren wurde die Möglichkeit der Vorhersage des individuellen relativen Risikos für ein akutes Koronarsyndrom mittels der SDF-1-Expression evaluiert. Zu diesem Zweck wurde mittels einer ROC-Kurve (Receiver Operating Characteristic – Kurve) ein sogenannter Cut-Off-Wert bestimmt. Dieser Wert beträgt 27,7. Dies bedeutet, dass Patienten, bei denen ein SDF-1-Wert von $\geq 27,7$ gemessen wurde, ein 1,3-fach höheres relatives Risiko für ein ACS hatten, als Patienten mit niedrigeren SDF-1-Werten. Mit dieser Studie konnte nachgewiesen werden, dass bei Patienten, die sich mit einer thorakalen Beschwerdesymptomatik in der Notaufnahme vorstellen, ein akutes Koronarsyndrom von anderen Ursachen, wie der stabilen Angina pectoris, aufgrund der SDF-1-Expression abgegrenzt werden kann. Durch diese frühzeitige Möglichkeit, ein ACS von anderen

Ursachen zu differenzieren, kann eine notwendige koronarinvasive Diagnostik und angemessene Therapie rechtzeitig eingeleitet und damit der Untergang des myokardialen Gewebes aufgehalten werden. Bei ca. 20% aller Patienten mit ACS ist das EKG nicht richtungsweisend, so dass bei noch nicht erhöhten myokardialen Nekrosemarkern wertvolle Zeit vergeht.⁷² Damit ist auch die klinische Prognose dieser Patienten erheblich reduziert, verglichen mit Patienten, die sich mit einem ST-Hebungsinfarkt vorstellen. Mit dieser Studie konnte gezeigt werden, dass SDF-1 (Stromal cell derived Factor-1) zukünftig als prädiktiver Marker dienen könnte. Daher wäre es wünschenswert, in weiteren Studien SDF-1 als prognostischen Faktor zu untersuchen.

Stromal cell derived Factor-1 (SDF-1) ist als effektiver chemotaktischer Faktor für endotheliale Progenitorzellen bekannt, der bei ischämischen Ereignissen, wie dem akuten Koronarsyndrom, von aktivierten Thrombozyten sezerniert wird. Die SDF-1-Expression ist schon vor der ischämischen Myozytenschädigung durch die Gefäßstenose um das Vielfache hochreguliert und könnte deshalb als frühzeitiger Infarktmarker dienen. In dieser Studie wurde die thrombozytäre SDF-1-Expression bei 1004 Patienten gemessen, die sich mit einer thorakalen Beschwerdesymptomatik in der Notaufnahme vorstellten. Mit Hilfe monoklonaler Antikörper wurde die Expression des Chemokins SDF-1 auf Thrombozyten mittels Zweifarben-Vollblut-Durchflusszytometrie festgestellt, wobei die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) als Maß der Expression diente. Ein wichtiges Ergebnis dieser Studie ist die signifikant erhöhte SDF-1-Expression bei Patienten die an einem akuten Koronarsyndrom (ACS) litten. Verglichen wurde sie mit der thrombozytären Expression von SDF-1 bei Patienten, bei denen andere Erkrankungen, wie die stabile Angina pectoris, eine Lungenarterienembolie oder eine Pneumonie als Ursache der thorakalen Beschwerden diagnostiziert wurden. Bei der multifaktoriellen Kovarianzanalyse zeigte sich, dass die thrombozytäre SDF-1-Expression unabhängig von der Prämedikation, den kardiovaskulären Risikofaktoren sowie den etablierten Laborparametern ist. Bei der Ermittlung der Vorhersagewahrscheinlichkeit von SDF-1 für ein ACS, im Vergleich zu etablierten Infarktmarkern mittels der logistischen Regressionsanalyse zeigte sich, dass Troponin als Infarktmarker im Bezug auf die Prädiktion allerdings überlegen ist. Des Weiteren wurde mit einer ROC-Kurve (Receiver Operating Characteristic-Kurve) die Möglichkeit der Vorhersage des individuellen relativen Risikos für ein ACS mittels der SDF-1-Expression evaluiert. Patienten, bei denen ein SDF-1-Wert von $\geq 27,7$ (Cut-Off-Wert) gemessen wurde, hatten ein 1,3-fach erhöhtes relatives Risiko für ein akutes Koronarsyndrom im Vergleich zu Patienten mit niedrigeren SDF-1-Werten. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass die Bestimmung

der thrombozytären SDF-1-Expression zur frühzeitigen Diagnose des ACS bei Patienten mit Thoraxschmerzen in der Notaufnahme hilfreich sein könnte, bevor eine ausgeprägte ischämische Myozytenschädigung entsteht.

- 1) Abbott, R. D., Wilson, P. W., Kannel, W. B., Castelli, W. P. (1988)
High density lipoprotein cholesterol, total cholesterol screening and myocardial infarction. The Framingham Study
Arteriosclerosis 8: 207-211
- 2) Aiuti, A., Webb, I. J., Bleul, C., Springer, T., Gutierrez-Ramos, J. C. (1997)
The chemokine SDF-1 is a chemoattractant for human CD34+ hematopoietic progenitor cells and provides a new mechanism to explain the mobilization of CD34+ progenitors to peripheral blood
J Exp Med 185: 111-120
- 3) Al Suwaidi, J., Reddan, D. N., Williams, K., Pieper, K. S., Harrington, R. A., Califf, R. M., Granger, C. B., Ohman, E. M., Holmes, D. R., Jr. (2002)
Prognostic implications of abnormalities in renal function in patients with acute coronary syndromes
Circulation 106: 974-980
- 4) Antman, E. M., Anbe, D. T., Armstrong, P. W., Bates, E. R., Green, L. A., Hand, M., Hochman, J. S., Krumholz, H. M., Kushner, F. G., Lamas, G. A., Mullany, C. J., Ornato, J. P., Pearle, D. L., Sloan, M. A., Smith, S. C., Jr., Alpert, J. S., Anderson, J. L., Faxon, D. P., Fuster, V., Gibbons, R. J., Gregoratos, G., Halperin, J. L., Hiratzka, L. F., Hunt, S. A., Jacobs, A. K. (2004)
ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction; A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1999 Guidelines for the Management of patients with acute myocardial infarction)
J Am Coll Cardiol 44: E1-E211
- 5) Arbab-Zadeh, A., Levine, B. D., Trost, J. C., Lange, R. A., Keeley, E. C., Hillis, L. D., Cigarroa, J. E. (2008)
The Effect of Acute Hypoxemia on Coronary Arterial Dimensions in Patients with Coronary Artery Disease
Cardiology 113: 149-154
- 6) Asahara, T., Masuda, H., Takahashi, T., Kalka, C., Pastore, C., Silver, M., Kearne, M., Magner, M., Isner, J. M. (1999)
Bone marrow origin of endothelial progenitor cells responsible for postnatal vasculogenesis in physiological and pathological neovascularization
Circ Res 85: 221-228

- 7) Askari, A. T., Unzek, S., Popovic, Z. B., Goldman, C. K., Forudi, F., Kiedrowski, M., Rovner, A., Ellis, S. G., Thomas, J. D., DiCorleto, P. E., Topol, E. J., Penn, M. S. (2003)
Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy
Lancet 362: 697-703
- 8) Baggiolini, M. (1998)
Chemokines and leukocyte traffic
Nature 392: 565-568
- 9) Bajetto, A., Barbieri, F., Dorcaratto, A., Barbero, S., Daga, A., Porcile, C., Ravetti, J. L., Zona, G., Spaziante, R., Corte, G., Schettini, G., Florio, T. (2006)
Expression of CXC chemokine receptors 1-5 and their ligands in human glioma tissues: role of CXCR4 and SDF1 in glioma cell proliferation and migration
Neurochem Int 49: 423-432
- 10) Balletshofer, B. M., Rittig, K., Stock, J., Haring, H. U. (2003)
Indicators of incipient atherosclerosis: demonstration of endothelial dysfunction with high-resolution ultrasound
Ultraschall Med 24: 153-161
- 11) Brueck, M., Bandorski, D., Kramer, W. (2008)
Incidence of Coronary Artery Disease and Necessity of Revascularization in Symptomatic Patients Requiring Permanent Pacemaker Implantation
Med Klin 103: 827-830
- 12) Ceradini, D. J., Kulkarni, A. R., Callaghan, M. J., Tepper, O. M., Bastidas, N., Kleinman, M. E., Capla, J. M., Galiano, R. D., Levine, J. P., Gurtner, G. C. (2004)
Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1
Nat Med 10: 858-864
- 13) Coll, B., Alonso-Villaverde, C., Parra, S., Montero, M., Tous, M., Joven, J., Masana, L. (2005)
The stromal derived factor-1 mutated allele (SDF1-3'A) is associated with a lower incidence of atherosclerosis in HIV-infected patients
AIDS 19: 1877-1883

- 14) Dealwis, C., Fernandez, E. J., Thompson, D. A., Simon, R. J., Siani, M. A., Lolis, E. (1998)
Crystal structure of chemically synthesized [N33A] stromal cell-derived factor 1alpha, a potent ligand for the HIV-1 "fusin" coreceptor
Proc Natl Acad Sci USA 95: 6941-6946
- 15) DeMaria, M., Johnson, R. P., Rosenzweig, M. (1997)
Four color immunofluorescence detection using two 488-nm lasers on a Becton Dickinson FACS Vantage flow cytometer
Cytometry 29: 178-181
- 16) Dorshkind, K. (1990)
Regulation of hemopoiesis by bone marrow stromal cells and their products
Annu Rev Immunol 8: 111-137
- 17) Fuchs, E., Tumber, T., Guasch, G. (2004)
Socializing with the neighbors: stem cells and their niche
Cell 116: 769-778
- 18) Gawaz, M. (2004)
Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium
Cardiovasc Res 61: 498-511
- 19) Hamm, C. W. (2004)
Guidelines: acute coronary syndrome (ACS). 1: ACS without persistent ST segment elevations
Z Kardiol 93: 72-90
- 20) Heeschen, C., Dimmeler, S., Hamm, C. W., van den Brand, M. J., Boersma, E., Zeiher, A. M., Simoons, M. L. (2003)
Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes
N Engl J Med 348: 1104-1111
- 21) Hesselgesser, J., Taub, D., Baskar, P., Greenberg, M., Hoxie, J., Kolson, D. L., Horuk, R. (1998)
Neuronal apoptosis induced by HIV-1 gp120 and the chemokine SDF-1 alpha is mediated by the chemokine receptor CXCR4
Curr Biol 8: 595-598
- 22) Holmes, K. L., Otten, G., Yokoyama, W. M. (2002)
Flow cytometry analysis using the Becton Dickinson FACS Calibur
Curr Protoc Immunol Chapter 5: Unit 54

- 23) Ioannidis, J. P., Rosenberg, P. S., Goedert, J. J., Ashton, L. J., Benfield, T. L., Buchbinder, S. P., Coutinho, R. A., Eugen-Olsen, J., Gallart, T., Katzenstein, T. L., Kostrikis, L. G., Kuipers, H., Louie, L. G., Mallal, S. A., Margolick, J. B., Martinez, O. P., Meyer, L., Michael, N. L., Operskalski, E., Pantaleo, G., Rizzardì, G. P., Schuitemaker, H., Sheppard, H. W., Stewart, G. J., Theodorou, I. D., Ullum, H., Vicenzi, E., Vlahov, D., Wilkinson, D., Workman, C., Zagury, J. F., O'Brien, T. R. (2001)
Effects of CCR5-Delta32, CCR2-64I and SDF-1 3'A alleles on HIV-1 disease progression: An international meta-analysis of individual-patient data
Ann Intern Med 135: 782-795
- 24) James, S. K., Lindahl, B., Siegbahn, A., Stridsberg, M., Venge, P., Armstrong, P., Barnathan, E. S., Califf, R., Topol, E. J., Simoons, M. L., Wallentin, L. (2003)
N-terminal pro-brain natriuretic peptide and other risk markers for the separate prediction of mortality and subsequent myocardial infarction in patients with unstable coronary artery disease: a Global Utilization of Strategies to Open occluded arteries (GUSTO)-IV substudy
Circulation 108: 275-281
- 25) Kaminski, A., Ma, N., Choi, Y.H., Stamm, C., Liebold, A., Lindenblatt, N., Vollmer, B., Steinhoff, G. (2005)
Bedeutung von stromal cell derived factor-1 (SDF-1) für das "homing" von Stammzellen
Chirurgisches Forum 34: 1432-9336
- 26) Kaul, M., Lipton, S. A. (1999)
Chemokines and activated macrophages in HIV gp120-induced neuronal apoptosis
Proc Natl Acad Sci USA 96: 8212-8216
- 27) Kawai, C. (1994)
Pathogenesis of acute myocardial infarction. Novel regulatory systems of bioactive substances in the vessel wall
Circulation 90: 1033-1043
- 28) Kollmar, O., Rupertus, K., Scheuer, C., Junker, B., Tilton, B., Schilling, M. K., Menger, M. D. (2007)
Stromal cell-derived factor-1 promotes cell migration and tumor growth of colorectal metastasis
Neoplasia 9: 862-870

- 29) Kolodgie, F. D., Nakazawa, G., Sangiorgi, G., Ladich, E., Burke, A. P., Virmani, R. (2007)
Pathology of atherosclerosis and stenting, Neuroimaging
Clin N Am 17: 285-301 vii
- 30) Kristensen, S. D., Baumgartner, H., Casadei, B., Drexler, H., Eeckhout, E., Filippatos, G., Fox, K. A., Perk, J., Pierard, L. A., Poldermans, D., Schunkert, H., Vardas, P. E., van der Wall, E. E., Fox, K., Bax, J. J. (2008)
Highlights of the 2008 Scientific Sessions of the European Society of Cardiology Munich, Germany, August 30 to September 3, 2008
J Am Coll Cardiol 52: 2032-2042
- 31) Laing, K. J., Secombes, C. J. (2004)
Chemokines
Dev Comp Immunol 28: 443-460
- 32) Lataillade, J. J., Clay, D., Bourin, P., Herodin, F., Dupuy, C., Jasmin, C., Le Bousse-Kerdiles, M. C. (2002)
Stromal cell-derived factor 1 regulates primitive hematopoiesis by suppressing apoptosis and by promoting G (0)/G (1) transition in CD34 (+) cells: evidence for an autocrine/paracrine mechanism
Blood 99: 1117-1129
- 33) Lataillade, J. J., Clay, D., Dupuy, C., Rigal, S., Jasmin, C., Bourin, P., Le Bousse-Kerdiles, M. C. (2000)
Chemokine SDF-1 enhances circulating CD34 (+) cell proliferation in synergy with cytokines: possible role in progenitor survival
Blood 95: 756-768
- 34) Lauer, B., Niederau, C., Kuhl, U., Schannwell, M., Pauschinger, M., Strauer, B. E., Schultheiss, H. P. (1997)
Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis
J Am Coll Cardiol 30: 1354-1359
- 35) Libby, P. (2008)
Molecular and cellular mechanisms of the thrombotic complications of atherosclerosis
J Lipid Res 50: 352-7
- 36) Lyon, C. J., Law, R. E., Hsueh, W. A. (2003)
Minireview: adiposity, inflammation, and atherogenesis
Endocrinology 144: 2195-2200
- 37) Mackay, C. R. (2001)
Chemokines: immunology's high impact factors
Nat Immunol 2: 95-101

- 38) Massberg, S., Konrad, I., Schurzinger, K., Lorenz, M., Schneider, S., Zohlnhoefer, D., Hoppe, K., Schiemann, M., Kennerknecht, E., Sauer, S., Schulz, C., Kerstan, S., Rudelius, M., Seidl, S., Sorge, F., Langer, H., Peluso, M., Goyal, P., Vestweber, D., Emambokus, N. R., Busch, D. H., Frampton, J., Gawaz, M. (2006)
Platelets secrete stromal cell-derived factor 1alpha and recruit bone marrow-derived progenitor cells to arterial thrombi in vivo
J Exp Med 203: 1221-1233
- 39) May, A. E., Seizer, P., Gawaz, M. (2008)
Platelets: inflammatory firebugs of vascular walls
Arterioscler Thromb Vasc Biol 3: 5-10
- 40) Mohle, R., Bautz, F., Rafii, S., Moore, M. A., Brugger, W., Kanz, L. (1998)
The chemokine receptor CXCR-4 is expressed on CD34+ hematopoietic progenitors and leukemic cells and mediates transendothelial migration induced by stromal cell-derived factor-1
Blood 91: 4523-4530
- 41) Nagasawa, T., Hirota, S., Tachibana, K., Takakura, N., Nishikawa, S., Kitamura, Y., Yoshida, N., Kikutani, H., Kishimoto, T. (1996)
Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1
Nature 382: 635-638
- 42) Nagasawa, T., Kikutani, H., Kishimoto, T. (1994)
Molecular cloning and structure of a pre-B-cell growth-stimulating factor
Proc Natl Acad Sci USA 91: 2305-2309
- 43) Namiki, M., Kawashima, S., Yamashita, T., Ozaki, M., Hirase, T., Ishida, T., Inoue, N., Hirata, K., Matsukawa, A., Morishita, R., Kaneda, Y., Yokoyama, M. (2002)
Local overexpression of monocyte chemoattractant protein-1 at vessel wall induces infiltration of macrophages and formation of atherosclerotic lesion: synergism with hypercholesterolemia
Arterioscler Thromb Vasc Biol 22: 115-120
- 44) Nieswandt, B., Brakebusch, C., Bergmeier, W., Schulte, V., Bouvard, D., Mokhtari-Nejad, R., Lindhout, T., Heemskerk, J. W., Zirngibl, H., Fassler, R. (2001)
Glycoprotein VI but not alpha2beta1 integrin is essential for platelet interaction with collagen
EMBO J 20: 2120-2130

- 45) Olatidoye, A. G., Wu, A. H., Feng, Y. J., Waters, D. (1998)
Prognostic role of troponin T versus troponin I in unstable angina pectoris for cardiac events with meta-analysis comparing published studies
Am J Cardiol 81: 1405-1410
- 46) Ott, I., Neumann, F. J., Gawaz, M., Schmitt, M., Schomig, A. (1996)
Increased neutrophil-platelet adhesion in patients with unstable angina
Circulation 94: 1239-1246
- 47) Ottani, F., Galvani, M., Nicolini, F. A., Ferrini, D., Pozzati, A., Di Pasquale, G., Jaffe, A. S. (2000)
Elevated cardiac troponin levels predict the risk of adverse outcome in patients with acute coronary syndromes
Am Heart J 140: 917-927
- 48) Peichev, M., Naiyer, A. J., Pereira, D., Zhu, Z., Lane, W. J., Williams, M., Oz, M. C., Hicklin, D. J., Witte, L., Moore, M. A., Rafii, S. (2000)
Expression of VEGFR-2 and AC133 by circulating human CD34 (+) cells identifies a population of functional endothelial precursors
Blood 95: 952-958
- 49) Peled, A., Kollet, O., Ponomaryov, T., Petit, I., Franitza, S., Grabovsky, V., Slav, M. M., Nagler, A., Lider, O., Alon, R., Zipori, D., Lapidot, T. (2000)
The chemokine SDF-1 activates the integrins LFA-1, VLA-4, and VLA-5 on immature human CD34 (+) cells: role in transendothelial/stromal migration and engraftment of NOD/SCID mice
Blood 95: 3289-3296
- 50) Peled, A., Petit, I., Kollet, O., Magid, M., Ponomaryov, T., Byk, T., Nagler, A., Ben-Hur, H., Many, A., Shultz, L., Lider, O., Alon, R., Zipori, D., Lapidot, T. (1999)
Dependence of human stem cell engraftment and repopulation of NOD/SCID mice on CXCR4
Science 283: 845-848
- 51) Petit, I., Szyper-Kravitz, M., Nagler, A., Lahav, M., Peled, A., Habler, L., Ponomaryov, T., Taichman, R. S., Arenzana-Seisdedos, F., Fujii, N., Sandbank, J., Zipori, D., Lapidot, T. (2002)
G-CSF induces stem cell mobilization by decreasing bone marrow SDF-1 and up-regulating CXCR4
Nat Immunol 3: 687-694
- 52) Rainger, G. E., Nash, G. B. (2001)
Cellular pathology of atherosclerosis: smooth muscle cells prime cocultured endothelial cells for enhanced leukocyte adhesion
Circ Res 88: 615-622

- 53) Rifai, N., Ridker, P. M. (2001)
High-sensitivity C-reactive protein: a novel and promising marker of coronary heart disease
Clin Chem 47: 403-411
- 54) Ross, R. (1979)
The pathogenesis of atherosclerosis
Mech Ageing Dev 9: 435-440
- 55) Ross, R. (1993)
The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s
Nature 362: 801-809
- 56) Ross, R. (1999)
Atherosclerosis-an inflammatory disease
N Engl J Med 340: 115-126
- 57) Ruggeri, Z. M. (2002)
Platelets in atherothrombosis
Nat Med 8: 1227-1234
- 58) Ryan, T. J., Antman, E. M., Brooks, N. H., Califf, R. M., Hillis, L. D., Hiratzka, L. F., Rapaport, E., Riegel, B., Russell, R. O., Smith, E. E., 3rd, Weaver, W. D., Gibbons, R. J., Alpert, J. S., Eagle, K. A., Gardner, T. J., Garson, A., Jr., Gregoratos, G., Smith, S. C., Jr. (1999)
1999 update: ACC/AHA guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on Management of Acute Myocardial Infarction)
J Am Coll Cardiol 34: 890-911
- 59) Sachdeva, A., Cannon, C. P., Deedwania, P. C., Labresh, K. A., Smith, S. C., Jr., Dai, D., Hernandez, A., Fonarow, G. C. (2009)
Lipid levels in patients hospitalized with coronary artery disease
Am Heart J 157: 111-117 e 112
- 60) Saiura, A., Sata, M., Hirata, Y., Nagai, R., Makuuchi, M. (2001)
Circulating smooth muscle progenitor cells contribute to atherosclerosis
Nat Med 7: 382-383
- 61) Savage, B., Saldivar, E., Ruggeri, Z. M. (1996)
Initiation of platelet adhesion by arrest onto fibrinogen or translocation on von Willebrand factor
Cell 84: 289-297

- 62) Savonitto, S., Granger, C. B., Ardissino, D., Gardner, L., Cavallini, C., Galvani, M., Ottani, F., White, H. D., Armstrong, P. W., Ohman, E. M., Pieper, K. S., Califf, R. M., Topol, E. J. (2002)
The prognostic value of creatine kinase elevations extends across the whole spectrum of acute coronary syndromes
J Am Coll Cardiol 39: 22-29
- 63) Schiekofer, S., Balletshofer, B., Andrassy, M., Bierhaus, A., Nawroth, P. (2000)
Endothelial dysfunction in diabetes mellitus
Semin Thromb Hemost 26: 503-511
- 64) Scott, J. (2004)
Pathophysiology and biochemistry of cardiovascular disease
Curr Opin Genet Dev 14: 271-279
- 65) Shintani, S., Murohara, T., Ikeda, H., Ueno, T., Honma, T., Katoh, A., Sasaki, K., Shimada, T., Oike, Y., Imaizumi, T. (2001)
Mobilization of endothelial progenitor cells in patients with acute myocardial infarction
Circulation 103: 2776-2779
- 66) Shirozu, M., Nakano, T., Inazawa, J., Tashiro, K., Tada, H., Shinohara, T., Honjo, T. (1995)
Structure and chromosomal localization of the human stromal cell-derived factor 1 (SDF1) gene
Genomics 28: 495-500
- 67) Simmons, G., Reeves, J. D., Hibbitts, S., Stine, J. T., Gray, P. W., Proudfoot, A. E., Clapham, P. R. (2000)
Co-receptor use by HIV and inhibition of HIV infection by chemokine receptor ligands
Immunol Rev 177: 112-126
- 68) Steffens, S., Mach, F. (2004)
Inflammation and atherosclerosis
Herz 29: 741-748
- 69) Takahashi, T., Kalka, C., Masuda, H., Chen, D., Silver, M., Kearney, M., Magner, M., Isner, J. M., Asahara, T. (1999)
Ischemia- and cytokine-induced mobilization of bone marrow-derived endothelial progenitor cells for neovascularization
Nat Med 5: 434-438

- 70) Takase, B., Matsushima, Y., Uehata, A., Ishihara, M., Kurita, A. (2008)
Endothelial dysfunction, carotid artery plaque burden, and conventional exercise-induced myocardial ischemia as predictors of coronary artery disease prognosis
Cardiovasc Ultrasound 6: 61
- 71) Tashiro, K., Tada, H., Heilker, R., Shirozu, M., Nakano, T., Honjo, T. (1993)
Signal sequence trap: a cloning strategy for secreted proteins and type I membrane proteins
Science 261: 600-603
- 72) The TIMI IIIB Investigators (1994)
Effects of tissue plasminogen activator and a comparison of early invasive and conservative strategies in unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction. Results of the TIMI IIIB Trial. Thrombolysis in Myocardial Ischemia
Circulation 89:1545-56
- 73) Torok-Storb, B. (1988)
Cellular interactions
Blood 72: 373-385
- 74) Weiss, H. J. (1975)
Platelet physiology and abnormalities of platelet function (first of two parts)
N Engl J Med 293: 531-541
- 75) Werner, N., Priller, J., Laufs, U., Endres, M., Bohm, M., Dirnagl, U., Nickenig, G. (2002)
Bone marrow-derived progenitor cells modulate vascular reendothelialization and neointimal formation: effect of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase inhibition
Arterioscler Thromb Vasc Biol 22: 1567-1572
- 76) Winkler, C., Modi, W., Smith, M. W., Nelson, G. W., Wu, X., Carrington, M., Dean, M., Honjo, T., Tashiro, K., Yabe, D., Buchbinder, S., Vittinghoff, E., Goedert, J. J., O'Brien, T. R., Jacobson, L. P., Detels, R., Donfield, S., Willoughby, A., Gomperts, E., Vlahov, D., Phair, J., O'Brien, S. J. (1998)
Genetic restriction of AIDS pathogenesis by an SDF-1 chemokine gene variant. ALIVE Study, Hemophilia Growth and Development Study (HGDS), Multicenter AIDS Cohort Study (MACS), Multicenter Hemophilia Cohort Study (MHCS), San Francisco City Cohort (SFCC)
Science 279: 389-393

- 77) Wright, D. E., Bowman, E. P., Wagers, A. J., Butcher, E. C., Weissman, I. L. (2002)
Hematopoietic stem cells are uniquely selective in their migratory response to chemokines
J Exp Med 195: 1145-1154
- 78) Zlotnik, A., Yoshie, O. (2000)
Chemokines: a new classification system and their role in immunity
Immunity 12: 121-127
- 79) Zou, Y. R., Kottmann, A. H., Kuroda, M., Taniuchi, I., Littman, D. R. (1998)
Function of the chemokine receptor CXCR4 in haematopoiesis and in cerebellar development
Nature 393: 595-599

8 Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. med. M. Gawaz und Herrn Prof. Dr. med. A. E. May möchte ich mich ganz herzlich bedanken für die freundliche Überlassung dieses interessanten und klinisch relevanten Themas, sowie für die Überlassung der Räumlichkeiten.

Besonders möchte ich mich auch bei meinem Betreuer, Herrn Dr. med. Boris Bigalke bedanken, der mich während der Dissertation begleitete und mir jederzeit mit fachlichem Rat und Tat zur Seite stand.

Zu guter Letzt möchte ich meinen Eltern dafür danken, dass sie mich während meiner gesamten Ausbildung in jeder Hinsicht unterstützen.

9 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Christine Fink
Geburtstag	08.11.1983
Geburtsort	Stuttgart
Familienstand	ledig
Staatsangehörigkeit	deutsch

Schulbildung

1990 bis 1994	Georg-Hager-Grundschule, Mundelsheim
1994 bis 2000	Maximilian-Lutz-Realschule, Besigheim
2000 bis 2003	Mathilde-Planck-Gymnasium, Ludwigsburg

Medizinische Ausbildung

Seit April 2004	Studium der Humanmedizin an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
März 2006	1. Staatsexamen
August 2006	Famulatur in der Klinik für Radioonkologie und Strahlentherapie, Braunschweig
März 2007	Famulatur in der Kardiologie, Uniklinik Tübingen
Februar 2008	Auslandssemester an der Universidad de Guadalajara, Jalisco, Mexiko
September 2008	Famulatur in der Chirurgischen Klinik, Guadalajara
Februar 2009	Famulatur in der Dermatologie, Hautklinik Tübingen
28. Oktober 2010	2. Staatsexamen