

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik
Abteilung Innere Medizin III
(Schwerpunkt: Kardiologie und Angiologie)

**Auswirkungen der Statin- und Aspirin-Therapie auf
thrombozytäre oxLDL-Spiegel bei Patienten mit
symptomatischer koronarer Herzerkrankung**

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

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

vorgelegt von

Böhm, Anne-Sophie Vivien Stefanie

2020

Dekan: Professor Dr. I. B. Autenrieth

1. Berichterstatter: Professor Dr. T. Geisler

2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. A. Straub

Tag der Disputation: 27.01.2020

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite</u>
1 Einleitung	1
1.1 Koronare Herzerkrankung	1
1.1.1 Epidemiologie	1
1.1.2 Definition der koronaren Herzerkrankung.....	2
1.1.3 Stabile Angina Pectoris.....	2
1.1.4 Akutes Koronarsyndrom	4
1.2 Thrombozyten	8
1.2.1 Anatomie der Thrombozyten	9
1.2.2 Ultrastruktur des Thrombozyten	10
1.2.3 Thrombozyten und Atherosklerose.....	13
1.3 Lipide.....	16
1.3.1 Plasmalipide	16
1.3.2 Lipidsenkende Therapie	18
1.3.3 Thrombozytäre Lipoproteine.....	22
2 Ziele	27
3 Material und Methoden	28
3.1 Patientenkollektiv	28
3.2 Materialien.....	29
3.3 Methoden	31
3.3.1 Thrombozytäre oxLDL-Analyse mittels Durchflusszytometrie	31
3.3.2 MDA-LDL ELISA.....	33
3.3.3 Plasmalipide	34
3.3.4 Statistische Analyse.....	34
4 Ergebnisse	35
4.1 Basischarakteristika des Patientenkollektivs.....	35
4.2 Korrelation zwischen Malondialdehyd-modifiziertem-LDL und Plasmalipiden	39
4.3 Korrelation zwischen thrombozytärem oxLDL und Malondialdehyd- modifiziertem-LDL	40
4.4 Einfluss medikamentöser Therapie auf die thrombozytären oxLDL- Spiegel	40

4.5	Einfluss medikamentöser Therapie auf das Malondialdehyd-modifizierte-LDL	41
4.6	Einfluss von Simvastatin im Vergleich zu Atorvastatin auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel.....	42
4.7	Einfluss unterschiedlicher Statindosen auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel.....	43
5	Diskussion	45
5.1	Diskussion der Methoden.....	45
5.1.1	Patientenkollektiv.....	45
5.1.2	Thrombozytäre oxLDL-Analyse mittels Durchflusszytometrie	47
5.1.3	MDA-LDL-Messung mittels ELISA.....	47
5.1.4	Plasmalipide	47
5.2	Diskussion der Ergebnisse.....	48
5.2.1	Korrelationen zwischen thrombozytärem oxLDL und Malondialdehyd-modifiziertem-LDL	49
5.2.2	Korrelation zwischen Malondialdehyd-modifiziertem-LDL und Plasmalipiden	50
5.2.3	Einfluss medikamentöser Therapie auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel	51
5.2.4	Einfluss medikamentöser Therapie auf das Malondialdehyd-modifizierte LDL	54
5.2.5	Einfluss von Simvastatin im Vergleich zu Atorvastatin auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel	55
5.2.6	Einfluss unterschiedlicher Statindosen auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel	56
5.2.7	Limitationen	58
6	Zusammenfassung	60
7	Literaturverzeichnis	62
8	Erklärung zum Eigenanteil	87
9	Danksagung	88

Abbildungsverzeichnis

	<u>Seite</u>
Abbildung 1: Korrelation zwischen MDA-LDL (U/l) und Gesamtcholesterin (mg/dl), LDL-Cholesterin (mg/dl), HDL-Cholesterin (mg/dl), Triglyceriden (mg/dl).....	39
Abbildung 2: Korrelation zwischen thrombozytärem oxLDL-Spiegel (MFI) und MDA-LDL (U/l)	40
Abbildung 3: Vergleich der thrombozytären oxLDL-Spiegel (MFI) zwischen Patienten, die 3a) keine Medikation und ein Statin erhielten. 3b) ASS und ASS + Statin erhielten.	41
Abbildung 4: Vergleich der MDA-LDL-Spiegel (U/l) zwischen Patienten, die 4a) keine Medikation und ein Statin erhielten. 4b) ASS und ASS + Statin erhielten.....	42
Abbildung 5: Vergleich der thrombozytären oxLDL-Spiegel (MFI) zwischen Patienten mit der Medikationskombination Simvastatin + ASS und Atorvastatin + ASS.....	43
Abbildung 6: Vergleich der thrombozytären oxLDL-Spiegel (MFI) bei Patienten mit unterschiedlich hohen Statindosen und ASS.....	44

Tabellenverzeichnis

	<u>Seite</u>
Tabelle 1: CCS-Klassifikation der Angina Pectoris	3
Tabelle 2: Klassische klinische Klassifikation von Brustschmerzen	4
Tabelle 3: Charakteristik der Lipoproteine	17
Tabelle 4: Kardiovaskuläre Risikogruppen	19
Tabelle 5: Geräte und Materialien zur Blutentnahme und -aufbereitung	29
Tabelle 6: Reagenzien und Antikörper zur thrombozytären, intrazellulären oxLDL Bestimmung	30
Tabelle 7: Geräte und Materialien zur Durchflusszytometrie	30
Tabelle 8: Geräte und Materialien MDA-LDL ELISA	30
Tabelle 9: Basischarakteristika der Studienteilnehmer	35
Tabelle 10: Basischarakteristika der Studienteilnehmer mit oxLDL-Spiegel > Median verglichen mit oxLDL-Spiegel ≤ Median	37

Abkürzungsverzeichnis

ACS	Akutes Koronarsyndrom
ADP	Adenosindiphosphat
AP	Angina Pectoris
Apo	Apolipoprotein
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
BGS98	Bundes-Gesundheitssurvey 1998
BMS	Bare Metal Stent
CCS	Canadian Cardiovascular Society
CK	Kreatinkinase
CK-MB	Kreatinkinase Muscle-Brain Typ
COX-1	Cyclooxygenase-1
cTNI	Kardiales Troponin I
cTNT	Kardiales Troponin T
DEGS1	Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland
DES	Drug Eluting Stent
DTS	Dichtes tubuläres System
EAS	Europäische Atherosklerose-Gesellschaft
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ESC	Europäische Kardiologie-Gesellschaft
FOURIER	Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Subjects with Elevated Risk
GP	Glykoprotein
GRACE	Global Registry of Acute Coronary Events
HDL	High-Density-Lipoprotein
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A
IAP	Instabile Angina Pectoris

IDL	Intermediate-Density-Lipoprotein
IL	Interleukin
KG	Kontrollgruppe
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDL	Low-Density-Lipoprotein
LDL-R	Low-Density-Lipoprotein-Rezeptor
LOX-1	Lektin-like-oxidized-LDL-Rezeptor-1
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MDA-LDL	Malondialdehyd-modifiziertes LDL
MFI	mittlere Fluoreszenzintensität
MI	Myokardinfarkt
Nm	Nanometer
NOX2	NADPH Oxidase 2
NSTEMI	Nicht ST-Hebungs-Myokardinfarkt
NSTE-ACS	Nicht ST-Hebungs akutes Koronarsyndrom
OCS	Offenes kanikuläres System
oxLDL	oxidiertes Low-Density-Lipoprotein
PCI	Perkutane Koronarintervention
PCSK9	Proteinkonvertase Subtilisin/Kexin Typ 9
PF 4	Plättchenfaktor 4
RCT	Randomisierte kontrollierte Studie
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
SAP	Stabile Angina Pectoris
SaO2	Arterielle Sauerstoffsättigung
SCORE	Systemic Coronary Risk Estimation
STEMI	ST-Hebungs-Myokardinfarkt
TG	Triacylglycerin
TPO	Thrombopoietin

TRAP	Thrombinrezeptor-aktivierendes Peptid
UFH	Unfraktioniertes Heparin
μl	Mikroliter
VLDL	Very-Low-Density-Lipoprotein
vWF	Von-Willebrand-Faktor

1 Einleitung

Wirft man einen Blick auf die bundesweiten Daten des statistischen Bundesamts zu den zehn häufigsten Todesursachen, liegt auf dem ersten Platz die chronische ischämische Herzkrankheit (8,2 % der Gestorbenen), gefolgt vom akutem Myokardinfarkt (MI) (5,3 % der Gestorbenen) und der Herzinsuffizienz (5,1 % der Gestorbenen) [1]. Pathophysiologisch spielen, sowohl die Atherosklerose und deren Risikofaktoren als auch Thrombozyten eine entscheidende Rolle.

1.1 Koronare Herzerkrankung

1.1.1 Epidemiologie

Die koronare Herzerkrankung (KHK) ist der erstrangige Grund für Tod und Behinderung in Industrienationen [2]. In Europa sind 45 % der Todesfälle kardiovaskulär bedingt und stellen somit die führende Todesursache dar [3, 4]. Auch in Deutschland ist die KHK für die meisten Todesfälle innerhalb der Bevölkerung verantwortlich [1]. Im Jahre 2015 starben 38,54 % (n = 356616) der Menschen an den Folgen von Herz-Kreislauf-Erkrankungen [1]. Die erhobenen Daten der Gesundheitsberichterstattung des Bundes zeigen allerdings auch, dass die Anzahl der Todesfälle in den letzten 10 Jahren rückläufig war [5]. Betrachtet man das Jahr 2000, so starben 11,10 % (n = 93046) der Bevölkerung an den Folgen der chronischen ischämischen Herzkrankheit sowie 8,02 % (n = 67282) am Myokardinfarkt (MI). Die aktuellen Zahlen für 2015 zeigen, dass an chronisch ischämischer Herzkrankheit 8,22 % (n = 76013) der Bevölkerung gestorben sind und 5,32 % (n = 49210) am MI [5]. Verantwortlich hierfür wird das verbesserte kardiovaskuläre Risikoverhalten der Menschen in den letzten 20 Jahren gemacht [6, 7].

Die Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland (DEGS1) hat in den Jahren 2008 bis 2011 von 5901 Personen Daten zur Prävalenz von KHK und MI ermittelt. Die Patienten wurden gefragt, ob diese Krankheiten durch einen Arzt diagnostiziert wurden [8]. Die so ermittelte Lebenszeitprävalenz für KHK betrug bei den 40- bis 79-Jährigen 9,3 %, wobei sie bei Frauen mit 6,4 % im Vergleich zu den Männern mit 12,3 % deutlich niedriger war. Zudem konnte ein Anstieg mit steigendem Alter beobachtet werden. Bei den 40- bis 49-Jährigen

lag die Prävalenz bei 2,3 % und war in der Gruppe der 70-79-Jährigen mit 22,3 % am höchsten. Die ermittelte Lebenszeitprävalenz für MI betrug 4,7 % bei den 40- bis 79-Jährigen. Auch hier zeigte sich deutlich eine geringere Zahl bei den Frauen mit 2,5 % im Vergleich zu den Männern mit 7,0 % [8]. Die DEGS1 belegt, dass neben einem höherem Alter auch ein niedrigerer Sozialstatus zum Anstieg der Prävalenz beiträgt, ein Zusammenhang der bereits in der Literatur beschrieben wurde [8, 9]. Im Vergleich der DEGS1 mit dem in den Jahren 1997-1999 durchgeführten Bundes-Gesundheitssurvey 1998 (BGS98) zeigte sich kein signifikanter Rückgang der KHK-Prävalenz bei den Männern (BGS98: 12,1 %), aber einer bei den Frauen (BGS98: 8,9 %). Bei den Männern stieg die Prävalenz des MI an (BGS98: 5,3 %), aber wiederum nicht bei den weiblichen Teilnehmern (BGS98: 2,4 %) [8, 10].

Weltweit führt die KHK zu einer hohen finanziellen Belastung [11]. Die Zahlen des Statistischen Bundesamtes (Destatis) legen dar, dass in Deutschland 2015 13,7% der Krankheitskosten, rund 46,4 Milliarden Euro, durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen verursacht wurden [12]. Die ischämische Herzkrankheit machte davon 2,0 %, rund 6,8 Milliarden Euro, und der akute MI 0,7 %, rund 2,3 Milliarden Euro, aus [12]. Auch in Anbetracht dieser finanziellen Aspekte ist die Erforschung der KHK von Bedeutung.

1.1.2 Definition der koronaren Herzerkrankung

Die KHK ist die Manifestation der Atherosklerose an den Herzkranzgefäßen. Klinisches Leitsymptom sind die typischen, meistens retrosternalen Brustschmerzen, die als Angina Pectoris (AP) bezeichnet werden [13]. Die KHK wird in die stabile Angina Pectoris (SAP) und das Akute Koronarsyndrom (ACS) eingeteilt. Die klinische Manifestation schließt die stille Ischämie, die Herzinsuffizienz sowie den plötzlichen Herztod mit ein. Die Risikofaktoren, die zur Entstehung von KHK beitragen, sind in der Literatur gut beschrieben. Hypertension, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, positive Familienanamnese, Rauchen und Übergewicht sind bekannte wichtige Faktoren, die zur Entstehung der Atherosklerose beitragen [14-20].

1.1.3 Stabile Angina Pectoris

Die SAP definiert sich über ein reversibles Missverhältnis des myokardialen Sauerstoffverbrauchs und dessen Angebot. Diese vorübergehende Ischämie

oder Hypoxie wird häufig durch körperliche Belastung oder emotionalen Stress ausgelöst, kann aber auch spontan auftreten. Die klinische Präsentation umfasst typische vorübergehende Schmerzen in Brust, Kiefer, Armen, Rücken und seltener im epigastrischen Bereich. Weiterhin charakteristisch ist die Reproduzierbarkeit der Schmerzen [13]. Die Canadian Cardiovascular Society (CCS) hat bereits im Jahr 1976 eine Graduierung herausgegeben, welche bis heute weltweit weitestgehend anerkannt ist [21]. Diese beschreibt die Einteilung von Stufe I bis IV (Tabelle 1) [22].

Tabelle 1: CCS-Klassifikation der Angina Pectoris [22]

Klassen	Kriterien
I	Angina-pectoris-Beschwerden bei starker körperlicher Belastung
II	Geringe Angina-pectoris-Beschwerden bei normaler körperlicher Belastung
III	Massive Angina-pectoris-Beschwerden bei normaler körperlicher Belastung
IV	Angina-pectoris-Beschwerden bei jeglicher Belastung und in Ruhe

Die Mechanismen, welche zu myokardialer Ischämie und so zur Angina Symptomatik führen, sind plaquebedingte Stenosen der Koronargefäße, mikrovaskuläre Dysfunktion sowie fokaler oder diffuser Vasospasmus [13]. Letztendlich führen diverse ischämische Metabolite, wie Adenosin und Bradykinin, an Rezeptoren von sympathischen und vagalen afferenten Fasern zu den beschriebenen Schmerzen [13, 23, 24]. Diagnostisch wegweisend ist vor allem eine ausführliche Anamnese unter Berücksichtigung der Lokalisation, des Charakters und der Dauer der Schmerzen sowie deren Beziehung zu schmerzverstärkenden und -lindernden Mechanismen [13]. Die Schmerzen zeigen sich häufig in Sternumnähe in der Brust, können aber vom Epigastrium bis hin zum Kiefer und über den Arm bis in die Finger reichen. Sie werden oft als Druck, Schwere oder Enge wahrgenommen, können aber auch einschnürenden bzw. brennenden Charakter haben. Kurzatmigkeit kann in Verbindung mit Müdigkeit, Schwäche, Übelkeit sowie Ruhelosigkeit auftreten oder auch als einziges Symptom vorhanden sein. Die Dauer der SAP beträgt wenige Minuten, wobei der Eintritt durch gesteigerte körperliche Belastung sowie emotionale Aufregung typisch ist. Auch pektanginöse Beschwerden während eines großen Mahles oder nach dem morgendlichen Erwachen sind

klassisch [13]. Die SAP lässt sich durch die Gabe von Nitraten durchbrechen [25-27]. Schon 1983 wurde von Diamond eine Einteilung des Schmerzes in typische und atypische Angina vorgenommen [28]. Die SAP-Leitlinie (2013) der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC) hat diese in einer Tabelle zusammengefasst (Tabelle 2) [13].

Tabelle 2: Klassische klinische Klassifikation von Brustschmerzen [13]

Brustschmerzen	Kriterien
Typische Angina (sicher)	Erfüllt alle 3 Punkte: <ul style="list-style-type: none"> – retrosternaler Brustdruck von charakteristischer Qualität und Dauer – auslösbar durch körperliche Aktivität oder emotionalen Stress – verbessert sich in Ruhe und/oder bei Nitrat-Gabe
Atypische Angina (wahrscheinlich)	erfüllt 2 der 3 Punkte
Nichtanginöser Brustschmerz	erfüllt keine der Punkte

Diese Einteilung kann beim Untersuchen der zugrundeliegenden Ätiologie hilfreich sein. Atypische Angina kann durch Vasospasmus beziehungsweise mikrovaskuläre Dysfunktion ausgelöst werden [29, 30]. Dies sind wichtige differentialdiagnostische Anhaltspunkte, wenn angiographisch keine offensichtliche Veränderung der Koronararterien nachgewiesen werden kann [31].

1.1.4 Akutes Koronarsyndrom

Unter dem Ausdruck Akutes Koronarsyndrom (ACS) werden die Krankheitsbilder der instabilen Angina Pectoris (IAP), des Nicht-ST-Hebungsinfarkts (NSTEMI) und des ST-Hebungsinfarktes (STEMI) zusammengefasst, die sich alle durch akute koronare Ischämie auszeichnen. Das ACS ist eine lebensbedrohliche Manifestation der KHK [32]. Ursächlich ist meist die Ruptur instabiler koronarer Plaques, welche die Koronararterien teilweise oder vollständig verschließen und so deren Durchblutung maßgeblich beeinflussen [32].

Leitsymptom des ACS ist der akute anhaltende (> 20 Minuten) Brustschmerz, wobei die weitere Klassifizierung durch Elektrokardiographie (EKG) und anhand der Bestimmung kardialer Enzyme geschieht. Zeigt sich im EKG eine anhaltende Hebung der ST-Strecke in mindestens 2 Ableitungen, wird das Geschehen als STEMI eingestuft [32]. Kann im EKG keine anhaltende ST-Hebung nachgewiesen werden, liegen aber die typischen klinischen Symptome vor, kann die Diagnose Nicht-ST-Hebungs-ACS (NSTEMI-ACS) gestellt werden, welches in NSTEMI beziehungsweise IAP unterteilt wird. Letzteres zeichnet sich durch den fehlenden Nachweis des kardialen Nekrosebiomarkers Troponin aus [32, 33]. Die beiden Krankheiten unterscheiden sich demnach vor allem im Schweregrad der Ischämie, die zu Myokarduntergang und somit Troponin-Freisetzung führt [34]. Das NSTEMI-ACS kann anhand verschiedener klinischer Symptome klassifiziert werden. Van Domburg et al. zeigten, dass die meisten Patienten (80 %) anhaltende Brustschmerzen über 20 Minuten hatten und 20 % entweder eine neu aufgetretene *de novo* AP oder eine zunehmende *Crescendo* AP als klinisches Symptom aufwiesen [35]. Die ESC nennt in ihren Leitlinien (2011) vier klinische Präsentationen des NSTEMI-ACS: i) über 20 Minuten anhaltende pektanginöse Beschwerden in Ruhe, ii) jede Form von neu aufgetretener Angina vom Grad CCS II oder III, iii) jede Eskalation einer vormals SAP mit CCS III sowie iv) die Post-MI AP [22, 32]. Schmerzcharakter sowie Lokalisation sind ähnlich zu denjenigen der SAP, wobei sie sich durch die oben genannten Punkte von dieser abgrenzen lassen. Atypische Symptome, wie Schmerzen im Epigastrium, zunehmenden Dyspnoe, Übelkeit und Erbrechen sowie Synkope, sind nicht selten und kommen gehäuft bei Frauen, Patienten über 75 Jahren, Patienten mit chronischem Nierenversagen sowie an Demenz erkrankten Patienten vor [32, 36-38]. Bei Patienten, die sich ohne die typischen Brustschmerzen vorstellten, konnte eine höhere Krankenhaus-Morbidität und Mortalität von 13 % im Vergleich zu denen mit Brustschmerzen 4 % gezeigt werden. Das Fehlen des Leitsymptoms führte zum Nichterkennen eines ACS und somit fehlender angemessener Therapie [36]. Patienten, die sich mit akutem Brustschmerz vorstellen, sollen innerhalb von 10 Minuten eine 12-Kanal-EKG-Untersuchung sowie deren Befundung durch einen geübten Untersucher erhalten [32, 34, 39]. Typische EKG-Veränderungen, die für ein NSTEMI-ACS sprechen, sind ST-Strecken-Senkungen, vorübergehende ST-

Stecken-Hebungen sowie T-Wellen-Veränderungen [40]. Werden anhaltende ST-Strecken-Hebungen in mindestens zwei Ableitungen oder ein neu aufgetretener Linksschenkelblock diagnostiziert, ist von einem STEMI auszugehen, welcher meist Folge eines kompletten Koronarverschlusses ist und nach einer schnellstmöglichen Reperfusion verlangt [41]. Die EKG-Untersuchungen sollten im Abstand von 15 - 30 Minuten in der ersten Stunde durchgeführt werden. Weitere Messungen sind nach 6 - 9 Stunden, 24 Stunden sowie sofort, wenn Schmerzen erneut auftreten, notwendig. Der Vergleich mit früheren EKG-Aufnahmen, falls vorhanden, wird empfohlen [42]. Ein unauffälliges EKG schließt ein NSTEMI-ACS nicht aus, vor allem Versorgungsgebiete der A. circumflexa sowie isolierte Ischämien des rechten Ventrikels können im 12-Kanal-EKG unerkant bleiben [42]. Durchgehendes EKG-Monitoring wird empfohlen [32]. Die kardialen Troponine werden beim Untergang der Myozyten freigesetzt [32]. Liegt der Troponinwert über der 99. Perzentile einer normalen Referenzgruppe, so gilt dies als Definition der Diagnose MI [42]. Sowohl Sensitivität als auch Spezifität der Troponine sind besser als die der vormals genutzten kardialen Marker, wie die Kreatinkinase (CK) und deren vorwiegend im Myokard vorhandenen Isoenzym CK-MB [32]. Das kardiale Troponin T (cTNT) sowie Troponin I (cTNI) sind wichtige Proteine, die Komplexe mit Aktin und Myosin bilden und so an der Muskelkontraktion beteiligt sind [43]. cTNT kann im geringen Maße auch in Skelettmuskelzellen nachgewiesen werden, verfälscht jedoch kardiale Fragestellungen nicht; cTNI kommt ausschließlich in Herzmuskelzellen vor [44, 45]. Ist die Diagnose STEMI gestellt, ist eine Reperfusionstherapie entscheidend und sollte so früh wie möglich durchgeführt werden [41, 46]. Diverse Studien belegen den Vorteil einer primären perkutanen Koronarintervention (PCI) gegenüber einer Lysetherapie [41, 47-49]. Kann ein Herzkatheterlabor innerhalb von 120 Minuten nach der Diagnosestellung STEMI erreicht werden, ist die Methode der Wahl die PCI, um eine hinreichende Myokardperfusion wiederherzustellen. Der Zugang kann radial beziehungsweise femoral gewählt werden, wobei der radiale Zugang aufgrund geringerer Komplikationen bevorzugt werden sollte [50, 51]. Über einen Führungsdraht wird die Engstelle erreicht, durch Ballondilatation geweitet und meist ein Stent implantiert [50]. Die Stentanlage wird gegenüber der alleinigen Ballondilatation empfohlen, um den erneuten

Gefäßverschluss effektiver zu verhindern [50, 52]. Aktuelle Studien belegen, dass die neu entwickelten Drug Eluting Stents (DES) gegenüber Bare Metal Stents (BMS) hinsichtlich Mortalität [53] beziehungsweise Zahl der erneuten Revaskularisierungsinterventionen [54] überlegen sind.

Kann das Zeitfenster von 2 Stunden nicht eingehalten werden, sollte eine Lysetherapie innerhalb von 10 Minuten nach Diagnose STEMI eingeleitet werden [49]. Eine sofortige prästationäre Thrombolyse senkt die Krankenhaussterblichkeit [55]. Armstrong et al. (2013) konnten zeigen, dass eine frühe Fibrinolyse, gefolgt von zeitnaher PCI, eine effektive Methode zur Reperfusion darstellt, wobei die Gefahr von intrakraniellen Blutungen allerdings erhöht ist [56]. Patienten, bei denen die Fibrinolyse nicht erfolgreich war, sollten so bald wie möglich eine Notfall-PCI bekommen, alle anderen in einem Zeitrahmen von 2-12 Stunden nach Diagnosestellung [41, 57-59].

Die aktuelle Leitlinie der ESC aus dem Jahr 2017 empfiehlt als sofortige Notfallmaßnahme eine Analgosedierung mit intravenösen Opiaten. Dies lindert Schmerz und Angst des Patienten, vermindert die Sympathikusaktivierung und minimiert die Vasokonstriktion und den damit verbundenen erhöhten Sauerstoffverbrauch des Herzens. Im Gegensatz zu den vorherigen Leitlinien wird eine Sauerstofftherapie nur noch bei denjenigen Patienten empfohlen, die eine arterielle Sauerstoffsättigung (SaO₂) von weniger als 90 % aufweisen. Zur Anxiolyse können Benzodiazepine verabreicht werden [41]. Bei akutem STEMI sollten keine Nitrate verabreicht werden, da sich daraus keine Vorteile ergeben [41, 60]. Beim NSTEMI-ACS können sublingual oder intravenöse Nitrate zur Besserung der Angina-Symptomatik angewendet werden [61]. Eine möglichst frühzeitige sowie intensive Lipidsenkung hat sich in der Akutsituation bezüglich erneuter kardiovaskulärer Ereignisse sowie der Mortalität als vorteilhaft erwiesen [41, 62, 63]. Mehrere Studien zeigen positive Effekte durch den Einsatz einer frühzeitigen intravenösen Betablocker-Therapie mit Metoprolol [64]. Pizzaro et al. konnten unter anderem bessere langfristige linksventrikuläre Ejektionsfraktionen (LVEF) sowie ein verringertes Herzversagen beobachten [65].

Neben der PCI sollte eine pharmakologische Therapie erfolgen. Vor oder spätestens während der PCI sollte eine doppelte Thrombozytenhemmung in

Form einer Kombination aus Acetylsalicylsäure (ASS) und einem potenten P2Y₁₂-Inhibitor (Ticagrelor oder Prasugrel) verabreicht werden, die in den meisten Fällen für 12 Monate fortgeführt wird [41, 66, 67]. Die während primärer PCI verwendeten Antikoagulantia sind unfraktioniertes Heparin (UFH), Enoxaparin sowie Bivalirudin [41]. Enoxaparin wies in Studien Vorteile in Bezug auf Mortalität sowie Blutungsereignissen gegenüber dem UFH auf und kann bei STEMI alternativ eingesetzt werden [41, 68-70].

Die Therapie von Patienten mit NSTEMI-ACS ist aufgrund der Heterogenität bezüglich der Schwere und aufgrund der daraus resultierenden langfristigen Konsequenzen der Erkrankung unterschiedlich. Der Entscheidungsfindung beitragend sind klinische Präsentation, EKG, Biomarker sowie die Abschätzung der Risiken mittels Scores [61]. Die Leitlinie der ESC aus dem Jahr 2015 zum Management von Patienten mit NSTEMI-ACS bevorzugt den Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE) Score [61, 71]. Die invasive Koronarangiographie hilft bei Diagnosesicherung, der Identifikation der vulnerablen Plaques, bei der Entscheidungsfindung im weiteren Vorgehen sowie bei der Risikoabschätzung und ist ein wichtiges Instrument im Umgang mit NSTEMI-ACS-Patienten. Bei Hochrisikopatienten sollte der Eingriff innerhalb von 2 Stunden, bei Risikopatienten innerhalb von 24 h und bei Patienten mit mittlerem Risiko innerhalb von 72 h stattfinden [61].

Der NSTEMI tritt deutlich häufiger auf als der STEMI, wobei die Inzidenzen für beide Infarkttypen rückläufig sind. Dies lässt sich größtenteils durch eine verbesserte gesundheitliche Primärprävention erklären [72].

1.2 Thrombozyten

Thrombozyten sind mit einem Durchmesser von 2 - 5 µm und einer Dicke von 0,5 µm die kleinsten im Blut zirkulierenden zellulären Bestandteile [73-75]. In gesunden Erwachsenen kommen sie in einer Anzahl von 150000 - 400000 pro µl Blut vor [76, 77]. Die Morphologie sowie Funktion in der Hämostase und Thrombose konnte im Jahre 1882 durch Bizzozero erstmalig beschrieben werden [74, 78] Sie sind zudem an der Speicherung sowie Freisetzung von biologisch aktiven Substanzen, wie Chemokinen und Wachstumsfaktoren beteiligt. Weitere Aufgaben übernehmen sie in der Wundheilung, in der Immunantwort und im Kampf gegen Krankheitserreger, bei

Entzündungsreaktionen sowie in der Angiogenese, und sie sind beteiligt an der Entwicklung arteriosklerotisch bedingter Erkrankungen [79-86].

1.2.1 Anatomie der Thrombozyten

Im Ruhezustand zirkuliert ein Thrombozyt in einer bikonkaven Form, welche durch Mikrotubuli aufrechterhalten wird [87, 88]. Durch Aktivierungsmechanismen, getriggert unter anderem durch Endothelschäden, verändert sich dessen Form durch die Ausbildung von Pseudopodien [73, 89]. Thrombozyten sind kernlos und entstehen im Knochenmark aus hochspezialisierten Vorläuferzellen, den Megakaryozyten, die diese ins Blut freisetzen [90, 91]. Megakaryozyten kommen im Knochenmark vor und machen etwa 1 % der myeloiden Zellen aus [92]. Das Zytokin Thrombopoietin (TPO) ist ein wesentlicher Stimulator der Megakaryogenese und somit der Thrombozytenproduktion und wird in Leber, Niere und Knochenmark gebildet [93-95]. Der letzte Schritt der Thrombozytenreifung, in dem sich aus abgespalteten Fragmenten der Megakaryozyten bikonkave, reife Thrombozyten bilden, findet im zirkulierenden Blut statt [90, 96]. Täglich werden etwa 100 Milliarden neue Thrombozyten gebildet, welche eine Überlebenszeit von bis zu 10 Tagen erreichen [97]. Für die Regulation der Überlebenszeit stellten Mustard et al. im Jahr 1966 das "Multiple-Hit Model" auf, welches besagte, dass Thrombozyten eine bestimmte Anzahl von Interaktionen, sogenannte "Hits" ertragen, bevor sie vom retikuloendothelialen System erkannt und eliminiert werden [97, 98]. Diese Theorie war lange Stand des Wissens und wurde erst in den letzten Jahren durch neue Erkenntnisse über thrombozyteneigene Apoptosemechanismen abgelöst [97]. 2007 konnte gezeigt werden, dass Thrombozyten aus Mäusen, die das Knockout Gen Bcl-X besaßen, welches für Bcl-X_L ein anti-apoptotisches Protein [99] des intrinsischen Apoptosewegs kodiert, eine stark eingeschränkte Lebensdauer aufwiesen. Mäuse mit einem durch Gen-Knockout erzeugten Mangel an dem pro-apoptotischen Protein Bak besaßen hingegen Thrombozyten mit längerem Überleben [100, 101]. In gesunden Zellen hemmt Bcl-X_L das pro-apoptotische Bak, welches durch Permeabilisierung der äußeren Mitochondrienmembran die Freisetzung von Cytochrom C ermöglicht und so der Initiierung der Apoptosekaskade dient [97, 100, 102]. Somit konnte gezeigt werden, dass die Proteine des intrinsischen Apoptosewegs Bcl-X_L sowie Bak wesentlich die Überlebenszeit der

Thrombozyten und deren Abbau steuern [97, 101]. Es wird vermutet, dass durch den zeitlich schnelleren Abbau von Bcl-X_L dessen hemmende Wirkung auf das pro-apoptotische Bak entfällt, was die Apoptose der Thrombozyten initiiert [97, 101, 103].

1.2.2 Ultrastruktur des Thrombozyten

Strukturell können Thrombozyten in vier Zonen unterteilt werden [73]: die periphere Zone, die Sol-Gel-Zone, die Organellen-Zone sowie das innere Membransystem.

Periphere Zone:

Die periphere Zone setzt sich aus der phospholipidhaltigen Plasmamembran sowie der darin verankerten Glykokalix zusammen, welche aus Glykoproteinen (GP), die als Rezeptoren dienen, besteht [73].

Mittels hochauflösender elektronenmikroskopischer Aufnahmen konnte gezeigt werden, dass die äußere Plasmamembran der Thrombozyten Windungen und Faltungen besitzt. Diese bietet zusätzliches Material zur Formveränderung [73, 104]. Da die Plasmamembran nicht dehnbar ist, ermöglichen sie sowie die zusätzlichen Membranen des offenen kanikulären Systems (OCS) eine Formveränderung [105]. Obwohl die Plasmamembran sich strukturell nicht von anderen Plasmamembranen unterscheidet, spielt sie eine maßgebliche Rolle in der Gerinnung [73, 106]. Die anionische, phospholipid- und phosphatidylserinreiche Oberfläche dient als Ort der Umwandlung von Prothrombin zu Thrombin [73].

Die darunter liegende submembranöse Region besteht aus Filamenten, ähnlich Aktinfilamenten, und ist für die Thrombozytenform, Rezeptortranslokation sowie Adhäsion von Bedeutung. Sie sind Teile des thrombozytären Zytoskeletts [107].

Die dem Thrombozyten als äußerste Hülle dienende Glykokalix besteht aus GP [73]. Diese wirken als Rezeptoren beim ersten Kontakt mit subendotheliale Kollagen verletzter Gefäßwände und dienen der Aktivierung und Aggregation der Thrombozyten sowie Thrombusformation. [73, 108, 109]. Die beweglichen Rezeptorkomplexe GP-Ib-IX-V sowie Integrin α IIb β 3 (GPIIb-IIIa) spielen eine wesentliche Rolle in der Blutgerinnung [73, 110].

Die Sol-Gel-Zone:

Außer den in der submembranösen Region der peripheren Zone angeordneten Filamenten besitzt ein Thrombozyt im Zytoplasma zwei weitere Fasersysteme. Diese sind die Mikrotubuli sowie ein Netz aus Aktinmikrofilamenten [73, 111]. Mikrotubuli sind in 7 - 12 randständigen, zirkumferentiell verlaufenden Bündeln unter der Plasmamembran angeordnet und sind dafür verantwortlich, die bikonkave Form des ruhenden Thrombozyten aufrecht zu erhalten [73, 87, 112]. Im ruhenden Thrombozyten sind Organellen und andere zelluläre Bestandteile an den das Zytoplasma locker durchziehenden Aktinfilamenten befestigt [73, 111, 113]. Kommt es zur Thrombozytenaktivierung, werden die Aktinfilamente in einer kalziumabhängigen Reaktion zu Polymeren reorganisiert, und es bilden sich Pseudopodien [114]. Weiterhin schnüren die Aktin- und Myosinfilamente die Mikrotubulibündel zusammen, wobei alpha- und elektronendichte Granula in die Thrombozytenmitte gebracht werden [115]. Dort können sich diese in das OCS entleeren [73, 111]. Das reichlich im Zytoplasma enthaltende Glykogen sowie glatte und ummantelte Vesikel werden ebenfalls zur Sol-Gel Zone gezählt [73].

Die Organellen-Zone:

Die Organellen-Zone beinhaltet hauptsächlich drei Arten von Speichergranula: alpha (α)-Granula und elektronendichte Granula (δ) sowie Lysosomen. Außerdem lassen sich Mitochondrien, Glykosomen und kleine elektronendichte Ketten bzw. Bündel nachweisen [73, 116].

α -Granula sind die am häufigsten vorkommenden thrombozytären Organellen [73, 117]. Durchschnittlich sind 40 - 80 dieser im Durchmesser 200 - 500 nm kleinen Vesikel pro Thrombozyt zu finden [73]. Sie enthalten sowohl lösliche als auch membrangebundene Proteine [118]. Membrangebundene Proteine, die auch in der Plasmamembran ruhender Thrombozyten vorkommen, sind unter anderem die bereits erwähnten Integrine, wie α IIb β 3 (GPIIb-IIIa) sowie GPIIb-IX-V Rezeptor [119]. Andere, wie z. B. das P-Selektin, werden erst nach Thrombozytenaktivierung auf deren Oberflächenmembran exprimiert [118, 120]. α -Granula enthalten eine große Anzahl unterschiedlicher Proteine [120]. Dazu gehören Adhäsionsproteine, wie von-Willebrand-Faktor (vWF), Fibrinogen und Thrombospondin, und Gerinnungsfaktoren (z. B. Faktor V, XI, XIII),

Antikoagulantien (z. B. Protein S), Wachstumsfaktoren (z. B. Epidermal Growth Factor, EGF), Chemokine (z. B. CXCL4), Immunmediatoren (z. B. Komplement C3-Vorläufer), Aktivatoren und Inhibitoren der Angiogenese (z. B. Vascular Endothelium Growth Factor, VEGF) sowie Inhibitoren des fibrinolytischen Systems (z. B. α_2 -Antiplasmin) [118, 121].

Die weniger häufigen und kleineren elektronendichten (δ) Granula enthalten vor allem niedermolekulare Moleküle, die für die Thrombozytenaktivierung wichtig sind [73]. Dazu zählen unter anderen Nukleotide, wie Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosintriphosphat (ATP), Kalzium als wichtiger Ko-Faktor der Gerinnung sowie Serotonin, welches zudem vasokonstriktorisch wirkt [118, 122-124].

Thrombozyten beinhalten durchschnittlich ein Lysosom, dessen Aufgabe in der Hämostase unbekannt ist [73]. Sie enthalten hauptsächlich saure Hydrolasen [73, 118].

Thrombozyten besitzen voll funktionsfähige Mitochondrien. Diese sind unter anderem zur Aufrechterhaltung des hohen Energiebedarfs bei Degranulation, Aktivierung und der daraus folgenden Formänderung notwendig [73]. Mitochondrien liefern zudem Cytochrom C, welches für die thrombozytäre Apoptose benötigt wird [101].

Das innere Membransystem:

Thrombozyten besitzen zwei separate innere Membransysteme, welche so in keiner anderen Blutzelle gefunden werden können. Diese sind das offene kanikuläre System (OCS) sowie das dichte tubuläre System (DTS), welches sich aus dem rauen endoplasmatischen Retikulum der Megakaryozyten ableitet [73, 125].

Das OCS ist Teil der Plasmamembran und mit der Oberfläche verbunden. Die Kanäle schlängeln sich als Einstülpungen durch das Zytoplasma. Sie dienen der Ausleitung des Inhaltes der α -Granula während der Sekretion sowie der Stoffaufnahme aus dem Plasma [125]. Während der Thrombozytenaktivierung bietet das OCS die zusätzlich benötigte Menge an Plasmamembran, die bei der Ausbreitung und Formveränderung benötigt wird. So kann die freiliegende Oberfläche um bis zu 420 % vergrößert werden [73, 126].

Die Kanäle des DTS ziehen sich, ähnlich verstreut wie die des OCS, durch das Zytoplasma. Sie weisen 1 - 2 Verbindungen mit den zirkumferentiell verlaufenden Mikrotubuli auf [73]. Das DTS dient dem Thrombozyten weiterhin als Kalziumspeicher, welches für deren Formveränderung bei Aktivierung unabdingbar ist. Zudem lassen sich dort Enzyme der Prostaglandinsynthese finden [73, 127].

1.2.3 Thrombozyten und Atherosklerose

1.2.3.1 Atherosklerose

Atherosklerose ist eine systemische, entzündlich- sowie immunbedingte Erkrankung der Gefäßintima, welche als Reaktion auf eine Endothelverletzung betrachtet werden kann [128, 129]. Der nekrotische Kern der atherosklerotischen Plaques besteht aus den lipidhaltigen Überbleibseln von Schaumzellen. Er setzt sich vor allem aus Cholesterinestern sowie freiem, aus Low-Density-Lipoprotein (LDL) gewonnenem Cholesterin zusammen [128]. Darüber befindet sich eine fibromuskuläre Kappe aus extrazellulärer Bindegewebsmatrix sowie glatten Muskelzellen, welche unter anderem die Stabilität sowie Vulnerabilität des Plaques bestimmt. Die Verschmälerung oder Ruptur dieser Kappe legt den darunter liegenden hoch thrombogenen Lipidkern frei und fördert stark die Thrombusbildung [130].

Eine endotheliale Dysfunktion wird unter anderem durch die beim Rauchen entstehenden freien Radikale, durch arterielle Hypertension sowie durch erhöhtes modifiziertes bzw. oxidiertes Low-Density-Lipoprotein (oxLDL) gefördert [129]. Sie gilt als der initiale Schritt bei der Entstehung der Atherosklerose. Das Endothel ändert die Permeabilität, nimmt einen prokoagulatorischen Zustand ein und schüttet Zytokine sowie Wachstumsfaktoren aus [129]. Natives LDL kann frei durch das Endothel diffundieren und löst primär keine Entzündungsreaktion aus [128]. Die modifizierte bzw. oxidierte Form bewirkt, dass die Endothelzellen chemotaktische Substanzen ausschütten, die Monozyten und T- Lymphozyten anziehen [128]. OxLDL wird durch Makrophagen über Scavenger Rezeptoren, wie SR-A und CD36, aufgenommen und führt so zu deren Weiterentwicklung zur Schaumzelle [128, 131]. Zytokine und Wachstumsfaktoren locken glatte Muskelzellen aus der Gefäßmedia an. Diese bilden extrazelluläre Matrix und so

die fibromuskuläre Kappe des wachsenden Plaques [128]. Da die oxLDL-Spiegel im Blut schwierig zu messen sind, kann labordiagnostisch Malondialdehyd-modifiziertes-LDL (MDA-LDL) als Maß für die LDL-Oxidation sowie als kardiovaskulärer Risikofaktor bestimmt werden [132-134].

1.2.3.2 Thrombozyten und Atherosklerose

Eine Reihe von bereits in Kapitel 1.2.3.1 genannten Zellen spielt bei der Entstehung der Atherosklerose eine entscheidende Rolle. Die Beteiligung von Thrombozyten durch Plaqueruptur und Thrombusbildung ist gut beschrieben [129, 135]. In den letzten zwei Jahrzehnten zeigte sich, dass Thrombozyten auch an Entzündungsreaktionen, endothelialer Dysfunktion sowie an der initialen Atheroskleroseentstehung beteiligt sind [81, 136, 137].

Massberg et al. beschrieben 2002 erstmals, dass bei Mäusen, denen Apolipoprotein E fehlt (ApoE^{-/-}), schon eine Thrombozytenadhäsion an intaktes Endothel stattfindet, bevor sich ein manifester atherosklerotischer Plaque bildet [136]. Die Folgen waren die Expression von Entzündungszellen, Leukozyteneinwanderung und Atheroskleroseentwicklung [136].

Huo et al. veröffentlichten 2003, dass aktivierte zirkulierende Thrombozyten sowie Thrombozyten-Leukozyten/Monozyten-Aggregate durch Sekretion proinflammatorischer Substanzen in Richtung Monozyten sowie Endothelzellen in der Lage sind, Atherosklerose primär zu initiieren [138]. Beide Mechanismen legen dar, dass Thrombozyten Atherosklerose auslösen können, bevor es zum offensichtlichen Endothelschaden kommt, welcher lange Zeit als Voraussetzung für deren Adhäsion galt [139].

Im gesunden Gewebe verhindert ein strukturell intaktes, nicht-aktiviertes Endothel, das Anheften von Thrombozyten an die Gefäßwand. Im Falle einer Entzündungsreaktion sind Thrombozyten in der Lage, an das strukturell intakte, aber aktivierte Endothel anzuheften [139, 140]. Besonders betroffen sind Bifurkationen. Dies zeigt, dass die hämodynamischen Bedingungen eine Rolle spielen, da sich dort vermehrt Thrombozyten an strukturell intaktes Endothel anheften und so Atheroskleroseentwicklung initiieren [136, 141-143]. Nach Anlagerung an das Endothel, sezernieren sie proinflammatorische Zytokine, wie Interleukin (IL)-1 β oder CD40 Ligand (CD40L), die dessen Eigenschaften verändern [139, 144, 145]. Der mehrstufige Vorgang der

Thrombozytenanheftung wird durch Selektin-, Integrin- sowie Immunglobulinlike-Rezeptoren vermittelt und folgt einer spezifischen Signalantwort in den Thrombozyten und in den am Prozess beteiligten Zellen, wie Leukozyten und Endothelzellen [139, 141].

Selektine spielen in der ersten Phase der Thrombozytenanheftung an das Endothel eine entscheidende Rolle. Dies gilt sowohl für das thrombozytäre P-Selektin als auch für das in Entzündungsreaktionen vom Endothel vermehrt exprimierte E-Selektin [146]. Huo et al. (2003) konnten im Mausmodell mit Tieren, denen P-Selektin fehlte, dessen entscheidende Rolle bei der ersten Anheftung an das Endothel zeigen [138]. Das Integrin GPIIb-IIIa (α IIb β 3) ist einer der wichtigsten Rezeptoren, die bei der festen Bindung an aktivierte Endothelzellen involviert sind [139]. Auch der auf dem Endothel vorhandene und ebenfalls bei Entzündung hochregulierte Vitronektin-Rezeptor (α v β 3) ist am Anheftungsprozess beteiligt. Diese Bindungsreaktion kann durch einen spezifischen Antikörper geschwächt werden [147]. GPIb ist ein weiterer Rezeptor, welcher außer an der Bindung zu Gefäßwand auch an der Rekrutierung von Leukozyten durch das β 2 Integrin Mac-1 beteiligt ist [136, 148]. Darüber hinaus, kann der thrombozytäre Kollagenrezeptor GPVI an die subendotheliale Matrix des aktivierten Endothels binden [149].

Auch lösliche thrombozytäre Mediatoren, wie Chemokine und Zytokine, vermitteln endotheliale Entzündungsreaktionen [83, 138, 139, 150]. Thrombozyten sind in der Lage, Zellen der Gefäßwand, wie Endothelzellen oder glatte Muskelzellen, zur Chemokinsekretion anzuregen. Chemokine verstärken thrombozytäre Adhäsion und Aggregation. Thrombozyten können somit durch Chemokinsekretion die Rekrutierung von Entzündungszellen aus dem Blut beeinflussen und den Lipoproteinmetabolismus steuern [83].

Das dem Tumornekrosefaktor alpha (TNF- α) strukturell ähnliche Transmembranprotein CD-40L ist ein Molekül, welches auf aktivierten Thrombozyten an das CD 40 des Endothels binden kann. Die Bindung führt auf Seiten des Endothels zur Sekretion von Makrophagen-Chemoattraktorprotein-1 (MCP-1; CCL2) und Interleukin-8 (IL-8; CXCL8). Entzündungszellen, wie Monozyten und Leukozyten, wandern aus dem zirkulierenden Blut ein und fördern Gefäßinflammation und Atherosklerose [83, 144].

Ein nennenswertes Chemokin ist Plättchenfaktor 4 (PF4; CXCL4), welches unter anderem zur Transformation eines Monozyten zum Makrophagen beiträgt [151]. PF4 wird von aktivierten Thrombozyten aus dessen α -Granula sezerniert [118, 121]. Die Ablagerung von Cholesterin (im Wesentlichen aus LDL) in Makrophagen wird ebenfalls durch PF4 beeinflusst. Sachais et al. (2002) konnten *in vitro* zeigen, dass PF4 an die Bindungsdomäne des LDL-Rezeptors (LDL-R) bindet, so die Endozytose des LDL/LDL-R-Komplexes hemmt und die Ablagerung von Cholesterin auf Zellen fördert [152]. PF4 ist in der Lage, direkt an oxLDL anzulagern und dessen Bindung an die Zellen der Gefäßwand sowie an Makrophagen zu erhöhen. Innerhalb der Makrophagen erfolgt eine Veresterung des oxLDL und die Ablagerung von Cholesterinestern [153].

Auch das von aktivierten Thrombozyten sezernierte, aus der CC Chemokin-Familie stammende Chemokine-Ligand-5 (CCL5) führt zur Einwanderung von atherogenen Monozyten [150].

Das endothelgebundene CX3CL1 (Fraktalkin) kann Thrombozyten aktivieren und deren Adhäsion fördern. Außerdem trägt es zur Leukozytenadhäsion bei. Dies zeigt, dass umgekehrt auch Thrombozyten durch Chemokine aktiviert werden können [139, 154].

Die beschriebenen Umstände verdeutlichen die Rolle der Thrombozyten sowohl durch die rezeptorvermittelten Endothel-Thrombozyten-Interaktionen als auch durch die gegenseitige Aktivierung in Form von Sekretion proinflammatorischer Substanzen, die so zur Entstehung der Atherosklerose beitragen [139].

1.3 Lipide

1.3.1 Plasmalipide

Lipide werden in Körperflüssigkeiten in Form von Lipoproteinen transportiert. Im Inneren befindet sich ein stark hydrophober Lipidkern, bestehend aus Triacylglycerinen (TG) und Cholesterinestern. Das Äußere besteht hingegen aus hydrophilen Lipiden (Cholesterin, Phospholipide) sowie Apolipoproteinen (Apo), welche den Lipoproteinen als Rezeptorliganden (ApoB100), Enzymaktivatoren sowie als Strukturelemente dienen. Die Lipoproteine werden in 5 Hauptklassen unterteilt: Chylomikron, Very-Low-Density-Lipoprotein

(VLDL), Intermediate-Density-Lipoprotein (IDL), LDL sowie HDL (Tabelle 3) [155].

Tabelle 3: Charakteristik der Lipoproteine [155]

LP: Lipoprotein, VLDL: Very-Low-Density-Lipoprotein, Apo: Apolipoprotein, IDL: Intermediate-Density-Lipoprotein, LDL: Low-Density-Lipoprotein, HDL: High-Density-Lipoprotein, TG: Triacylglycerin

LP-Klasse	Durchmesser (nm)	Dichte (g/ml)	Hauptlipid	Haupt-Apolipoprotein
Chylomikron	75 - 1200	< 0,930	TG	Apo B-48, Apo C, Apo E, Apo A-I, A-II, A-IV
VLDL	30 - 80	0,930 – 1,006	TG	Apo B-100, Apo E, Apo C
IDL	25 - 35	1,006 – 1,019	TG Cholesterin	Apo B-100, Apo E, Apo C
LDL	18 - 25	1,019 – 1,063	Cholesterin	Apo B-100
HDL	5 - 12	1,063 – 1,210	Cholesterin Phospholipid	Apo A-I, Apo A-II, Apo C, Apo E

Erhöhte Cholesterinplasmaspiegel, insbesondere erhöhte LDL-Spiegel, gelten seit langem als etablierter Risikofaktor bei der Entwicklung der KHK [156-158]. HDL hingegen ist als protektiver Faktor anzusehen [159-161]. So konnte Rubin et al. 1991 bei genetisch veränderten Mäusen einen protektiven Effekt eines hohen HDL-Spiegels hinsichtlich der Entstehung von atherosklerotischen Läsionen nachweisen [162]. Neuere Studien stellen die Hypothese, dass allein die Höhe des HDL-Spiegels protektiv wirkt, in Frage. Sie deuten auf noch nicht vollständig verstandene, komplexere HDL-Funktionen hin, beispielsweise bezüglich des retrograden Transports von Cholesterin aus Makrophagen und dessen Zusammenhang mit KHK [163]. Da neue Medikamente, den HDL-Spiegel zwar signifikant erhöhten, jedoch bei der Reduktion von kardiovaskulären Endpunkten versagten, liegt nun das Interesse der Forschung an den quantitativen und qualitativen Eigenschaften von HDL [163-165].

Sowohl erhöhte Plasma-TG-Spiegel als auch hohe Konzentrationen an TG-reiche Lipoproteine (VLDL, IDL, Chylomikron) gelten als Risikofaktoren für die Entwicklung der KHK [166, 167]. Erhöhte TG-Konzentrationen sind häufig mit

weiteren kardiovaskulären Risikofaktoren assoziiert und können so helfen, Personen mit erhöhtem Erkrankungsrisiko zu identifizieren [168].

1.3.2 Lipidsenkende Therapie

Ein wichtiger kardiovaskulärer Risikofaktor ist die Dyslipidämie. Sachdeva et al. beschrieben 2009, dass viele KHK-Patienten schlecht eingestellte Lipidplasmaspiegel besitzen [169]. In der 76 Monate dauernden Studie wurden bei 136.905 Patienten innerhalb von 24 Stunden nach KHK-bedingter Krankenhausaufnahme die Plasmalipidspiegel bestimmt und diese in HDL, LDL sowie TG unterteilt. 17,6 % der Patienten hatten einen LDL-Spiegel von < 70 mg/dl. Bei 54,6 % der Patienten konnte ein HDL-Spiegel unter 40 mg/dl ermittelt werden. Die Kombination aus LDL < 70mg/dl und HDL > 60 mg/dl wiesen 1,4 % der Patienten auf [169]. In der Studie erhielten 21,1 % aller Patienten vor Aufnahme eine lipidsenkende Therapie. Von den Patienten, bei denen bereits eine kardiovaskuläre Erkrankung bekannt war, standen 29,4 % vor Aufnahme unter lipidsenkender Therapie. Im gesamten Beobachtungszeitraum zeigte sich eine signifikante Abnahme des durchschnittlichen HDL-Spiegels aller Patienten ($p < 0,0001$) von 43 mg/dl im Jahr 2000 auf 39 mg/dl 2006 [169].

In den neuen Leitlinien der ESC (2016) zum Management bei Dyslipidämie orientiert sich die Art und Dosis sowie die angestrebten LDL-Zielwerte wie zuvor am individuellen Risiko des Patienten (Treat-to-Target-Strategie) [170]. Dabei unterscheidet sie sich von der US-amerikanischen Leitlinie aus dem Jahr 2013, welche eine feste Dosis-Vorgabe für die jeweilige Risikogruppe fordert (Fire-and-Forget-Strategie) [171]. Die Therapieempfehlungen sowie angestrebte LDL-Spiegel richten sich nach den in Tabelle 4 aufgeführten vier Risikogruppen [170, 172].

Tabelle 4: Kardiovaskuläre Risikogruppen [170, 172]

KHK: Koronare Herzkrankheit, TIA: transiente ischämische Attacke, pAVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit, DM: Diabetes mellitus, GFR: glomeruläre Filtrationsrate, SCORE: Systemic Coronary Risk Estimation

Kardiovaskuläre Risikogruppen	Kriterien
Sehr hohes Risiko:	<ul style="list-style-type: none"> – KHK, Apoplex/TIA, pAVK – DM und daraus entstandener Organschaden oder DM plus ein weiterer Risikofaktor, wie Hypertonie oder Fettstoffwechselstörung – GFR < 30 ml/min/1,73 m² – SCORE >10 %
Hohes Risiko	<ul style="list-style-type: none"> – eindeutig gesteigerte Risikofaktoren wie RR> 180/110 mmHg oder hereditäre Störung des Fettstoffwechsels – DM ausgenommen der obig genannten Punkte – GFR 30 - 59 ml/min/1,73 m² – SCORE ≥ 5 und < 10 %
Mittleres Risiko	– SCORE ≥ 1 und < 5 %
Niedriges Risiko	– SCORE < 1 %

Mittels SCORE (Systemic Coronary Risk Estimation) kann das 10-Jahres Risiko, das erste tödliche kardiovaskuläre Ereignis zu erleiden, abgeschätzt werden [173]. Die ESC empfiehlt dieses Risikoabschätzungstool, da es die unterschiedlichen regionalen Risiken der europäischen Länder berücksichtigt und die Daten anhand relevanter europäischer Kohorten eruiert wurden. SCORE wird für klinisch unauffällige Personen über 40 Jahre empfohlen, da jene, welche an KHK, DM, chronischer Niereninsuffizienz sowie familiärer Hyperlipidämie leiden, ohnehin der Kategorie „sehr hohes kardiovaskuläres Risiko“ zuzuteilen sind [170].

Es zeigte sich, dass die Plasmaspiegel für LDL, HDL, TG sowie Gesamtcholesterin unabhängiger vom Nüchternstatus waren, als bisher angenommen [174-176]. Die neue Leitlinie nahm diese Erkenntnisse auf und erlaubt zur Risikobewertung und zum Screening der Lipidplasmaspiegel eine Abnahme im nicht nüchternen Zustand [170].

Die Senkung des LDL-Spiegels durch Statintherapie reduziert eindeutig das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse [177]. Pro Senkung des LDL-Spiegels um 1 mmol/l (18 mg/dl) konnte das Risiko um etwa ein Fünftel reduziert werden.

Eine weitere signifikante Verminderung von kardiovaskulären Ereignissen, ohne dass sich dadurch vermehrt Todesfälle durch andere Ursachen zeigten, konnte durch ein Behandlungsregime mit höheren Statin-Dosen erzielt werden [177]. Die Leitlinie rechtfertigt hiermit das Festhalten an LDL-Zielwerten, betont aber, dass es keine eindeutige Evidenz durch RCT (Randomisierte kontrollierte Studien) hinsichtlich zielbestimmter Werte gibt [170]. Die gute praktikable Anwendung im klinischen Alltag spricht ebenfalls für die Vorgehensweise. LaRosa et al. publizierten, dass eine intensivierete LDL-Senkung bei stabiler KHK (Atorvastatin 80 mg/Tag vs. 10mg/Tag) signifikant das Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen reduziert [178]. Ähnliches konnte für ACS-Patienten hinsichtlich Mortalität sowie kardiovaskulären Ereignissen beobachtet werden [62]. Cannon et al. konnten 2015 nachweisen, dass durch die Kombination von Statin mit dem Cholesterin-Aufnahme-Hemmer Ezetimib sowohl Verminderungen hinsichtlich kardiovaskulärer Ereignisse als auch niedrigere LDL-Spiegel erzielt werden konnten [179]. Diese neuen Erkenntnisse nahm die 2016 publizierte ESC-Leitlinie auf und empfiehlt diese Kombination, wenn sich durch alleinige Statintherapie die gewünschten LDL-Ziele nicht erreichen lassen (IIa-Empfehlung) [170].

Hinsichtlich der eindeutigen Korrelation zwischen LDL-Spiegel und kardiovaskulärem Risiko [177, 179, 180] empfiehlt die ESC-Leitlinie für Patienten mit sehr hohem kardiovaskulären Risiko eine Senkung des LDL-Spiegels auf Werte < 70 mg/dl, bzw. eine Reduktion um mindestens 50 % des Ausgangswertes, ist dieser zwischen 70 - 135 mg/dl [170]. Wird das kardiovaskuläre Risiko als hoch eingestuft, ist ein LDL-Zielwert unter 100 mg/dl anzustreben. Sollte ein Ausgangswert zwischen 100 – 200 mg/dl vorliegen, ist auch in diesem Fall eine mindestens 50 %ige Reduktion dieses Wertes anzusteuern [170]. Der zu senkende LDL-Spiegel bei mittlerem oder niederem Risiko sollte bei < 115 mg/dl liegen [170].

Statine eignen sich unabhängig vom Geschlecht, für Menschen unterschiedlicher Altersgruppen sowohl zur sekundären als auch zur primären Prävention bei KHK-bedingter Mortalität und Morbidität. Dies wurde in den letzten Jahren eindeutig durch große Metaanalysen bewiesen [177, 180, 181]. Myalgien sowie muskuläre Symptome sind als unerwünschte Nebenwirkungen

von Statinen bekannt und werden bei bis zu 25 % der Patienten beschrieben [182, 183].

Die RCT STOMP (Statins On Skeletal Muscle Function and Performance) aus dem Jahr 2013, konnte bei 4,6 - 9,4 % der gesunden Teilnehmer nach 6-monatiger Gabe von 80 mg Atorvastatin muskuläre Beschwerden feststellen sowie eine signifikante Erhöhung der Kreatinkinase, jedoch keine signifikante Verringerung der muskulären Leistungskraft [184]. Das Risiko für die schwerwiegendste Nebenwirkung, der Rhabdomyolyse, ist gering und die genannten Vorteile der Therapie stehen im Vordergrund [185].

Erstmals in den ESC-Leitlinien zu finden, ist die Medikamentenklasse der Proproteinconvertase Subtilisin/Kexin Typ 9 (PCSK9)-Hemmer [170]. Im Jahr 2003 wurde die Wirkung von PCSK-9 auf den LDL-Rezeptor (LDL-R) sowie die LDL-Homöostase beschrieben [186]. Eine Loss-of-Function-Mutation führte zu einem niedrigeren LDL-Spiegel, eine erhöhte Expression, bewirkte einen Anstieg [186]. PCSK-9 führte zum schnelleren Abbau der LDL-Rezeptoren [187, 188]. Dass monoklonale Antikörper gegen PCSK-9 stark den LDL-Spiegel senken können (um bis zu 80 %), wurde erstmals 2009 an Makaken-Affen demonstriert [189]. Im Jahr 2015 wurde der erste monoklonale Antikörper zugelassen, nachdem seine Sicherheit und Wirksamkeit unter Beweis gestellt wurde [190, 191].

Die durchschnittliche LDL-Senkung durch den humanen monoklonalen Antikörper Evolocumab, einem PCSK9-Hemmer, wird mit etwa 60 % angegeben [192-194]. Sabatine et al. konnten 2017 die Ergebnisse der ersten kardiovaskulären Endpunktstudie zu dem PCSK9-Hemmer Evolocumab veröffentlichen. Die FOURIER-Studie (Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Subjects with Elevated Risk) untersuchte 27.564 mit hohen Statin-Dosen behandelte Patienten mit atherosklerotisch bedingter KHK und einem LDL-Spiegel > 70 mg/dl [193]. Im Placebo-Vergleich zeigte sich eine durchschnittliche Senkung des LDL-Spiegels um 59 % ($p < 0,001$). Hinsichtlich der primären Endpunkte (MI, Apoplex, durch IAP- oder koronarer Revaskularisation bedingte Krankenhausaufnahme, kardiovaskulär bedingter Tod) konnte die Studie eine absolute Risikoreduktion von 11,3 % in der Placebo-Gruppe zu 9,8 % bei den behandelten Patienten ermitteln. Dies war

vor allem durch den Rückgang des MI sowie der koronaren Revaskularisation bedingt [193]. Basierend auf diesen neuen Erkenntnissen hat die ESC im April 2018 ein Update zur Therapie mit PCSK-9-Hemmern publiziert [195]. Bei Patienten mit sehr hohem kardiovaskulärem Risiko, die trotz maximal verträglicher Statin-Dosis (+/- Ezetimib) dreier unterschiedlicher Statin-Präparate weiterhin einen LDL-Spiegel > 140 mg/dl besitzen, sollte ein PCSK-9-Hemmer erwogen werden [195]. Für Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie, die trotz maximal verträglicher Kombinationstherapie aus Statin und Ezetimib einen LDL-Spiegel > 180 mg/dl aufweisen, empfiehlt die ESC einen PCSK-9-Hemmer in Erwägung zu ziehen [195]. Die Autoren weisen aber auch auf das noch unzureichende Wissen hinsichtlich der Langzeitfolgen der PCSK-9-Hemmer hin sowie auf deren deutlich höhere Kosten [195].

1.3.3 Thrombozytäre Lipoproteine

Lipoproteine haben Einfluss auf die Thrombozytenfunktion [196, 197]. So führt die Bindung von nativem LDL zur Thrombozytenaktivierung, erhöht deren Sensitivität für aktivierende Substanzen, verändert die Zusammensetzung der Plasmamembran und fördert den Lipidaustausch untereinander sowie zu anderen Zellen [196-199].

Der ruhende Thrombozyt besitzt etwa 1500 LDL- und 3200 HDL-Bindungsstellen [200]. HDL führt im Gegensatz zu LDL zu einem verringerten atherogenen Potenzial und zu einem desensibilisierten Zustand [196].

Modifizierte Lipide werden von Makrophagen durch Scavenger-Rezeptoren aufgenommen, was deren Transformation zur Schaumzelle anregt. Dies gilt als einer der Schlüsselschritte bei der Entstehung der Atherosklerose [128, 129]. Durch die Bindung von oxLDL an Thrombozyten werden diese aktiviert sowie vermehrt vom Makrophagen, die sich dadurch in atherogene Schaumzellen umwandeln, phagozytiert. Diese Reaktionen begünstigen thromboischämische Ereignisse [201, 202]. Die Bindung von oxLDL wird auch durch Scavenger-Rezeptoren auf den Thrombozyten vermittelt [201]. Dazu gehören der Klasse A Scavenger-Rezeptor (SR-A), der zur Klasse B gehörende CD36 Rezeptor, der Lektin-like-oxidized-LDL-Rezeptor-1 (LOX-1), der Klasse B Scavenger-Rezeptor 1 (SR-B1) und der Scavenger-Rezeptor-Ligand, der Phosphatidylserin und oxidiertes Lipoprotein/Chemokin bindet (CXCL16) [201-205]. Durch

die Bindung von oxLDL an CD 36 wird die Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) durch die NADPH-Oxidase 2 (NOX2) vermittelt [206]. Die ROS desensibilisieren die Thrombozyten für antithrombotische Signale des Endothels und fördern so die Thrombusformation [206].

Thrombozyten sind in der Lage, LDL in oxLDL zu überführen [207]. Carnevale et al. (2007) stimulierten Thrombozyten von gesunden Personen mit Kollagen und konnten zeigen, dass sie durch die katalytische Untereinheit der NOX2 LDL zu oxLDL modifizieren können. Durch Inhibition der Phospholipase A2 durch Arachidonyl Trifluoromethyl Ketone konnte eine signifikante Reduktion der oxLDL-Produktion erreicht werden. Außerdem konnte gezeigt werden, dass Thrombozyten von Patienten, die an Hypercholesterinämie leiden, vermehrt ROS sowie oxLDL produzieren als solche von Patienten einer gesunden Kontrollgruppe (KG) [207].

Eine weitere Studie von Carnevale et al. aus dem Jahr 2014 ergab, dass das in den Thrombozyten entstandene oxLDL die Thrombozytenaggregation und Thrombusformation fördert. Durch NOX2 hergestellte ROS spielen dabei eine entscheidende Rolle. Bei Patienten, die erblich bedingt keine NOX2 besitzen, waren diese Reaktionen deutlich abgemildert. Zudem konnte die oxLDL-Produktion durch Inhibition von CD36 sowie LOX-1 signifikant reduziert werden [208]. Die Autoren verwiesen darauf, dass ein Eingreifen an dieser Stelle der Thrombozytenaggregation und Thrombusbildung eine mögliche neue therapeutische Option darstellen könnte [208].

Chatterjee et al. konnten 2017 zeigen, dass Thrombozyten zudem zur intrazellulären Superoxidproduktion fähig sind. oxLDL fördert eine Lipoprotein-Oxidation, was annehmen lässt, dass oxLDL den Redoxstatus der Thrombozyten verändert. Sowohl die intrazellulären oxLDL-Spiegel als auch die LDL-Aufnahme steigerten sich simultan, was auf eine Konversion von LDL innerhalb des Thrombozyten schließen lässt. Durch Hemmung der mitochondrialen Superoxiddismutase 2 konnte die Lipid-Peroxidation innerhalb des Thrombozyten gehemmt werden, was einen noch unbekanntem Bestandteil der thrombozytären Lipidmodifikation aufzeigt [209].

In derselben Studie wurde beobachtet, dass oxLDL Thrombozyten zur Apoptose anregen kann. Dieser Prozess wird von einer Depolarisation der

mitochondrialen Membran sowie einer Superoxid-Bildung begleitet. Diese Form der Apoptoseinduktion ist mit bekannten Induktionsformen, z. B. mittels CRP oder Thrombinrezeptor-aktivierendes-Peptid (TRAP), vergleichbar [209].

OxLDL steigert das thrombogene Potenzial der Thrombozyten [199, 201, 208, 209]. In menschlichem thrombozytenreichen Plasma konnte durch oxLDL *in vitro* die durch Gewebefaktoren induzierte Thrombinbildung gesteigert sowie die durch TRAP induzierte Thrombozytenaggregation verstärkt werden [209]. Im Mausmodell konnte dies bestätigt werden. Bei Mäusen, die mit markiertem oxLDL behandelt wurden, zeigte sich im Vergleich mit einer unbehandelten KG ein signifikant schnellerer thrombusbedingter Gefäßverschluss [209].

Chatterjee et al. verglichen das thrombozytäre Lipidprofil von Patienten mit stabiler KHK, STEMI sowie einer passenden KG. Es konnte nachgewiesen werden, dass dieses bei KHK signifikant verändert ist [209]. Vor allem in der STEMI-Gruppe wurden im Vergleich zur KG signifikant erhöhte Werte für TG, Keramide, Sphingomyeline, Cholesterinester, Phospholipasemetabolite sowie oxidierte Lipidmetabolite gefunden. Zudem konnten signifikant erhöhte Werte für oxidierte Membranphospholipide bei STEMI-Patienten festgestellt werden [209]. Diese spielen bei Genese der KHK eine Rolle und werden durch freie Radikale oxidiert [210]. Chatterjee et al. schließen daraus, dass der erhöhte oxidative Stress bei STEMI Patienten zur Oxidation der Phospholipide innerhalb des Thrombozyten beiträgt [209].

Laaksonen et al. konnten 2016 zeigen, dass Plasmakeramide den bisher bekannten kardiovaskulären Risikomarkern, wie LDL oder CRP, in der Voraussagekraft bezüglich kardiovaskulärer Sterblichkeit sowohl bei stabiler KHK als auch bei ACS überlegen sind. Sie schließen daraus, dass diese als verlässlichere neue Marker zur Risikostratifikation bei KHK-Patienten dienen können [211]. Auch Chatterjee et al. konnten signifikant erhöhte Keramid-Spiegel in Thrombozyten von KHK-Patienten im Vergleich zur KG finden [209].

Shah et al. berichteten 2012, dass die Plasmaspiegel für mittel- sowie langkettige Acylkarnitine einen Voraussagewert für kardiovaskuläre Mortalität besitzen [212]. In Thrombozyten von SAP- und STEMI-Patienten konnten 2017 Chatterjee et al. ebenfalls erhöhte Werte für diese feststellen. In der STEMI-Gruppe waren die Acylkarnitine signifikant erhöht [209]. Die Studie schließt

daraus, dass zukünftig auch intrathrombozytäre Keramide sowie Acylcarnitine als Marker zu Risikoeinschätzung bei KHK-Patienten dienen könnten [209].

Stellos et al. verglichen die Stärke der Bindung von oxLDL an die Oberfläche von zirkulierenden Thrombozyten bei Patienten mit stabiler KHK mit der von Patienten mit ACS [201]. Es konnte bestätigt werden, dass die Thrombozyten bei den ACS-Patienten eine signifikant höhere oxLDL-Bindung besaßen als jene der stabilen KHK-Gruppe. Die der stabilen KHK-Gruppe wiesen eine höhere Bindung von oxLDL auf als die der gesunden Kontrollgruppe. Eine positive Korrelation zwischen Aktivierungsstatus sowie Menge des gebundenen oxLDL konnte festgestellt werden. Es ergab sich eine positive Korrelation zwischen thrombozytär gebundenem oxLDL und Troponin I sowie eine umgekehrte Korrelation zum Gesamtcholesterin des Plasmas und LDL [201].

Zusätzlich konnte festgestellt werden, dass *in vitro* mit oxLDL inkubierte Thrombozyten eine stärkere Bindung an Kollagen aufwiesen sowie Endothelzellen stärker aktivierten als jene, die mit LDL inkubiert wurden. Auch im Mausmodell banden die mit humanem oxLDL inkubierten Thrombozyten verstärkt an eine durch Karotisligation verletzte Gefäßwand als die mit LDL inkubierten. Die genannten Punkte veranschaulichen den Einfluss von oxLDL auf die Thrombozyten, welcher vor allem bei Patienten mit ACS deutlich wird [201].

Auch Chatterjee et al. konnten 2017 zeigen, dass Thrombozyten von KHK-Patienten einen signifikant höheren oxLDL-Spiegel aufwiesen als solche einer gesunden KG. Sie konnten eine positive Korrelation zwischen thrombozytärem oxLDL und der Expression des CXC-Chemokin-Rezeptor-7 (CXCR7) sowie eine negative Korrelation mit CXC-Chemokin-Rezeptor-4 (CXCR4) bestätigen [209]. CXCR7 und CXCR4 sind Rezeptoren des Chemokins CXCL12 [213]. Chemokine sind wesentlich an atherosklerotischen Entzündungsreaktionen beteiligt. Thrombozyten sezernieren bei Aktivierung selbst CXCL12, welches weitere thrombotische Prozesse fördert [83, 214, 215]. Rath et al. (2014, 2017) wiesen nach, dass die Konzentrationen von CXCL12 und seiner Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 bei ACS-Patienten erhöht sind. Diese sind wiederum mit der Langzeitprognose sowie myokardialer Regeneration nach MI verbunden [216, 217]. CXCL12 verstärkt die oxLDL-Aufnahme der Thrombozyten, welche

durch vermehrte Expression von Scavenger-Rezeptoren erklärt werden könnte [209]. Auf der anderen Seite führt oxLDL *in vitro* zu erhöhter Expression von CXCL12 und CXCR7 sowie verminderter Expression von CXCR4 auf der Oberfläche der Thrombozyten [209]. Die durch oxLDL induzierte ROS-Produktion, Degranulation sowie $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ -Intergrin (GPIIb-IIIa)-Aktivierung werden ebenfalls durch CXCL12 gesteigert. Durch Zugabe von CXCL12 und oxLDL konnte auch die Geschwindigkeit der thrombozytären Formveränderung bei Aktivierung signifikant gesteigert werden [209]. Zusätzlich konnte die oxLDL-abhängige Thrombusbildung durch vermehrte Gabe von CXCL12 verstärkt, durch Neutralisation sowie Blockade des CXCR4 signifikant abgemildert werden [209]. Chatterjee et al. wiesen auch hier auf die Möglichkeit eines potentiellen therapeutischen Ansatzpunktes hin [209].

Erhöhte thrombozytäre oxLDL-Spiegel waren signifikant mit prothrombotischem Verhalten der Thrombozyten assoziiert [209]. Dies konnte sowohl im Mausmodell als auch bei ACS-Patienten demonstriert werden. Bei Patienten mit angiographisch nachgewiesenen intrakoronaren Thromben zeigten die Thrombozyten signifikant erhöhte oxLDL-Spiegel verglichen mit einer Gruppe von Patienten, die zwar Atherosklerose, jedoch keine sichtbaren Thromben aufwiesen [209]. Interessanterweise, konnte in den Thromben mittels ex vivo-Analyse erheblich erhöhte Mengen an oxLDL in den thrombozytenreichen Bestandteilen gemessen werden [209]. Dies verdeutlicht die durch oxLDL verstärkte Thrombusbildung und die Funktion des Thrombozyten als Lipidspeicher in koronaren Thromben von STEMI-Patienten [209].

2 Ziele

Thrombozytäre intrazelluläre oxLDL-Spiegel sind bei ACS-Patienten im Vergleich zu Patienten mit stabiler KHK signifikant erhöht [209]. Thrombozyten sind in der Lage selbstständig oxidierte Lipidmetabolite herzustellen [207, 208]. OxLDL steigert das thrombogene Potenzial der Thrombozyten und begünstigt so deren Aggregation und Thrombusformation [199, 201, 208, 209].

Derzeit ist noch unklar, inwieweit intrazelluläres thrombozytäres oxLDL medikamentös beeinflusst werden könnte. Auch eine mögliche Assoziation zwischen zirkulatorischen oxidierten Lipiden und den intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegeln ist nicht hinreichend geklärt.

Die Ziele der vorliegenden Studie waren,

- die Assoziation zwischen dem intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel und zirkulatorischem Malondialdehyd-modifiziertem-LDL (MDA-LDL) zu bestimmen.
- den Einfluss von Statin-Therapie, ASS-Therapie sowie die Kombination aus Statin und ASS-Therapie auf den intrazellulären oxLDL-Spiegel der Thrombozyten sowie das zirkulatorische MDA-LDL zu untersuchen.
- den Einfluss von niedrigen, mittleren, hohen und sehr hohen Statin-Dosen auf den intrazellulären oxLDL-Spiegel der Thrombozyten zu ermitteln.
- die Bedeutung von intrazellulärem thrombozytärem oxLDL als möglichen Angriffspunkt in der KHK-Therapie darzustellen.

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

Im Rahmen dieser Studie wurde 151 Patienten mit symptomatischer KHK in der Abteilung für Innere Medizin III – Kardiologie und Kreislaufkrankungen der Universitätsklinik Tübingen während PCI arterielles Vollblut abgenommen. 151 Patienten wurden fortlaufend eingeschlossen. Davon präsentierten sich 94 mit stabiler KHK sowie 57 mit ACS. Die Definition der stabilen KHK ist in Kapitel 1.1.3 [13], die des ACS in Kapitel 1.1.4, zu finden [32, 41, 42, 61]. Das Blut wurde unmittelbar im Anschluss an die PCI mittels Durchflusszytometrie auf intrazelluläre thrombozytäre oxLDL-Expression untersucht. Mittels Enzyme-linked immunosorbent Assay (ELISA) wurde das zirkulatorische MDA-LDL im Serum bestimmt. Die intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel und die zirkulatorischen MDA-LDL-Spiegel wurden zwischen unterschiedlichen Patientengruppen bei Studieneinschluss verglichen:

- Gruppe 1: weder Statin noch ASS
- Gruppe 2: Statin, kein ASS
- Gruppe 3: ASS, kein Statin
- Gruppe 4: Statin und ASS

Innerhalb der Gruppe 4 wurde eine mögliche Auswirkung auf das intrazelluläre thrombozytäre oxLDL durch Atorvastatin oder Simvastatin sowie durch verschieden Statin-Dosisregime untersucht.

Bei einem Großteil der Patienten konnten die Plasmalipide bei Aufnahme im Routinelabor bestimmt werden:

- Gesamtcholesterin: n = 111,
- LDL-Cholesterin: n = 108,
- HDL-Cholesterin: n = 109,
- TG: n = 111.

Bei 82 Patienten konnten die Serum MDA-LDL-Spiegel bestimmt werden. Diese wurden mit dem intrazellulären thrombozytärem oxLDL korreliert.

Die Basischarakteristika wurden der elektronischen Patientenakte entnommen. Die eingeschlossenen Patienten sind Teil der Tuebingen Platelet Investigative

Consortium (TuePIC)-Studie. Alle Patienten stimmten nach Aufklärung durch die behandelnden Kardiologen der Universität Tübingen der Studienteilnahme durch ihr schriftliches Einverständnis zu. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Universität Tübingen bewilligt (270/2011B01). Sie erfüllt die Bestimmungen der guten klinischen Praxis und der Deklaration von Helsinki [218-220].

3.2 Materialien

In Tabelle 5 sind die verwendeten Materialien zur Blutentnahme und – aufbereitung aufgeführt. Tabelle 6 listet die verwendeten Reagenzien und Antikörper zur oxLDL Messung auf. In Tabelle 7 sind die Geräte und Materialien zur Durchflusszytometrie zu finden. Es werden jeweils die Bezeichnungen und Hersteller aufgeführt. Tabelle 8 listet den Inhalt des verwendeten Malondialdehyde-Modified Low-Density-Lipoprotein ELISA Kit (Produktnummer: 447839) von SEKISUI Diagnostics auf.

Tabelle 5: Geräte und Materialien zur Blutentnahme und -aufbereitung

CPDA: Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin, LH: Lithium-Heparin

Bezeichnung	Hersteller
Safety-Multify-Set	Sarstedt AG & Co. KG
S-Monovetten 8,5 ml CPDA	Nümbrecht, Deutschland
S-Monovetten 9,0 ml LH	
Pipettenspitzen 200 µl	
Universal 32R V3.01 Zentrifuge	Hettich AG, Bäch, Schweiz
Pipette Research 100 - 1000 µl	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
Pipette Research 10 - 100 µl	
Pipette Research 0,5 - 10 µl	
Safe-Lock Tubes 1,5 ml + 0,5 ml	
Pipettenspitzen 100 - 1000 µl	Ratiolab GmbH, Dreieich, Deutschland
Pipettenspitzen 10 µl	Biozym Scientific GmbH, Oldendorf, Deutschland
ADIVA 1800 Clinical Chemistry Analyzer	Siemens Healthcare Diagnostics GmbH, Eschborn, Deutschland

Tabelle 6: Reagenzien und Antikörper zur thrombozytären, intrazellulären oxLDL Bestimmung

PBS: Phosphat-Buffered Saline, PE: Phycoerythrin, CD: Cluster of Differentiation, oxLDL: oxidiertes Low-Density-Lipoprotein, FITC: Fluoresceinisothiocyanat

Bezeichnung	Hersteller
Dulbecco's PBS 500 ml	Sigma-Aldich, Steinheim, Deutschland Bestell-Nr.: D8537-
Paraformaldehyd (PFA)	MERCK- Schuchardt Hohenbrunn, Deutschland Bestell-Nr.: 818715
Triton-X	Sigma-Aldich, Steinheim, Deutschland Bestell-Nr.: 9002-93-1
BD Pharmingen TM PE-Mouse Anti-Human CD42b	BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland Bestell-Nr.: 555473
anti-oxLDL-FITC-Antikörper	bio-ryt Limited, Cambridge, England Bestell-Nr: orb7681

Tabelle 7: Geräte und Materialien zur Durchflusszytometrie

FACS: Fluorescence Activated Cell Sorter

Bezeichnung	Hersteller
BD FACS Calibur TM Flow Cytometer	BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland
Analysesoftware: BD CellQuest TM Pro	
FACS Rinse	
FACS Clean	

Tabelle 8: Geräte und Materialien MDA-LDL ELISA

MDA-LDL: Malondialdehyd-modifiziertes Low-Density-Lipoprotein, mAK: monoklonaler Antikörper

Bezeichnung	Hersteller
anti-MDA-LDL mAk beschichtete Mikrotiterplatte	SEKUSI Diagnostics, Pfungstadt, Deutschland
Probenstabilisierungsreaganz, Saccharose, 50ml	
Verdünnungspuffer, Hapes, 100 ml	

Bezeichnung	Hersteller
Waschpuffer 100 ml	SEKUSI Diagnostics, Pfungstadt, Deutschland
β -Galactodiase-markierter anti- Apolipoprotein B mAK 11 ml	
Substrat o-Nitrophenol- β -D-Galactopyranosid 11 ml	
Natrium-Carbonat-Stopplösung 11 ml	
Human Serum Standard 0,5 ml	
Mircoplate Reader Model 550	Bio-Rad, Hercules, USA

3.3 Methoden

3.3.1 Thrombozytäre oxLDL-Analyse mittels Durchflusszytometrie

3.3.1.1 Durchflusszytometrie

Mittels Durchflusszytometrie können Zellen anhand unterschiedlicher Lichtstreuung, die durch ihre Größe, Form und Struktur bestimmt wird, identifiziert werden. Sie werden dazu an einem fokussierten Laser vorbeigeführt und analysiert. Es wird unterschieden zwischen Vorwärtsstreulicht (FSC) und Seitwärtsstreulicht (SSC). Das FSC wird durch das Volumen der Zellen bestimmt. Das SSC wird durch die Beschaffenheit des Zellkerns, der Zellgranularität sowie der Vesikelmenge beeinflusst. Oberflächenmoleküle können durch passende Fluoreszenzfarbstoff-markierte spezifische Antikörper sichtbar gemacht werden. In dieser Studie kamen dazu die Fluorochrome Phycoerythrin (PE) und Fluoresceinisothiocyanat (FITC) zum Einsatz. PE weist eine Absorption bei einer Wellenlänge von 492 nm sowie eine rote Emission bei 580 nm auf. Das Absorptionsmaximum von FITC liegt bei 488 nm Wellenlänge und besitzt eine grüne Emission bei 530 nm Wellenlänge. Die Identifikation von Thrombozyten aus der Gesamtmenge der Blutzellen erfolgte durch den Thrombozyten-spezifischen Marker Cluster of Differentiation 42b (CD42b) gegen GPIIb α . Dieser wurde dazu an PE gekoppelt. OxLDL wurde durch FITC-markierte spezifische Antikörper detektiert. Die anschließende Analyse geschah durch das Durchflusszytometer FACS CaliburTM Flow Cytometer 342975 von

Becton Dickinson Biosciences, Heidelberg, Germany (L. Laptev, persönliche Mitteilung).

3.3.1.2 Praktische Durchführung: intrazelluläre oxLDL-Detektion

Während der PCI wurde 151 KHK-Patienten 8,5 ml arterielles Vollblut mittels einer Spritze in Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin-Monovetten (CPDA) abgenommen. Zur Färbung wurde die Zweifarben-Vollblutmethode angewandt [221]. 20 µl Vollblut wurde mit 980 µl phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) im Verhältnis 1:50 verdünnt. Es wurden jeweils 100 µl des vorverdünnten Blutes in FACS-Röhrchen pipettiert und dazu je 100 µl 2%iges Paraformaldehyd (PFA) gegeben. Die Proben wurden bei Raumtemperatur 20 Minuten inkubiert. Zum Permeabilisieren wurde in jedes Röhrchen 50 µl 0,3 % Triton X-100 gegeben und nochmals für 10 Minuten inkubiert, um die Oberfläche der Thrombozyten auf die spätere Antikörperbindung vorzubereiten. In jedes FACS-Röhrchen wurde erneut 3 ml PBS hinzugegeben. Die Röhrchen wurden 5 Minuten bei 3100 rpm zentrifugiert. Der obere Anteil des Zentrifugats wurde vorsichtig abgegossen. Der verbliebene Inhalt wurde mit 40 µl PBS resuspendiert. Zur Detektion von oxLDL wurden 5 µl anti-oxLDL-FITC-Antikörper sowie 5 µl CD42b-PE-Antikörper hinzugegeben. Danach erfolgte die Inkubation der Röhrchen für 30 Minuten bei Dunkelheit und Raumtemperatur. Die Reaktion wurde durch die Zugabe von 300 µl PBS gestoppt. (L. Laptev, persönliche Mitteilung).

Die anschließende Analyse erfolgte durch das Durchflusszytometer FACS Calibur™ Flow Cytometer 342975 von Becton Dickinson Biosciences, Heidelberg, Germany. Die Ergebnisse wurden mittels eines Dot-Plot-Diagramms dargestellt. Die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) korrelierte mit der Sichtbarkeit der gesuchten Strukturen. Sie wurde als Einheit der oxLDL-Expression verwendet. Um die mit CD42b-PE-Antikörper identifizierten Thrombozyten wurde ein Gate gelegt und nur dieser Bereich näher betrachtet. Dort konnte die durch FITC-markierten-Antikörper sichtbar gemachte oxLDL-Expression quantitativ dargestellt werden.

3.3.2 MDA-LDL ELISA

3.3.2.1 ELISA

ELISA (enzym-linked immunosorbent assay) ist ein immunologisches Nachweisverfahren, mit dem Antikörperkonzentrationen mittels einer Farbreaktion quantitativ dargestellt werden können. Ein spezifisches Antigen wird auf einer Mikrotiterplatte gebunden. Die Probe mit dem gesuchten Antikörper wird hinzugegeben und bindet spezifisch an das Antigen. Ein zweiter enzymmarkierter Antikörper bindet spezifisch an den gesuchten Antikörper. Das zugegebene Substrat wird durch das antikörpergebundene Enzym farblich umgesetzt. Durch Vergleichsreihen kann mittels der Farbreaktion die Menge des gesuchten Antikörpers ermittelt werden. Die erstmaligen Bestimmungen von MDA-LDL geschahen unabhängig voneinander 1987 durch Salmon et al. [222] und 1994 durch Kotani et al. [223], die anti-MDA-LDL- und anti-Apo-B-Antikörper in ihren ELISAs verwendeten, um spezifisch MDA-LDL nachzuweisen.

3.3.2.2 Praktische Durchführung: MDA-LDL ELISA

Zur Bestimmung des MDA-LDL wurde das Malondialdehyde Low-Density Lipoprotein (MDA-LDL) ELISA Kit (Produktnummer: 447839) von SEKISUI Diagnostics verwendet. Das Verfahren basiert auf einem Sandwich-ELISA.

Die Proben wurden in Serum-Monovetten abgenommen. Zur Durchführung wurde Serum verwendet welches bis zur Analyse bei – 80 Grad Celsius gelagert wurde. Das Serum wurde mit dem Verdünnungspuffer bis zum Verdünnungsgrad 1:2000 verdünnt. Durch Verdünnung der Probe wurde die Oberfläche des MDA-LDL auf die spätere Antikörperbindung vorbereitet. Es folgte eine einstündige Inkubation bei Zimmertemperatur. Es wurden je 100 µl Probe in die Vertiefungen einer mit anti-MDA-LDL monoklonalen Antikörpern beschichteten Mikrotiterplatte pipettiert. Die Proben wurden mit Folie abgedeckt. Es folgte eine zweistündige Inkubation bei Zimmertemperatur. Nun wurden die Proben aus den Vertiefungen entfernt und mit 300 µl Waschpuffer viermal gewaschen. Die Platte wurde danach zum Trocknen umgekehrt auf ein Papiertuch geklopft. Nun wurden je 100 µl monoklonaler β -Galactosidase-markierter anti-Apolipoprotein B Antikörper in die Vertiefungen pipettiert, mit Folie abgedeckt und eine Stunde bei Zimmertemperatur inkubiert. Es folgte ein

erneutes Waschen. 100 µl Substrat wurden in die Vertiefungen gegeben, abgedeckt und bei Raumtemperatur zwei Stunden inkubiert. Die Reaktion wurde durch 100 µl Stopplösung gestoppt. Mittels Spektralphotometer (Microplate Reader Model 550 Bio-Rad, Hercules, USA) wurde die Extinktion bei 450 nm Wellenlänge gemessen. Die gemessenen Extinktionswerte sind zur MDA-LDL-Menge (U/l) der Probe direkt proportional.

3.3.3 Plasmalipide

Bei Klinikaufnahme wurde den Patienten aus einer peripheren Vene Vollblut in Lithium-Heparin-Röhrchen abgenommen. Die Werte für Gesamtcholesterin, LDL, HDL und TG wurden durch den ADIVA 1800 Clinical Chemistry Analyzer von Siemens im Zentrallabor des Universitätsklinikums Tübingen bestimmt.

3.3.4 Statistische Analyse

Alle klinischen Daten wurden mit dem Programm SPSS Version 21.0 (SPSS Inc., Chicago IL) analysiert.

Nominal- und ordinalskalierte Variablen wurden als Häufigkeiten sowie in Prozentwerten angeführt. oxLDL-Werte größer bzw. kleiner als der Median und kategoriale Variablen wurden in Kreuztabellen verglichen und durch den Chi-Quadrat-Test nach Pearson auf ihre Signifikanz untersucht. Metrische Daten sind als Mittelwerte \pm Standardabweichung (SD) angegeben. Die Mittelwerte wurden mittels T-Test für unabhängige Stichproben verglichen. Für die gemessenen oxLDL- und MDA-LDL-Spiegel, wurden der Median mit dem 25 %- und 75 %-Quartil angegeben.

Korrelationsanalysen von nicht-normalverteilten Daten wurden durch den Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten (ρ) berechnet. Die medianen oxLDL-Werte wurden mittels des Mann-Whitney-U-Tests verglichen. Der Kruskal-Wallis-Test diente dem Vergleich von oxLDL-Spiegeln zwischen den Gruppen, die unterschiedlich hohe Statin-Dosen erhielten.

Das Signifikanzniveau wird mit $p \leq 0,05$ festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Basischarakteristika des Patientenkollektivs

In dieser Studie wurde 151 Patienten mit symptomatischer KHK während PCI Vollblut entnommen. Mittels durchflusszytometrischer Verfahren wurden die intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel bestimmt. Per ELISA wurde das zirkulatorische MDA-LDL im Serum bestimmt. Die demographischen Daten der gesamten Kohorte sind in Tabelle 9 dargestellt. Die Basischarakteristika des Patientenkollektivs (n = 151) mit oxLDL-Spiegel > Median (n = 74), verglichen mit oxLDL-Spiegel ≤ Median (n = 77), sind in Tabelle 10 aufgelistet. Es werden Geschlecht, Alter, LVEF, Troponin, kardiovaskuläre Risikofaktoren, Medikation bei Aufnahme sowie die beiden Gruppen stabile KHK und Myokardinfarkt dargestellt.

Tabelle 9: Basischarakteristika der Studienteilnehmer (n = 151).

Kategorische¹ Daten werden als absolute- und prozentuale Häufigkeiten dargestellt, metrische² als Mittelwerte ± SD. LVEF: linksventrikuläre Ejektionsfraktion, CVRF: kardiovaskuläre Risikofaktoren, GFR: Glomeruläre Filtrationsrate, CRP: C-reaktives Protein, TG: Triacylglycerin, LDL: Low-Density-Lipoprotein, HDL: High-Density-Lipoprotein, ASS: Acetylsalicylsäure, ACE: Angiotensin Converting Enzyme, AT-1: Angiotensin-1, Inegy: 10 mg Ezetimib + 40 mg Simvastatin, KHK: koronare Herzkrankheit, Doppelte Plättchenhemmung: ASS + Clopidogrel oder ASS + Prasugrel oder ASS + Ticagrelor

Charakteristik	Patienten (n = 151)
Männlich ¹ n (%)	102 (68)
Weiblich ¹ n (%)	49 (32)
Alter ² (Jahre)	69,97 (± 12,30)
LVEF ² (%)	50,26 (± 11,00)
Troponin ² (ng/ml)	14,15 (± 61,63)
CVRF	
Arterielle Hypertension ¹ n (%)	132 (87)
Hyperlipidämie ¹ n (%)	94 (62)
Diabetes mellitus ¹ n (%)	56 (37)
Nikotinabusus ¹ n (%)	21 (14)
Nierenfunktion ² (GFR)	71,77 (± 32,93)
CRP ² (mg/dl)	1,44 (± 2,70)

TG ² (mg/dl)	152,68 (± 77,01)
LDL ² (mg/dl)	95,25 (± 41,41)
HDL ² (mg/dl)	45,86 (± 12,12)
Gesamtcholesterin ² (mg/dl)	166,50 (± 38,38)
Medikation bei Aufnahme	
ASS ¹ n (%)	76 (50)
Clopidogrel ¹ n (%)	29 (19)
Prasugrel ¹ n (%)	11 (7)
Ticagrelor ¹ n (%)	13 (9)
Duale Plättchenhemmung ¹ n (%)	41 (27)
Orale Antikoagulation ¹ n (%)	19 (13)
ACE-Hemmer ¹ n (%)	73 (48)
AT1-Rezeptorblocker ¹ n (%)	32 (21)
Betablocker ¹ n (%)	99 (66)
Statine ¹ n (%)	84 (56)
Simvastatin ¹ n (%)	43 (28)
Atorvastatin ¹ n (%)	37 (25)
Pravastatin ¹ n (%)	1 (1)
Fluvastatin ¹ n (%)	2 (1)
Inegy ¹ n (%)	1 (1)
Gruppen	
Myokardinfarkt ¹ n (%)	57 (38)
Stabile KHK ¹ n (%)	94 (62)

Tabelle 10: Basischarakteristika der Studienteilnehmer (n = 151) mit oxLDL-Spiegel > Median verglichen mit oxLDL-Spiegel ≤ Median

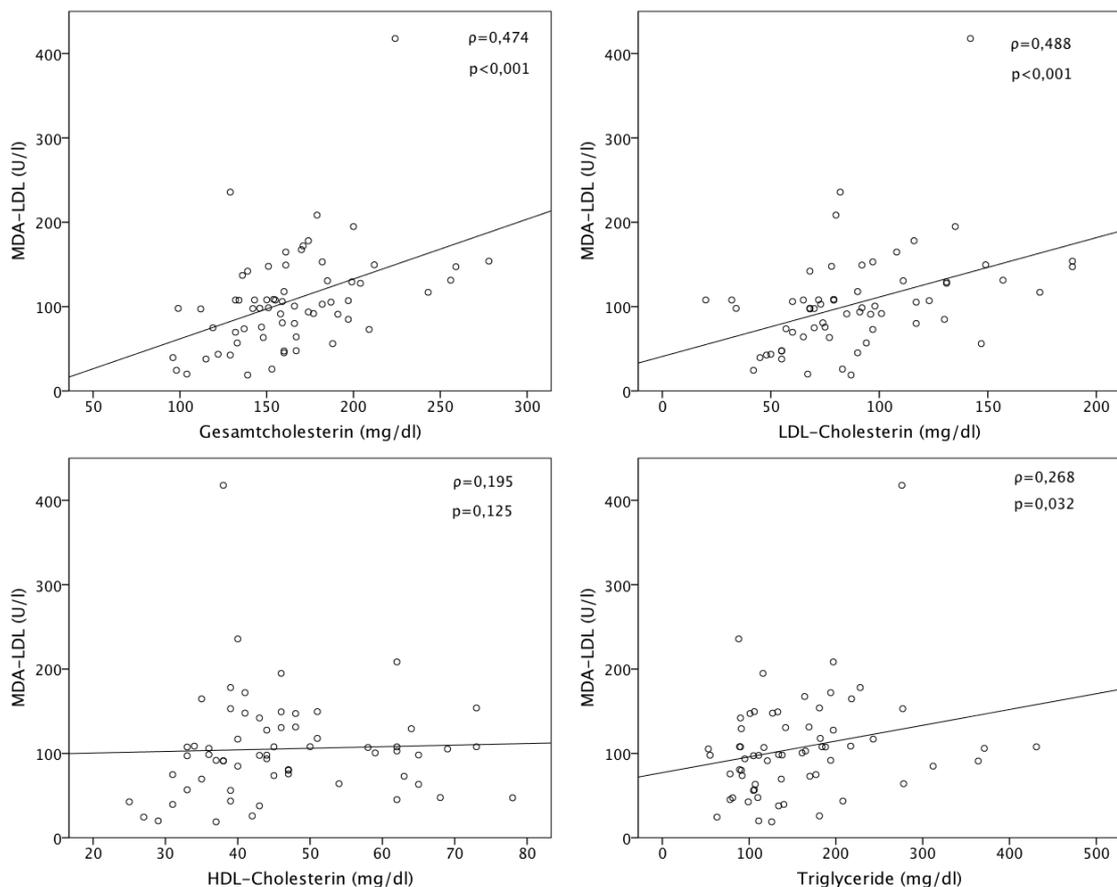
Kategorische¹ Daten werden als absolute- und prozentuale Häufigkeiten dargestellt, metrische² als Mittelwerte ± SD. LVEF: linksventrikuläre Ejektionsfraktion, CVRF: kardiovaskuläre Risikofaktoren, GFR: Glomeruläre Filtrationsrate, CRP: C-reaktives Protein, TG: Triacylglycerin, LDL: Low-Density-Lipoprotein, HDL: High-Density-Lipoprotein, MDA-LDL: Malondialdehyd-modifiziertes-LDL, ASS: Acetylsalicylsäure, ACE: Angiotensin Converting Enzyme, AT-1: Angiotensin-1, KHK: koronare Herzkrankheit, Doppelte Plättchenhemmung: ASS + Clopidogrel oder ASS + Prasugrel oder ASS + Ticagrelor. Signifikante Werte sind fett gedruckt dargestellt.

Charakteristik	oxLDL > Median (n = 74)	oxLDL ≤ Median (n = 77)	P (Signifikanz)
Männlich ¹ n (%)	46 (62)	56 (73)	0,166
Weiblich ¹ n (%)	28 (38)	21 (27)	
Alter ² (Jahre)	70,16 (± 12,28)	69,79 (± 12,41)	0,854
LVEF ² (%)	49,41 (± 11,21)	51,09 (± 10,81)	0,348
Troponin ² (ng/ml)	12,56 (± 86,20)	15,60 (± 27,58)	0,819
CVRF			
Arterielle Hypertension ¹ n (%)	67 (91)	65 (84)	0,134
Hyperlipidämie ¹ n (%)	47 (64)	47 (61)	0,592
Diabetes mellitus ¹ n (%)	27 (36)	29 (38)	0,888
Nikotinabusus ¹ n (%)	8 (11)	13 (17)	0,281
Nierenfunktion ² (GFR)	71,77 (± 29,62)	71,77 (± 36,10)	0,999
CRP ² (mg/dl)	1,19 (± 1,89)	1,66 (± 3,22)	0,383
TG ² (mg/dl)	159,56 (± 82,51)	145,54 (± 70,81)	0,158
LDL ² (mg/dl)	94,98 (± 41,52)	95,55 (± 41,70)	0,944
HDL ² (mg/dl)	48,19 (± 12,61)	43,31 (± 13,60)	0,035

Gesamtcholesterin ² (mg/dl)	171,53 (± 41,13)	161,20 (± 34,84)	0,292
MDA-LDL ² (U/l)	101,40 (± 68,55)	112,29 (± 46,21)	0,408
Medikation bei Aufnahme			
ASS ¹ n (%)	42 (57)	34 (44)	0,123
Clopidogrel ¹ n (%)	16 (22)	13 (17)	0,590
Prasugrel ¹ n (%)	8 (11)	3 (4)	0,128
Ticagrelor ¹ n (%)	7 (9)	6 (8)	0,814
Duale Plättchenhemmung ¹ n (%)	25 (34)	16 (21)	0,116
Orale Antikoagulation ¹ n (%)	10 (14)	9 (12)	0,137
ACE-Hemmer ¹ n (%)	49 (66)	34 (44)	0,560
AT1-Rezeptorblocker ¹ n (%)	16 (22)	16 (21)	0,924
Betablocker ¹ n (%)	52 (70)	47 (61)	0,495
Statine ¹ n (%)	40 (54)	44 (57)	0,356
Simvastatin ¹ n (%)	22 (29)	21 (26)	0,946
Atorvastatin ¹ n (%)	17 (23)	20 (26)	0,495
Gruppen			
Myokardinfarkt ¹ n (%)	25 (34)	32 (42)	0,325
Stabile KHK ¹ n (%)	49 (66)	45 (58)	

4.2 Korrelation zwischen Malondialdehyd-modifiziertem-LDL und Plasmalipiden

Es wurde geprüft, ob Korrelationen zwischen MDA-LDL (U/l) und Plasmalipiden (mg/dl) mit Gesamtcholesterin (n = 65), LDL-Cholesterin (n = 62), HDL-Cholesterin (n = 63) und TG (n = 64) vorlagen. Es konnten signifikante Assoziationen zwischen zirkulatorischen MDA-LDL-Spiegeln und Plasmaspiegel für Gesamtcholesterin ($\rho = 0,474$, $p < 0,001$), LDL-Cholesterin ($\rho = 0,488$, $p < 0,001$) und Triglyceride ($\rho = 0,268$, $p = 0,032$) gefunden werden. MDA-LDL und HDL-Cholesterin zeigten keine statistisch signifikante Korrelation ($\rho = 0,195$, $p = 0,125$). Abbildung 1 stellt die Ergebnisse graphisch dar.

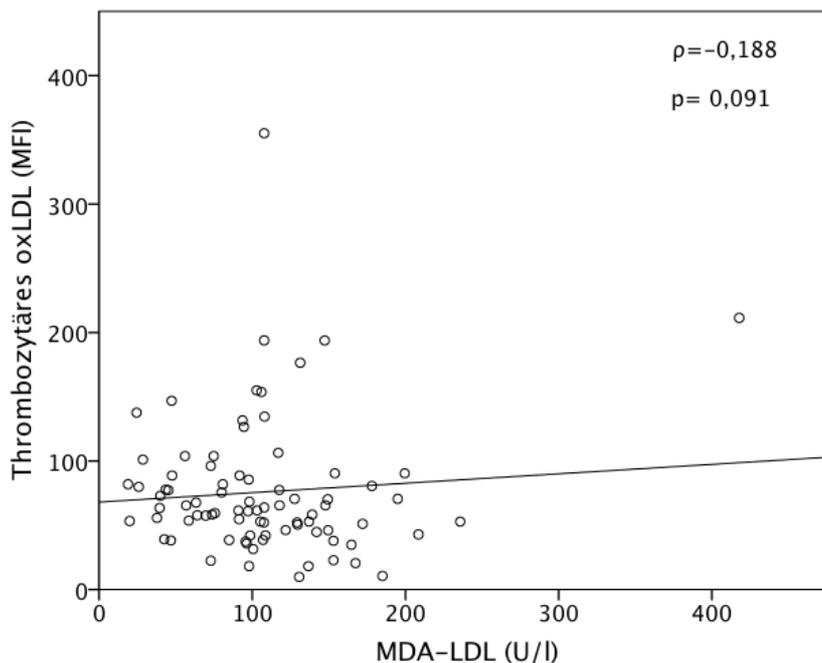


MDA-LDL: Malondialdehyd-modifiziertes-Low-Density-Lipoprotein, LDL: Low-Density-Lipoprotein, HDL: High-Density-Lipoprotein, ρ : Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten.

Abbildung 1: Korrelation zwischen Serum MDA-LDL (U/l) und Gesamtcholesterin (mg/dl) (n = 65), LDL-Cholesterin (mg/dl) (n = 62), HDL-Cholesterin (mg/dl) (n = 63) und Triglyceriden (mg/dl) (n = 64), angegeben durch den Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten (ρ).

4.3 Korrelation zwischen thrombozytärem oxLDL und Malondialdehyd-modifiziertem-LDL

Die Korrelation zwischen intrazellulären thrombozytärem oxLDL (MFI) und zirkulatorischem MDA-LDL (U/l) konnte bei 82 Patienten geprüft werden. Es wurde keine statistisch signifikante Korrelation nachgewiesen ($\rho = -0,188$, $p = 0,091$). Abbildung 2 stellt dies grafisch dar.



MFI: Mittlere Fluoreszenzintensität, oxLDL: oxidiertes Low-Density-Lipoprotein, MDA-LDL: Malondialdehyd-modifiziertes-LDL, ρ : Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten.

Abbildung 2: Korrelation zwischen thrombozytärem oxLDL-Spiegel (MFI) und MDA-LDL (U/l) ($n = 82$), angegeben durch den Spearman-Rangkorrelationskoeffizienten (ρ).

4.4 Einfluss medikamentöser Therapie auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel

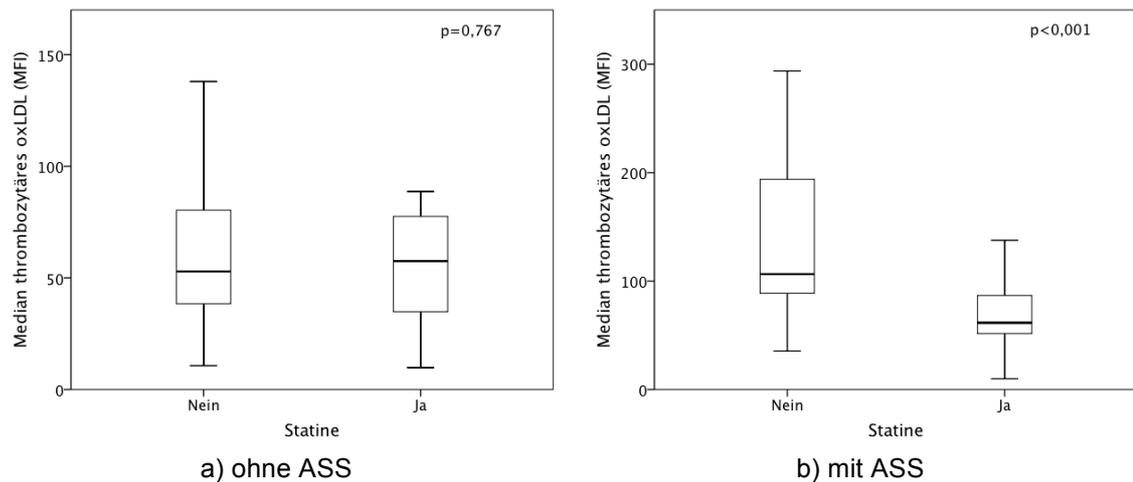
Eine alleinige Statin-Therapie ($n = 29^*$; mediane oxLDL-MFI: 57,5 [25 %-75 %-Perzentile: 29,8/78,4]) verglichen mit der Gruppe ohne Statin oder ASS ($n = 35$; mediane oxLDL-MFI: 52,9 [25 %-75 %-Perzentile: 38,2/80,6]) konnte den intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel nicht signifikant beeinflussen ($p = 0,767$). Abbildung 3 a veranschaulicht dies.

(* $n = 17$ Simvastatin, $n = 9$ Atorvastatin, $n = 1$ Pravastatin, $n = 1$ Fluvastatin $n = 1$ Simvastatin + Ezetimib, jegliche Dosierungen).

Die Kombination aus Statin- und ASS-Therapie ($n = 55^*$; mediane oxLDL-MFI: 61,5 [25 %-75 %-Perzentile: 50,2/96,8]) verursachte hingegen eine

signifikante Abnahme des intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegels, verglichen mit den Patienten, die ASS erhielten ($n = 17$; mediane oxLDL-MFI: 106,4 [25 %-75 %-Perzentile: 79,7/202,7]); ($p < 0,001$). Dies ist in Abbildung 3 b grafisch dargestellt.

(* $n = 26$ Simvastatin, $n = 28$ Atorvastatin, $n = 1$ Fluvastatin, jegliche Dosierungen).



oxLDL: oxidiertes Low-Density-Lipoprotein, MFI: Mittlere Fluoreszenzintensität, ASS: Acetylsalicylsäure

Abbildung 3: Vergleich der thrombozytären oxLDL-Spiegel (MFI) zwischen Patienten, die a) keine ASS oder Statin ($n = 35$) und Statin ($n = 29$) erhielten und b) ASS ($n = 17$) und ASS + Statin ($n = 55$) erhielten.

4.5 Einfluss medikamentöser Therapie auf das Malondialdehyd-modifizierte-LDL

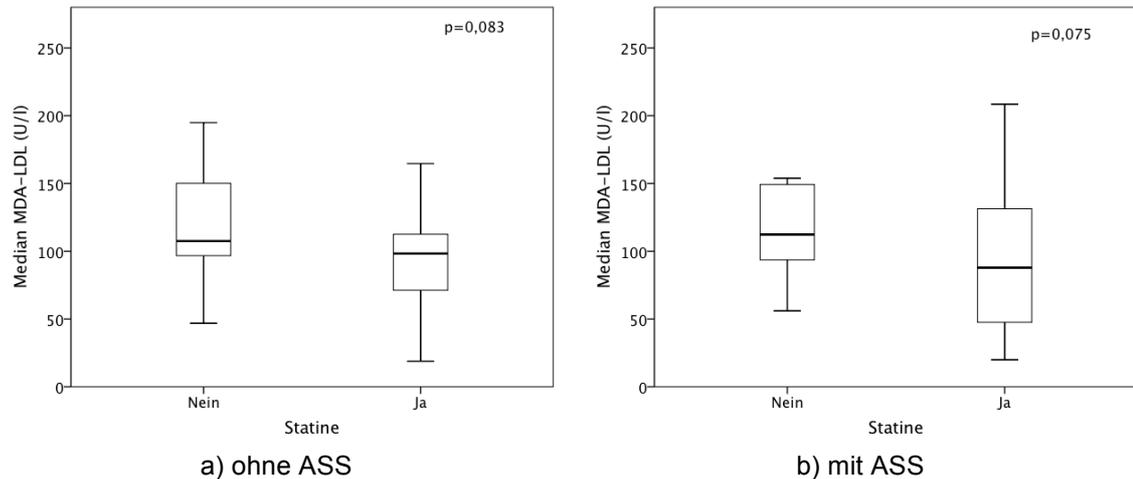
Eine alleinige Statin-Therapie ($n = 16^*$; MDA-LDL (U/l) Median: 98,4 [25 %-75 %-Perzentile 70,4/115,1]) konnte den MDA-LDL-Spiegel nicht signifikant beeinflussen, verglichen mit der Gruppe ohne Statin oder ASS ($n = 16$; MDA-LDL (U/l) Median: 107,5 [25 %-75 %-Perzentile 96,2/151,6]), ($p = 0,083$). Abbildung 4 a veranschaulicht den Vergleich.

(* $n = 11$ Simvastatin, $n = 4$ Atorvastatin, $n = 1$ Simvastatin + Ezetimib, jegliche Dosierungen).

Die Kombination aus Statin- und ASS-Therapie ($n = 30^*$; MDA-LDL (U/l) Median: 87,9 [25 %-75 %-Perzentile: 47,6/132,7]) bewirkte keine signifikante Abnahme des MDA-LDL-Spiegels, verglichen mit den Patienten, die ASS erhielten ($n = 10$; MDA-LDL (U/l) Median: 112,3 [25 %-75 %-

Perzentile: 88,5/150,4]); ($p = 0,075$). In Abbildung 4 b ist dies grafisch verdeutlicht.

(* $n = 14$ Simvastatin, $n = 15$ Atorvastatin, $n = 1$ Fluvastatin, jegliche Dosierungen).

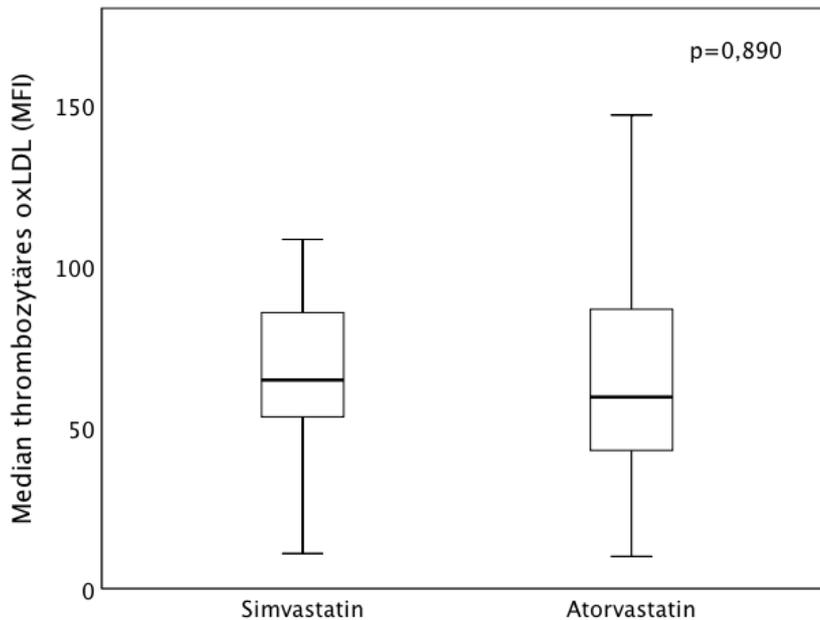


MDA-LDL: Malondialdehyd-modifiziertes-Low-Density-Lipoprotein, ASS: Acetylsalicylsäure

Abbildung 4: Vergleich der MDA-LDL-Spiegel (U/l) zwischen Patienten, die a) kein ASS oder Statin ($n = 16$) und ein Statin ($n = 16$) erhielten und b) ASS ($n = 10$) und ASS + Statin ($n = 30$) erhielten.

4.6 Einfluss von Simvastatin im Vergleich zu Atorvastatin auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel

Patienten, welche die Medikamentenkombination aus Statin und ASS erhielten, zeigten keinen signifikanten Unterschied des thrombozytären oxLDL-Spiegels (MFI) in den Statingruppen Atorvastatin oder Simvastatin (jegliche Dosierungen); ($p = 0,890$). Die mediane oxLDL-MFI für $n = 26$ Patienten, welche Simvastatin und ASS erhielten, betrug 64,7 (25 %-75 %-Perzentile: 53,2/85,9). Die mediane oxLDL-MFI der $n = 28$ Patienten, die Atorvastatin und ASS erhielten, betrug 60,2 (25 %-75 %-Perzentile: 43,7/90,0). Die graphische Darstellung dieser Ergebnisse ist Abbildung 5 zu entnehmen.



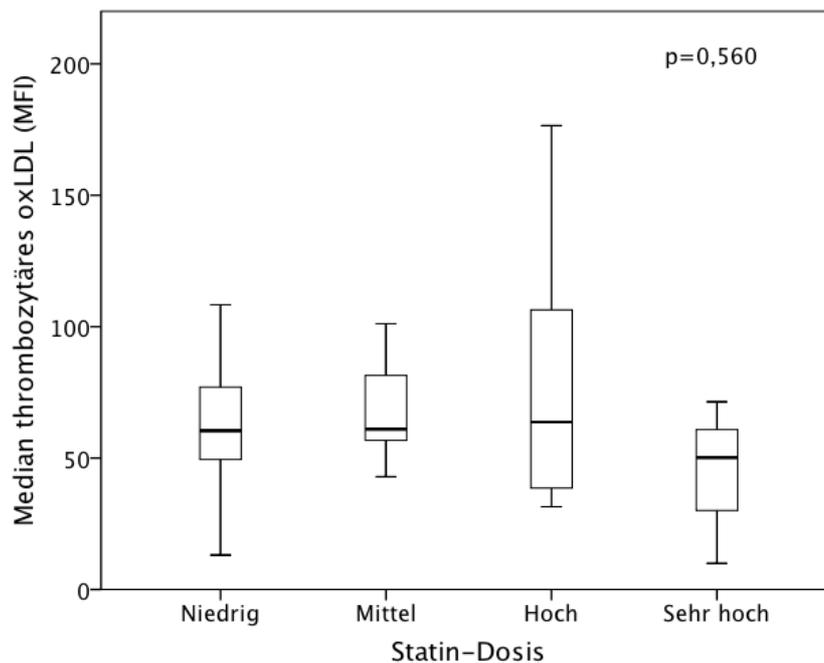
oxLDL: oxidiertes Low-Density-Lipoprotein, MFI: Mittlere Fluoreszenzintensität

Abbildung 5: Vergleich der thrombozytären oxLDL-Spiegel (MFI) zwischen Patienten mit der Medikationskombination Simvastatin + ASS (n = 26) und Atorvastatin + ASS (n = 28).

4.7 Einfluss unterschiedlicher Statindosen auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel

Die thrombozytären oxLDL-Spiegel (MFI) wurden nicht signifikant durch die Höhe der Statindosis beeinflusst. Der Median für das thrombozytäre oxLDL (MFI) betrug 60,4 für die niedrige Dosis, 61,0 für die mittlere Dosis, 63,7 für die hohe Dosis und 50,2 für die sehr hohe Dosis (p = 0,560).

In Abbildung 6 wird der Vergleich zwischen unterschiedlich hohen Statindosen, innerhalb der Gruppe die ASS + Statin einnahmen, graphisch veranschaulicht. Niedrige Statindosen waren definiert als 10 mg bis 20 mg Simvastatin oder 20 mg Fluvastatin (n = 16), mittlere Statindosen als 40 mg Simvastatin oder 20 mg Atorvastatin (n = 19), hohe Statindosen als 80 mg Simvastatin oder 40 mg Atorvastatin (n = 17) und sehr hohe Statindosen als 80 mg Atorvastatin (n = 3).



oxLDL: oxidiertes Low-Density-Lipoprotein, MFI: Mittlere Fluoreszenzintensität

Abbildung 6: Vergleich der thrombozytären oxLDL-Spiegel (MFI) bei Patienten mit unterschiedlich hohen Statindosen und ASS. Niedrige Statindosen: 10 mg - 20 mg Simvastatin oder 20 mg Fluvastatin (n = 16), mittlere Statindosen: 40 mg Simvastatin oder 20 mg Atorvastatin (n = 19), hohe Statindosen: Simvastatin 80 mg oder Atorvastatin 40 mg (n = 17), sehr hohe Statindosen: 80 mg Atorvastatin (n = 3).

5 Diskussion

In dieser Studie wurde 151 Patienten mit symptomatischer KHK während der PCI Vollblut entnommen und mittels durchflusszyometrischer Verfahren die intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel bestimmt.

Das wesentliche Ergebnis dieser Studie war, dass die Kombination aus Statin- und ASS-Therapie einen signifikanten Einfluss auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel hatte. Thrombozytäre oxLDL-Spiegel unterschieden sich signifikant bei Patienten, die eine Kombination aus Statin- und ASS-Therapie erhielten, im Vergleich zu Patienten mit alleiniger ASS-Therapie. Eine alleinige Statin-Therapie, ohne die Kombination mit ASS, hatte keinen Einfluss auf die oxLDL-Spiegel der Thrombozyten.

5.1 Diskussion der Methoden

5.1.1 Patientenkollektiv

Das untersuchte Kollektiv bestand aus 151 Patienten der Abteilung für Innere Medizin III - Kardiologie und Herz-Kreislaufkrankungen der Universitätsklinik Tübingen, die an symptomatischer KHK litten. Die korrekte Einordnung in stabile KHK (n = 94) [13] sowie ACS (n = 57) [41, 61] erfolgte durch die Kardiologen der Universitätsklinik Tübingen anhand von etablierten Richtlinien der ESC. 62,25 % der Patienten litten an stabiler KHK, 37,74 % präsentierten sich mit einem ACS. Alle Patienten erhielten eine PCI, in der die KHK angiographisch bestätigt wurde. Eine Fehldiagnose konnte so vermieden werden.

Von den insgesamt 151 Patienten waren 102 (67,55 %) männlich und 49 (32,45 %) weiblich. Dieser Anteil entspricht den in der Literatur zu KHK-Patienten publizierten Zahlen. So lagen in Studien mit vergleichbaren Patientenkollektiven die Anteile der weiblichen Patienten zwischen 25,58 und 38,29 % und die der männlichen zwischen 61,42 und 74,42 % [201, 216, 224]. Eine Studie mit großer Fallzahl von 7998 KHK-Patienten (24,4 % weiblich) [225] bestätigt das Geschlechterverhältnis der vorliegenden Untersuchung. Poon et al. beschrieben, dass Frauen seltener eine PCI erhielten und häufiger konservativ behandelt wurden [226]. Eine andere Studie konnte dies bestätigen. Sie verwies auf die stereotypische Annahme, dass

KHK-Patienten eher männlich seien, was die Therapieentscheidung beeinflusste [227]. Dieser Sachverhalt könnte sich auf die Geschlechterverteilung im Kollektiv der vorliegenden Studie ausgewirkt haben.

Da es sich um ein Kollektiv aus Patienten mit symptomatischer KHK handelte, standen bereits viele unter medikamentöser Therapie. Die in der vorliegenden Arbeit ermittelten Angaben zu den Aufnahmemedikationen der KHK-Patienten sind vergleichbar mit denen ähnlicher Studien [216, 217]. Im vorliegenden Kollektiv nahmen 50,33 % der Patienten ASS ein. Dies lässt sich dadurch erklären, dass einige Patienten mit erstmaligem ACS und andere mit stabiler KHK aufgenommen wurden. Die ESC empfiehlt, alle Patienten mit stabiler KHK sowie ACS dauerhaft mit niedrigdosiertem ASS zu behandeln [13, 41, 61]. Durch die tägliche Einnahme von ASS kann bei KHK-Patienten eine jährliche Risikoreduktion um etwa 25 % für schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse erreicht werden [228, 229]. Ähnliches gilt für Statin- und ACE-Hemmer-Therapie. Die Behandlung mit diesen Medikamenten ist laut ESC-Leitlinie im Sinne der Sekundärprävention bei KHK-Patienten indiziert [13, 41, 61].

Der durchschnittlichen LDL-Spiegel des vorliegenden Kollektivs war mit 95,25 mg/dl höher als der für KHK-Patienten geforderte Wert der ESC-Leitlinie zum Management von Dyslipidämie von < 70 mg/dl [170]. Allerdings nahmen bei Aufnahme auch nur etwas mehr als die Hälfte der Patienten (56 %) Statine ein. Dies ist ebenfalls dadurch erklärbar, dass einige Patienten mit KHK-Erstmanifestation aufgenommen wurden.

Zusammenfassend stellen die Patienten der vorliegenden Studie ein repräsentatives Kollektiv aus KHK-Patienten dar, deren Charakteristika analog in vergleichbaren Studien zu finden sind [201, 216, 217, 224].

Die Basischarakteristika wurden der elektronischen Patientenakte entnommen. Diese Angaben wurden zweimalig überprüft. Um mögliche Fehler zu vermeiden, wurden bei Unklarheit oder fehlenden Informationen die niedergelassenen Kardiologen und Hausärzte kontaktiert. Der einheitliche Blutentnahmeprozess während der PCI garantierte gleiche Verhältnisse bei der Probengewinnung.

5.1.2 Thrombozytäre oxLDL-Analyse mittels Durchflusszytometrie

Die Identifikation von Thrombozyten aus der Gesamtmenge der Blutzellen erfolgte durch den Thrombozyten-spezifischen Marker Cluster of Differentiation 42b (CD42b) gegen GPIIb/IIIa. Intrazelluläres oxLDL wurde durchflusszytometrisch durch FITC-markierte spezifische Antikörper detektiert. Als Teil des von-Willebrand-Faktor-Rezeptors eignet sich CD42b zur Detektion von Thrombozyten [73]. Die Durchflusszytometrie zur Untersuchung von Thrombozyten ist ein generell etabliertes und zuverlässiges Verfahren [221, 230], womit zur Qualität der vorliegenden Studie beigetragen wird.

Exakte Laborprotokolle und ein standardisiertes Vorgehen garantierten die Vergleichbarkeit der Messungen. Die mögliche Gefahr der Probenverwechslung bei den Messungen wurde in der vorliegenden Studie durch sorgfältiges Arbeiten und genaue Probenbeschriftung mit Pseudonymisierung möglichst verhindert.

Die Labore der Universität Tübingen (Abteilung für Innere Medizin III) verfügen über eine große Erfahrung bei der Bestimmung von thrombozytären oxLDL-Spiegeln. Systemische Fehler sind allerdings nie vollständig auszuschließen, wurden aber durch die vorhandene Expertise minimiert.

5.1.3 MDA-LDL-Messung mittels ELISA

Bei ELISA handelt es sich um ein laboratorisches Basisverfahren, für das in den Laboren der Universität Tübingen (Abteilung für Innere Medizin III) eine hohe Expertise herrscht. Die Methode wurde unabhängig voneinander bereits 1987 durch Salmon et al. [222] und 1994 durch Kotani et al. [223] entwickelt. Beide verwendeten einen anti-MDA-LDL- sowie einen anti-Apo-B-Antikörper, um MDA-LDL spezifisch nachzuweisen [222, 223]. Die Qualität der Messung wurde in der vorliegenden Studie durch genaue Protokolle sowie die langjährige Erfahrung auf diesem Gebiet gewährleistet.

5.1.4 Plasmalipide

Bei einem Großteil der Patienten wurden die Plasmalipide bei Klinikaufnahme bestimmt (Gesamtcholesterin: n = 111, LDL-Cholesterin: n = 108, HDL-Cholesterin: n = 109, TG: n = 111). Retrospektiv konnten nicht von allen Patienten alle Lipidparameter der elektronischen Patientenakte entnommen

werden. Lange Zeit wurden die Lipidmarker am nüchternen Patienten abgenommen und bestimmt. Es wurde nachgewiesen, dass diese weniger stark vom Nüchternstatus abhängig sind, als bisher vermutet. Am stärksten sind die TG von Nahrungsaufnahme beeinflusst [174-176]. Aufgrund der vergleichbaren Werte erlaubt die neue Leitlinie der ESC (2016) zum Management von Dyslipidämie eine Abnahme in nicht-nüchternem Zustand. Allerdings gilt dies nur für Screening-Zwecke [170, 172]. Hinsichtlich der Tageszeit, der Stauungszeit sowie des Nüchternstatus konnten für die vorliegende Studie keine einheitlichen Abnahmebedingungen gewährleistet werden. Dies ist durch die Tatsache zu erklären, dass einige Patienten notfallmäßig und andere planmäßig die PCI erhielten, was sich negativ auf die Vergleichbarkeit der Lipidparameter ausgewirkt haben könnte. Alle Proben wurden einheitlich im Zentrallabor der Universität Tübingen analysiert. Dieses unterliegt hohen Standards und garantierte eine hohe Zuverlässigkeit der Ergebnisse.

5.2 Diskussion der Ergebnisse

Thrombozyten spielen durch ihre Interaktion mit Lipiden eine entscheidende Rolle in der Atheroskleroseentwicklung und bei der Entstehung koronarer Plaques [196-199]. Sie sind fähig, Lipide aus dem Plasma aufzunehmen und diese intrazellulär enzymatisch und oxidativ zu modifizieren [207-209]. Vor allem bei Patienten, die an Hyperlipidämie leiden, produzieren die Thrombozyten verstärkt ROS und oxLDL [207]. Chatterjee et al. beschrieben, dass Thrombozyten zwar aktiv Lipide aus dem Plasma aufnehmen, ihr Lipidprofil dennoch unabhängig von diesem ist. Besonders interessant ist die Erkenntnis, dass dieser Prozess durch die Chemokine CXCL12, CXCR4 und CXCR7 beeinflusst wird [209]. Das Verständnis für die dynamischen Zusammenhänge zwischen Thrombozyten und ihrer Interaktion mit Plasmalipiden sowie deren klinischer Auswirkung bei KHK ist derzeit noch gering. Jedoch ist bekannt, dass ACS-Patienten signifikant höhere intrazelluläre und oberflächlich gebundene thrombozytäre oxLDL-Spiegel besitzen als Patienten mit stabiler KHK [201, 209]. Patienten mit angiographischem Nachweis von intrakoronaren Thromben hatten signifikant erhöhte thrombozytäre oxLDL-Spiegel gegenüber Patienten mit milderem atherosklerotischen Läsionen der Koronararterien [209]. Diese Punkte

verdeutlichen die Assoziation von erhöhtem thrombozytären oxLDL und dessen thromboembolischen Eigenschaften sowie den folglich fulminanten Verläufen der KHK [209]. Dieses Wissen war Anlass, die möglichen Auswirkungen der bekannten KHK-Therapeutika ASS und Statine auf die intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel im Rahmen der vorliegenden Studie zu untersuchen.

5.2.1 Korrelationen zwischen thrombozytärem oxLDL und Malondialdehyd-modifiziertem-LDL

Chatterjee et al. konnten 2017 keine signifikanten Assoziationen zwischen den thrombozytären oxLDL-Spiegeln (MFI) und den Plasmakonzentrationen für Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin und für Triglyceride finden [209]. Thrombozytäres oxLDL (MFI) und HDL-Cholesterin zeigten eine schwache positive Korrelation [209]. Da Thrombozyten zur eigenständigen Lipidmodifikation fähig sind [207-209], ist anzunehmen, dass Thrombozyten zwar in enger Interaktion mit den Plasmalipiden stehen, ihr Lipidom und ihre Lipidmetabolite jedoch unabhängig von diesen sind [209].

Schon 1993 wurde der Einfluss von Lipoproteinen auf die Thrombozytenfunktion beschrieben [196]. Bei Patienten, die an Hyperlipidämie litten, waren die Thrombozyten in einem hyperaktiven Zustand und zeigten vermehrte Aggregationsbereitschaft [198]. Die Interaktion von Thrombozyten mit Plasmalipiden führte zum Lipidaustausch untereinander sowie mit anderen Zellen [196-199, 232]. Dass sich das thrombozytäre Lipidprofil bei Hyperlipidämie dynamisch verändert, wurde von Chatterjee et al. beschrieben [209]. Es zeigte sich, dass Thrombozyten über ihre oberflächigen Scavenger-Rezeptoren Lipide aus dem Plasma aufnehmen. Diese werden innerhalb des Thrombozyten durch enzymatische- und oxidative Prozesse modifiziert. Das thrombozytäre Lipidom bestand vermehrt aus TG, Keramiden, Sphingomyelinen, Cholesterinestern, Phospholipasemetaboliten sowie oxidierten Lipidmetaboliten [209].

Die Aufnahme von oxLDL durch Makrophagen bewirkt deren Umwandlung zur Schaumzelle und gilt als initialer Schritt bei der Atheroskleroseentstehung [128, 131]. Die Bindung von MDA an das Apo B-100 von LDL ist einer der Möglichkeiten, die zu dessen Oxidation führen [133]. MDA-LDL kann mittels

ELISA gemessen werden und kann als Marker für oxidativen Stress bei Atherosklerose verwendet [132, 223] werden. Wie für Gesamtcholesterin, LDL und TG [209] konnte in der vorliegenden Studie keine signifikante Korrelation zwischen thrombozytärem oxLDL und MDA-LDL gefunden werden ($\rho = -0,188$, $p = 0,091$). Dieses Ergebnis unterstützt ebenfalls die Annahme, dass Thrombozyten Lipide intrazellulär selbstständig modifizieren.

Dem gegenüber stehen die Ergebnisse von Stellos et al. Sie beschrieben eine negative Korrelation zwischen dem thrombozytär-gebundenen oxLDL und dem Gesamtcholesterin sowie LDL-Cholesterin [201]. Hier gilt allerdings zu unterscheiden, dass in der vorliegenden Studie sowie von Chatterjee et al. [209] die intrazellulären oxLDL-Spiegel bestimmt wurden. Die unterschiedlichen Korrelationen zwischen Plasmalipiden und dem thrombozytär-gebundenen oxLDL sowie dem intrazellulären oxLDL könnte die Theorie der intrazellulären Lipidmodifikation weiter unterstützen. Mit dem derzeitigen Wissensstand existiert zwar ein Verständnis, dass Thrombozyten und Plasmalipide eng miteinander agieren, ihre Spiegel jedoch weitestgehend unabhängig voneinander sind [209].

Weitere Untersuchungen mit größeren Fallzahlen sind daher nötig, um die pathophysiologischen Zusammenhänge zwischen thrombozytären Lipiden und Plasmalipidspiegeln besser zu verstehen.

5.2.2 Korrelation zwischen Malondialdehyd-modifiziertem-LDL und Plasmalipiden

In der vorliegenden Studie konnten starke, statistisch signifikante Korrelationen zwischen zirkulatorischem MDA-LDL und Gesamtcholesterin ($\rho = 0,474$, $p < 0,001$) sowie LDL-Cholesterin ($\rho = 0,488$, $p < 0,001$) nachgewiesen werden. Zwischen MDA-LDL und TG ergab sich eine mittlere Korrelation ($\rho = 0,268$, $p = 0,032$). Dies deckt sich mit den in anderen Studien beschriebenen signifikanten positiven Korrelationen von MDA-LDL und LDL-Cholesterin sowie TG [132, 223, 233]. MDA entsteht bei Lipidperoxidation und bindet an die Amino-Gruppe des Lysinrestes des Apo-B-100 Lipoproteins des LDL-Cholesterin [133, 234]. Dies erklärt, dass das Verhältnis MDA-LDL/Apo-B als Maß für die LDL-Modifikation durch MDA dienen kann [233]. Die MDA-Bindung verändert die elektrische Ladung von LDL. Dies ermöglicht durch Bindung an

Scavenger-Rezeptoren die Aufnahme in den Makrophagen und so dessen Umwandlung zur Schaumzelle [133]. Die in der vorliegenden Studie beobachtete starke positive Korrelation deutet darauf hin, dass LDL direkt durch MDA modifiziert wird [133, 234].

Zwischen MDA-LDL und HDL-Cholesterin konnten in der vorliegenden Untersuchung keine signifikante Korrelation gefunden werden. Kondo et al. haben jedoch bei Patienten (n = 21) mit niedrigen HDL-Werten ($\leq 0,91$ mmol/l) ein signifikant höheres MDA-LDL-/Apo-B-Verhältnis beobachtet ($p < 0,05$). Bei Patienten (n = 67), die hohe TG-Spiegel und niedrige HDL-Spiegel (TG $> 1,69$ mmol/l und HDL-C $\leq 0,91$ mmol/l) besaßen, waren sowohl das MDA-LDL-/Apo-B-Verhältnis als auch das zirkulatorische MDA-LDL signifikant erhöht ($p < 0,001$) [233]. Es konnte nachgewiesen werden, dass die antioxidativen Eigenschaften von HDL LDL vor oxidativen Veränderungen schützt [160, 161]. In der vorliegenden Studie konnten signifikante Korrelationen zwischen TG und MDA-LDL beobachtet werden. Es ist bekannt, dass small-dense-LDL mit erhöhtem TG, erniedrigtem HDL sowie erhöhtem kardiovaskulärem Risiko einhergeht [167, 235]. Es gibt außerdem Hinweise dafür, dass es bevorzugt oxidiert wird und folglich diese Form des LDL mit dem MDA-LDL und dem TG-Spiegel negativ korreliert ist [236]. Dies könnte eine mögliche Erklärung für die vorliegenden Ergebnisse darstellen. Es gibt allerdings Hinweise darauf, dass vor allem niedrige HDL-Spiegel, die oft von hohen TG-Spiegeln begleitet sind, die positive Korrelation von MDA-LDL und TG erklären [233].

5.2.3 Einfluss medikamentöser Therapie auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel

Erhöhte Cholesterinplasmaspiegel, vor allem erhöhte LDL-Spiegel, sind seit langem als etablierter Risikofaktor bei der Entstehung von KHK bekannt [155-158]. oxLDL ist wesentlich an der Atheroskleroseentstehung beteiligt. Es vermittelt die Makrophagenaktivierung, deren Entwicklung zur Schaumzelle sowie die Proliferation von glatten Muskelzellen [128]. Studien beschrieben, dass thrombozytär-gebundene und intrazelluläre oxLDL-Spiegel bei KHK-Patienten, insbesondere bei denen mit ACS, signifikant erhöht sind [201, 209].

Das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse kann eindeutig durch die Senkung des LDL-Spiegels mittels Statin-Therapie reduziert werden [62, 177]. So konnte

gezeigt werden, dass sich pro Senkung des LDL-Spiegels um 1 mmol/l das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse um etwa ein Fünftel senken lässt [177]. Statine eignen sich zur primären und sekundären Prävention KHK-bedingter Mortalität und Morbidität, unabhängig von Alter und Geschlecht [177, 180, 181]. Thrombozytenaggregationshemmung durch dauerhafte niedrigdosierte ASS-Therapie gehört zum Standard der sekundären KHK-Prävention [13, 41, 61].

Unter den oben genannten Aspekten stellte sich die Frage, inwieweit eine medikamentöse Therapie mit Statinen und/oder ASS Einfluss auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel nehmen kann. Mit der hier vorliegenden Kohorte von KHK-Patienten konnte gezeigt werden, dass jene, die eine Kombination aus Statin- und ASS-Therapie erhielten, signifikant niedrigere thrombozytäre oxLDL-Spiegel aufwiesen als jene, die nur mit ASS behandelt wurden. Eine alleinige Statin-Therapie ohne ASS konnte die thrombozytären oxLDL-Spiegel jedoch nicht signifikant beeinflussen, verglichen mit der Gruppe ohne Medikation.

Auffällig war hierbei, dass Patienten die nur ASS bekamen hohe mediane oxLDL-Spiegel im Vergleich zu allen anderen Gruppen aufwiesen. Eine mögliche Erklärung hierfür könnte sein, dass die Gruppe, die ASS erhielt, wesentlich mehr Patienten mit stabiler KHK beinhaltete. Diese Patienten erhalten im Vergleich zu jenen mit ACS während der PCI den weniger potenten P2Y₁₂-Rezeptor-Inhibitoren Clopidogrel, bzw. ist bei fehlender Indikation für eine Stentimplantation keine Aufsättigungsdosis von antithrombozytärer Therapie erforderlich [237]. Die Gruppe ohne ASS beinhaltete mehr Patienten mit ACS. Diese erhalten während der PCI die potentere P2Y₁₂-Rezeptor-Inhibitoren Prasugrel bzw. Ticagrelor [66, 67]. Eine Vermutung hierzu wäre, dass durch diese stärkere Plättchenhemmung der eventuelle Statineffekt auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel entfällt und sich deswegen keine signifikante oxLDL Verminderung in dieser Gruppe einstellte.

An der thrombozytären Lipidmodifikation sind verschiedene thrombozyteneigene Oxidasen involviert [207-209]. Auch die thrombozytäre Cyclooxygenase-1 (COX-1) ist bei der Herstellung von oxidierten Phospholipiden beteiligt [238, 239]. Slatter et al. beobachteten eine deutliche Veränderung des thrombozytären Lipidoms, nachdem Thrombozyten *in vitro*

mittels Thrombin aktiviert wurden. Nahmen gesunde Freiwillige eine Woche den Cyclooxygenase-1-Hemmer ASS ein (75 mg/Tag), wurden die durch Thrombinaktivierung hochregulierten thrombozytären Lipide gesenkt. Die Autoren betonten aber, dass die Stärke dieses Effekts bei verschiedenen Individuen unterschiedlich ausgeprägt ist. Sie beschrieben die Heterogenität des thrombozytären Lipidoms bei verschiedenen gesunden, nicht miteinander verwandten Individuen [238]. Dies könnte sich generell auf die unterschiedlichen Wirkungen von medikamentöser Therapie auf die gemessenen thrombozytären Lipidspiegel in der vorliegenden Studie ausgewirkt haben und als mögliche Erklärung von abweichenden Ergebnissen dienen. Die lipidsenkende Wirkung von Statinen durch kompetitive Hemmung der 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase (HMG-CoA-Reduktase) ist in der Medizin gut bekannt. Puccetti et al. beschrieben, dass die Statin-Therapie (Simvastatin 20 mg/Tag, Atorvastatin 10 mg/Tag, Fluvastatin 40 mg/Tag) die Thrombozytenaktivierung (ausgedrückt durch den Aktivierungsmarker P-Selektin) signifikant verminderte. Dies war assoziiert mit der Reduktion von Thrombozyten-assoziiertem oxLDL. Der Effekt trat zeitlich vor der plasmalipidsenkenden Wirkung ein [240]. Im Unterschied zur Messung in der vorliegenden Studie, die eine einmalige Momentaufnahme des thrombozytären oxLDL-Spiegels darstellte, wurde von Puccetti et al. viermal pro Monat das Thrombozyten-assoziierte oxLDL bestimmt [240]. Eine mehrmalige Bestimmung des thrombozytären oxLDL-Spiegels wäre auch bei den Patienten der vorliegenden Untersuchung nötig, um eine fundierte Schlussfolgerung und bessere Vergleichbarkeit mit anderen Studien fällen zu können. Bruni et al. beobachteten, dass sich die Anzahl der Scavenger-Rezeptoren CD36 und LOX-1 durch 20 mg/Tag Simvastatin als auch durch 10 mg/Tag Atorvastatin bereits nach sechs Tagen signifikant reduzierten. Dies korrelierte positiv mit dem Thrombozyten-assoziierten oxLDL und P-Selektin [241]. Die Statine führten zu verminderter Plättchenaktivität, indem sie die für die oxLDL-Aufnahme verantwortlichen Rezeptoren herunterregulierten [241]. Gegensätzlich zu den vorliegenden Ergebnissen wird von Bruni et al. der signifikante Einfluss der alleinigen Statin-Therapie auf das Thrombozyten-assoziierte oxLDL beschrieben [241]. Es muss allerdings beachtet werden, dass in der vorliegenden Untersuchung die intrazellulären oxLDL-Spiegel

bestimmt wurden. Die Studienlage zur Auswirkung von Medikamenten auf diesen ist sehr unergiebig, weshalb Studien zur Wirkung auf Thrombozyten-assoziiertes oxLDL hier als Vergleich dienen können. Zusammenfassend gibt es Hinweise, dass sowohl ASS- als auch Statin-Therapie einen Einfluss auf thrombozytäre Lipidspiegel haben können [238, 240, 241]. So wurde ein verstärkter Effekt auf die thrombozytenaggregationshemmende Wirkung von ASS durch Statine beschrieben [242, 243]. Luzak et al. beschrieben, dass durch eine sechsmonatige Behandlung mit Atorvastatin (10 mg/Tag) die durch ASS vermittelte Hemmung der Thrombozytenaggregation verstärkt werden konnte [243]. Diese Beobachtungen würden die hier vorliegenden Ergebnisse unterstützen.

5.2.4 Einfluss medikamentöser Therapie auf das Malondialdehyd-modifizierte LDL

In der vorliegenden Arbeit konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede der medianen MDA-LDL-Spiegel (U/l) zwischen Patienten, die Statine, und Patienten, die weder Statin noch ASS erhielten, beobachtet werden. Dem gegenüber konnten Tani et al. in einer prospektiven Kohorte an Patienten mit stabiler KHK bei denjenigen, die über sechs Monate 10 - 20 mg/Tag Pravastatin erhielten, eine signifikante Abnahme der MDA-LDL-Spiegel im Vergleich zur Kontrollgruppe ohne Medikation beobachten ($p = 0,001$) [244]. Auch in anderen Studien ist beschrieben, dass Statine zirkulatorisches oxLDL und MDA-LDL senken [240, 241, 245, 246]. Die antioxidativen Eigenschaften von Atorvastatin (10 mg/Tag) sind denen von Pravastatin (10 mg/Tag) überlegen [245]. Im Unterschied zu diesen prospektiven Studien stellen die vorliegenden MDA-LDL-Spiegel eine einmalige Momentaufnahme dar. Zudem beinhaltete die Kohorte der vorliegenden Untersuchung im Gegensatz zu den beschriebenen Studien auch ACS-Patienten. Es gibt Hinweise darauf, dass das zirkulatorische oxLDL nach ACS erhöht ist [247]. Dies könnte ebenfalls einen Einfluss auf die Ergebnisse der vorliegenden Studie haben. Obwohl in der vorliegenden Studie die medianen MDA-LDL-Spiegel in der Gruppe mit Statin-Therapie nicht signifikant vermindert waren, ist doch ein Trend in diese Richtung zu beobachten. Dies lässt die Vermutung zu, dass sich durch höhere Fallzahlen signifikante Ergebnisse einstellen würden, denn die antioxidativen Eigenschaften von Statinen konnten in zahlreichen Studien nachgewiesen

werden [248-250]. Mehrere Studien konnten auch für ASS antioxidative Eigenschaften nachweisen [251-253]. In den vorliegenden Messungen wurde beobachtet, dass die MDA-LDL-Spiegel bei Patienten, die ASS und Statin erhielten, innerhalb der verschiedenen Medikationsgruppen am niedrigsten waren. Dies würde die oben beschriebenen Ergebnisse untermauern. Auch in diesem Fall könnte angenommen werden, dass höherer Fallzahlen zu signifikanten Ergebnissen führen würden.

5.2.5 Einfluss von Simvastatin im Vergleich zu Atorvastatin auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel

Bei Patienten, die eine Kombination aus ASS- und Statin bekamen, konnte in der vorliegenden Studie kein signifikanter Unterschied zwischen Simvastatin oder Atorvastatin festgestellt werden.

Es ist bekannt, dass der LDL-Cholesterin-senkende Effekt im Plasma abhängig von der Dosis und Statingruppe ist [170]. Auch zwischen einzelnen Personen konnten beachtlich Unterschiede in der LDL-Cholesterin-senkenden Wirkung von Statinen festgestellt werden [170, 254]. So wurde in einer Metaanalyse gezeigt, dass etwa 40 % der Patienten, die 80 mg Atorvastatin erhielten, nicht die Zielwerte von < 70 mg/dl erreichten. Bei einigen Patienten wurde eine sehr gute LDL-Cholesterin-Senkung erzielt, bei anderen zeigte sich ein geringerer Effekt [254]. Daraus ergab sich die Frage, ob sich die medikamentöse Therapie auch unterschiedlich auf thrombozytäre oxLDL-Spiegel in verschiedenen Individuen auswirken könnte. Weng et al. untersuchten in ihrer Metaanalyse zur Wirksamkeit von unterschiedlichen Statingruppen und -dosierungen 75 RCT [255]. Es konnte eine vergleichbare Reduktion der LDL-Cholesterin-Plasmaspiegel um 30 bis 40 % sowohl durch 10 mg Atorvastatin als auch durch 20 mg Simvastatin erreicht werden. Die Autoren schließen daraus, dass sich die LDL-Cholesterin-senkende Wirkung mit Erhöhung der Dosis steigern lässt und dass für unterschiedliche Statine vergleichbare Dosen gefunden werden können [255].

Bruni et al. behandelten 24 Patienten mit 20 mg Simvastatin und 24 Patienten mit 10 mg Atorvastatin pro Tag. Schon nach sechs Tagen konnten sie eine signifikante Reduktion der thrombozytären Rezeptoren CD36 und LOX-1 sowie des thrombozytär-gebundenen oxLDLs beobachten. Nach neun Tagen

Therapie war dieser Effekt noch stärker ausgeprägt. Auch sie konnten keinen signifikanten Unterschied zwischen der Simvastatin- und der Atorvastatin-Gruppe feststellen [241]. Dies lässt die Vermutung zu, dass das von Weng et al. für die Plasmalipidspiegel gültige Äquivalent von 10 mg Atorvastatin und 20 mg Simvastatin sich auch auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel übertragen lässt. Interessanterweise sanken die Thrombozyten-assoziierten oxLDL-Spiegel vor den Plasmalipidspiegeln. Dies spricht dafür, dass der Effekt direkt auf die Thrombozyten-assoziierten oxLDL-Spiegel wirkt und die verminderten Spiegel nicht aus einer vorherigen Senkung der Plasmalipide resultieren [241].

Es muss darauf hingewiesen werden, dass in der Auswertung der vorliegenden Daten keinen Unterschied in der Dosierung, sondern lediglich eine Aufteilung in Simvastatin beziehungsweise Atorvastatin vorgenommen wurde. Die direkte Vergleichbarkeit mit anderen Studien ist somit nur eingeschränkt gegeben, da in diesen Statine innerhalb ihrer Dosisäquivalenz verglichen werden [240, 241, 255]. Aufgrund geringer Fallzahlen wurde sich in der vorliegenden Auswertung dagegen entschieden. Es ist möglich anzunehmen, dass sehr hohe Dosen Atorvastatin (80 mg/Tag), ähnlich wie im Plasma, den stärksten Effekt ausüben könnten [178, 179, 255]. Dies sollte in weiteren Studien mit größerer Fallzahl untersucht werden.

Sowohl für Atorvastatin als auch für Simvastatin konnte in Studien ein verstärkender Effekt auf die ASS-Wirkung beobachtet werden. Dies zeigte sich unter anderem in verminderter Thromboxan-A₂-Produktion und somit abgeschwächter Aggregationsneigung [256, 257]. Die vorliegenden Ergebnisse zur signifikanten Wirkung der Kombinationstherapie und der vergleichbaren Wirkung der beiden Statingruppen bekräftigen diese Annahme.

5.2.6 Einfluss unterschiedlicher Statindosen auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel

Im Vergleich unterschiedlich hoher Statindosen wurden in der vorliegenden Untersuchung keine signifikanten Unterschiede in der Gruppe mit der Kombinationsmedikation von ASS und Statin gefunden. Bei sehr hohen Dosen Atorvastatin (80 mg) konnte ein niedrigerer oxLDL-Spiegel gegenüber den drei anderen Dosisgaben festgestellt werden. Da in der vorliegenden Kohorte allerdings nur drei Patienten diese sehr hohe Dosis erhielten, ist die

Aussagekraft dieses Vergleichs beschränkt. Eventuell würde sich dieser Trend bei höherer Fallzahl als signifikant herausstellen.

Die vorliegenden Ergebnisse sind nicht übereinstimmend mit der dosisabhängigen Wirkung von Statinen auf Lipidplasmaspiegel. Durch eine intensiviertere Senkung des LDL-Spiegels, durch höhere Statindosen oder potentere Statingruppen können signifikant kardiovaskuläre Ereignisse reduziert werden [62, 177, 178]. Weng et al. zeigten in einer Metaanalyse, dass eine Senkung des LDL-Plasmaspiegels um mehr als 40 % nur durch Atorvastatin > 20 mg, Simvastatin > 40 mg oder Rosuvastatin > 5 mg erreicht werden kann. Eine äquivalente Senkung von 30 - 40 % konnten unter anderem Atorvastatin 10 mg, Simvastatin 20 mg sowie Fluvastatin 80 mg erreichen [255]. Bruni et al. beschrieben eine signifikante Reduktion des Thrombozyten-assoziierten oxLDL und thrombozytärer oxLDL-Rezeptoren durch Atorvastatin 10 mg/Tag und Simvastatin 20 mg/Tag. Dies geschah noch, bevor der Plasma-LDL-Spiegel sank [241]. Dieser frühzeitige Effekt auf Thrombozyten-assoziiertes oxLDL konnte durch Pravastatin 40 mg/Tag nicht gezeigt werden [241]. Die Autoren erklären dies durch die spezifischen chemischen Eigenschaften von Pravastatin [240, 241]. Eine mögliche Ursache könnte laut Weng et al. darin bestehen, dass Pravastatin in dieser Dosierung nicht der Dosisäquivalenz von Atorvastatin 10 mg/Tag und Simvastatin 20 mg/Tag entspricht [255]. Die Wirkung von nicht-äquivalenten Dosen Atorvastatin und Simvastatin in Kombination mit ASS auf die thrombozytären oxLDL-Spiegel wurde bisher in keiner Studie untersucht. Gerade die sehr hohe Tagesdosis von 80 mg Atorvastatin ist in der Lage, das plasmatische LDL-Cholesterin stark abzusenken [62, 178, 255]. Dieser Effekt könnte sich auch auf die thrombozytären Lipidspiegel auswirken, wie es sich in der vorliegenden Kohorte tendenziell darstellt. Dies gilt vor allem vor dem Hintergrund, dass die Wirkung früher auf thrombozytäre Lipidspiegel als auf Plasmalipidspiegel stattfindet [241]. Mit den vorliegenden Ergebnissen konnte zwar kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden, doch ist dieses Ergebnis aufgrund der geringen sowie unterschiedlichen Fallzahl innerhalb der Dosis-Gruppen weiter zu prüfen.

Zusammenfassend gibt es Hinweise, dass das intrazelluläre thrombozytäre oxLDL unabhängig von den klassischen Plasmalipidspiegeln [209] sowie dem MDA-LDL reguliert wird. Dies unterstützt die Annahme, dass Thrombozyten durch eigenständige intrazelluläre Produktion von oxidierten Lipidmetaboliten zur Progression von Atherosklerose und KHK beitragen. Thrombozytäre oxLDL-Spiegel lassen sich möglicherweise medikamentös beeinflussen.

Die klassischen Plasmalipidparameter wie Gesamtcholesterin, LDL und TG gelten schon seit Jahrzehnten als anerkannte Risikomarker für die Entwicklung von KHK. Dennoch ist diese nach wie vor der Hauptgrund für Tod und Behinderung in den Industrienationen [3, 5, 11].

2016 konnte gezeigt werden, dass Plasmakeramide den bisher klassischen kardiovaskulären Risikomarkern wie LDL-Cholesterin in der Voraussagekraft bezüglich kardiovaskulärer Sterblichkeit sowohl bei stabiler KHK als auch bei ACS überlegen sind. Dies galt auch für Patienten, die bereits Statine einnahmen [211].

Auch thrombozytäre Lipide wie oxLDL könnten daher als neue potenzielle diagnostische Marker aber auch als therapeutische Targets in der KHK-Therapie dienen.

5.2.7 Limitationen

Diese Studie untersuchte den Einfluss von medikamentöser Therapie mittels ASS und Statinen auf den intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel und den zirkulatorischen MDA-LDL-Spiegel. Die Studie weist allerdings einige Limitationen auf.

Die wichtigsten Punkte sind hierbei, dass es sich bei den vorliegenden Messergebnissen um Momentaufnahmen handelt und die Fallzahl von 151 Patienten relativ gering ist.

Die thrombozytären oxLDL-Spiegel, die Lipidplasmaspiegel und die MDA-LDL-Spiegel wurden nur einmalig bestimmt. Eventuelle Schwankungen im Tagesprofil oder durch kardiovaskuläre Ereignisse konnten damit nicht berücksichtigt werden. Um Aussagen über die klinische Bedeutung von thrombozytärem oxLDL und dessen Veränderungen unter medikamentöser Therapie zu stellen, müssten mehrmalige Messungen während eines Follow-

Ups mit größerer Fallzahl durchgeführt werden. Gleiches gilt zu Aussagen über die Auswirkung auf die KHK-Progression.

Die Messungen erfolgten ausschließlich an Patienten mit symptomatischer KHK. Es fehlt somit der Vergleich mit einer gesunden Kohorte, um eventuelle krankheitsbezogene Auswirkungen besser zu verstehen.

Es wurde schlussendlich nicht berücksichtigt wie lange vor Blutentnahme die medikamentöse Therapie schon eingenommen wurde.

6 Zusammenfassung

Hintergrund:

Zirkulatorisches oxidiertes Low-Density-Lipoprotein (oxLDL) ist wesentlich an der Entwicklung koronarer Herzkrankheit (KHK) und Atherosklerose beteiligt. Malondialdehyd-modifiziertes-LDL (MDA-LDL) ist eine der Formen von oxLDL. Bei KHK-Patienten sind die intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel erhöht. Insbesondere Patienten mit akutem Koronarsyndrom (ACS) zeigen signifikant höhere intrazelluläre sowie thrombozytär-gebundene oxLDL-Spiegel als jene mit stabiler KHK. Intrazelluläre thrombozytäre oxLDL-Spiegel sind zudem bei ACS-Patienten mit angiographischem Nachweis von intrakoronaren Thromben signifikant erhöht. Thrombozyten sind selbstständig in der Lage, Lipide enzymatisch und oxidativ zu modifizieren. Somit tragen sie aktiv zur Krankheitsprogression bei. Das thrombozytäre Lipidom unterliegt insbesondere bei ACS-Patienten dynamischen Veränderungen. Es enthält unter anderem vermehrt oxidierte Lipidmetabolite. In der vorliegenden Studie wird der Einfluss der Statin- und Acetylsalicylsäure- (ASS) Therapie auf intrazelluläre thrombozytäre oxLDL-Spiegel sowie auf zirkulatorische Serum MDA-LDL-Spiegel untersucht. Zudem wird der Zusammenhang zwischen intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegeln und Serum MDA-LDL untersucht.

Methoden:

Für diese Studie wurde während einer perkutanen Koronarintervention (PCI) 151 Patienten mit symptomatischer KHK (stabile KHK n = 94, ACS n = 57) Vollblut abgenommen. Unmittelbar im Anschluss wurde die Höhe der intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel, ausgedrückt durch die mittlere Fluoreszenzintensität (MFI), über Durchflusszytometrie bestimmt. Mittels Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) wurde die Höhe von MDA-LDL (U/l) im Serum ermittelt.

Ergebnisse:

Die intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel unterschieden sich signifikant bei Patienten, die eine Kombination aus Statin- und ASS-Therapie erhielten, verglichen mit Patienten mit alleiniger ASS-Therapie. Eine alleinige

Statin-Therapie ohne Kombination mit ASS hatte keinen signifikanten Einfluss auf die oxLDL-Spiegel der Thrombozyten.

Die Studie liefert Hinweise, dass die intrazellulären thrombozytären oxLDL-Spiegel unabhängig von MDA-LDL sind.

Es konnten keine statistisch signifikanten Unterschiede der MDA-LDL-Spiegel zwischen Patienten ohne Medikation und denen, die ein Statin erhielten, festgestellt werden. Zudem zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der MDA-LDL-Spiegel zwischen Patienten, die ASS, und solchen, die ASS und ein Statin nahmen.

Schlussfolgerung:

Die Studie liefert Hinweise darauf, dass sich intrazelluläre thrombozytäre oxLDL-Spiegel möglicherweise durch eine medikamentöse Therapie aus Statin und ASS beeinflussen lassen. Thrombozytäres oxLDL könnte somit als neuer therapeutischer Angriffspunkt in der KHK-Therapie dienen.

7 Literaturverzeichnis

1. Sterbefälle insgesamt 2015 nach den 10 häufigsten Todesursachen der ICD-10: Statistisches Bundesamt [Zugriff: 18.06.2017] <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Todesursachen.html>.
2. Roger VL (2007). Epidemiology of myocardial infarction. *Med Clin North Am.* 91(4):537-52; ix.
3. Wilkins E, Wilson L, Wickramasinghe K, Bhatnagar P, Leal J, Luengo-Fernandez R, Burns R, Rayner M, Townsend N (2017). *European Cardiovascular Disease Statistics 2017*. European Heart Network, Brussels.
4. Nichols M, Townsend N, Scarborough P, Rayner M (2014). Cardiovascular disease in Europe 2014: epidemiological update. *Eur Heart J.* 35(42):2950-2959.
5. Gesundheitsberichterstattung des Bundes (GBE). Statistik der häufigsten Todesursachen 2000-2015. [Zugriff: 29.08.2017]. http://www.gbebund.de/oowa921install/servlet/oowa/aw92/dboowasys921.xwdevkit/xwd_init?gbe.isgbetol/xs_start_neu/&p_aid=3&p_aid=70234648&nummer=516&p_sprache=D&p_indsp=4065&p_aid=61905988.
6. Finger JD, Busch MA, Du Y, Heidemann C, Knopf H, Kuhnert R, Lampert T, Mensink GBM, Neuhauser HK, Schaffrath Rosario A, Scheidt-Nave C, Schienkiewitz A, Truthmann J, Kurth B-M (2016). Time trends in cardiometabolic risk factors in adults—results from three nationwide German examination surveys from 1990-2011. *Dtsch Arztebl Int* 2016. 113(42):712-719.
7. Ford ES, Ajani UA, Croft JB, Critchley JA, Labarthe DR, Kottke TE, Giles WH, Capewell S (2007). Explaining the Decrease in U.S. Deaths from Coronary Disease, 1980–2000. *N Engl J Med.* 356(23):2388-2398.
8. Gosswald A, Schienkiewitz A, Nowossadeck E, Busch MA (2013). Prevalence of myocardial infarction and coronary heart disease in adults aged 40-79 years in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1). *Bundesgesundheitsblatt-Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz.* 56(5-6):650-655.
9. Woodward M, Oliphant J, Lowe G, Tunstall-Pedoe H (2003). Contribution of contemporaneous risk factors to social inequality in coronary heart disease and all causes mortality. *Prev Med.* 36(5):561-568.
10. Wiesner G, Grimm J, Bittner E (1999). Zum Herzinfarktgeschehen in der Bundesrepublik Deutschland: Prävalenz, Inzidenz, Trend, Ost-West-Vergleich. *Gesundheitswesen (Sonderheft 2).* 61(2):72–78.
11. Benjamin EJ, Blaha MJ, Chiuve SE, Cushman M, Das SR, Deo R, de Ferranti SD, Floyd J, Fornage M, Gillespie C, Isasi CR, Jiménez

- MC, Jordan LC, Judd SE, Lackland D, Lichtman JH, Lisabeth L, Liu S, Longenecker CT, Mackey RH, Matsushita K, Mozaffarian D, Mussolino ME, Nasir K, Neumar RW, Palaniappan L, Pandey DK, Thiagarajan RR, Reeves MJ, Ritchey M, Rodriguez CJ, Roth GA, Rosamond WD, Sasson C, Towfighi A, Tsao CW, Turner MB, Virani SS, Voeks JH, Willey JZ, Wilkins JT, Wu JH, Alger HM, Wong SS, Muntner P (2017). Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 135(10):e146-e603
12. Statistisches Bundesamt (2019) Krankheitskostenrechnung, Krankheitskosten in Mill. € für Deutschland. [Zugriff 25.02.2019]. <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online/logon?sequenz=tabelleErgebnis&selectionname=23631-0001&sachmerkmal=ICD10Y&sachschluessel=ICD10-I00-I99,ICD10-I10-I15,ICD10-I20-I25,ICD10-I21,ICD10-I22,Icd10-I30-I52,ICD10-I50,ICD10-I60-I69,ICD10-I60-I61,ICD10-I63,ICD10-I64,ICD10-I69,ICD10-I80-I89,ICD10-I8>
13. Montalescot G, Sechtem U, Achenbach S, Andreotti F, Arden C, Budaj A, et al. (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(38):2949-3003.
14. van den Hoogen PC, Feskens EJ, Nagelkerke NJ, Menotti A, Nissinen A, Kromhout D (2000). The relation between blood pressure and mortality due to coronary heart disease among men in different parts of the world. Seven Countries Study Research Group. *N Engl J Med*. 342(1):1-8.
15. Pekkanen J, Linn S, Heiss G, Suchindran CM, Leon A, Rifkind BM, Tyroler HA (1990). Ten-year mortality from cardiovascular disease in relation to cholesterol level among men with and without preexisting cardiovascular disease. *N Engl J Med*. 322(24):1700-1707.
16. Bayturan O, Tuzcu EM, Uno K, Lavoie AJ, Hu T, Shreevatsa A, Wolski K, Schoenhagen P, Kapadia S, Nissen SE, Nicholls SJ (2010). Comparison of rates of progression of coronary atherosclerosis in patients with diabetes mellitus versus those with the metabolic syndrome. *Am J Cardiol*. 105(12):1735-1739.
17. Otaki Y, Gransar H, Berman DS, Cheng VY, Dey D, Lin FY, Achenbach S, Al-Mallah M, Budoff MJ, Cademartiri F, Callister TQ, Chang HJ, Chinnaiyan K, Chow BJ, Delago A, Hadamitzky M, Hausleiter J, Kaufmann P, Maffei E, Raff G, Shaw LJ, Villines TC, Dunning A, Min JK (2013). Impact of family history of coronary artery disease in young individuals (from the CONFIRM registry). *Am J Cardiol*. 111(8):1081-1086.
18. Hermanson B, Omenn GS, Kronmal RA, Gersh BJ (1988). Beneficial six-year outcome of smoking cessation in older men and women with

- coronary artery disease. Results from the CASS registry. *N Engl J Med.* 319(21):1365-1269.
19. Burke GL, Bertoni AG, Shea S, Tracy R, Watson KE, Blumenthal RS, Chung H, Carnethon MR (2008). The Impact of Obesity on Cardiovascular Disease Risk Factors and Subclinical Vascular Disease: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Arch Intern Med.*168(9):928-935.
 20. Vinereanu D (2006). Risk factors for atherosclerotic disease: present and future. *Herz.* 31(3):5-24.
 21. Campeau L (2002). The Canadian Cardiovascular Society grading of angina pectoris revisited 30 years later. *Can J Cardiol.* 18(4):371-379.
 22. Campeau L (1976). Letter: Grading of angina pectoris. *Circulation.* 54(3):522-523.
 23. Crea F, Pupita G, Galassi AR, el-Tamimi H, Kaski JC, Davies G, Maseri A (1990). Role of adenosine in pathogenesis of anginal pain. *Circulation.* 81(1):164-172.
 24. Crea F, el-Tamimi H, Vejar M, Kaski JC, Davies G, Maseri A (1988). Adenosine-induced chest pain in patients with silent and painful myocardial ischaemia: another clue to the importance of generalized defective perception of painful stimuli as a cause of silent ischaemia. *Eur Heart J.* 9(Suppl N):34-39.
 25. de Milliano PA, Koster RW, Bar FW, Janssen J, de Cock C, Schelling A, van de Bos A (1991). Long-term efficacy of continuous and intermittent use of transdermal nitroglycerin in stable angina pectoris. *Am J Cardiol.* 68(9):857-862.
 26. Berkenboom GM, Sobolski JC, Degre SG (1984). Oral sustained-release nitroglycerin in chronic stable angina: a multicenter, double-blind, randomized crossover trial. *Am J Cardiol.* 53(1):15-17.
 27. Scardi S, Camerini F, Pandullo C, Pollavini G (1991). Efficacy of continuous and intermittent transdermal treatment with nitroglycerin in effort angina pectoris: a multicentric study. The Collaborative Nitro Group. *Int J Cardiol.* 32(2):241-248.
 28. Diamond GA (1983). A clinically relevant classification of chest discomfort. *J Am Coll Cardiol.* 1(2 Pt 1):574-575.
 29. Camici PG, Crea F (2007). Coronary microvascular dysfunction. *N Engl J Med.* 356(8):830-840.
 30. Yasue H, Nakagawa H, Itoh T, Harada E, Mizuno Y (2008). Coronary artery spasm--clinical features, diagnosis, pathogenesis, and treatment. *J Cardiol.* 51(1):2-17.

31. Cannon RO, Epstein SE (1988). "Microvascular angina" as a cause of chest pain with angiographically normal coronary arteries. *Am J Cardiol.* 61(15):1338-1343.
32. Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H, Caso P, Dudek D, Gielen S, Huber K, Ohman M, Petrie MC, Sonntag F, Uva MS, Storey RF, 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(23):2999-3054.
33. Newby LK, Jesse RL, Babb JD, Christenson RH, De Fer TM, Diamond GA, Fesmire FM, Geraci SA, Gersh BJ, Larsen GC, Kaul S, McKay CR, Philippides GJ, Weintraub WS (2012). ACCF 2012 expert consensus document on practical clinical considerations in the interpretation of troponin elevations: a report of the American College of Cardiology Foundation task force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll of Cardiol.* 60(23):2427-2463.
34. Amsterdam EA, Brindis RG, Casey DE Jr, Ganiats TG, Holmes DR Jr, Jaffe AS, Jneid H, Kelly RF, Kontos MC, Levine GN, Liebson PR, Mukherjee D, Peterson ED, Sabatine MS, Smalling RW, Zieman SJ; ACC/AHA Task Force Members (2014). 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation.* 129(25):e254-454.
35. van Domburg RT, van Miltenburg-van Zijl AJ, Veerhoek RJ, Simoons ML (1998). Unstable angina: good long-term outcome after a complicated early course. *J Am Coll Cardiol.* 31(7):1534-1539.
36. Brieger D, Eagle KA, Goodman SG, Steg PG, 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(2):461-469.
37. Canto JG, Fincher C, Kiefe CI, Allison JJ, Li Q, Funkhouser E, Centor RM, Selker HP, Weissman NW (2002). Atypical presentations among Medicare beneficiaries with unstable angina pectoris. *Am J Cardiol.* 90(3):248-253.
38. Culic V, Eterovic D, Miric D, Silic N (2002). Symptom presentation of acute myocardial infarction: influence of sex, age, and risk factors. *Am Heart J.* 144(6):1012-1017.
39. Diercks DB, Peacock WF, Hiestand BC, Chen AY, Pollack CV, Jr., Kirk JD, Smith SC Jr, Gibler WB, Ohman EM, Blomkalns AL, Newby LK, Hochman JS, Peterson ED, Roe MT (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(4):437-442.
40. Savonitto S, Ardissino D, Granger CB, Morando G, Prando MD, Mafrici A, Cavallini C, Melandri G, Thompson TD, Vahanian A, Ohman EM, Califf RM, Van de Werf F, Topol EJ (1999). Prognostic value of the admission electrocardiogram in acute coronary syndromes. *JAMA.* 281(8):707-713.
 41. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, Bueno H, Caforio ALP, Crea F, Goudevenos JA, Halvorsen S, Hindricks G, Kastrati A, Lenzen MJ, Prescott E, Roffi M, Valgimigli M, Varenhorst C, Vranckx P, Widimský P (2018). 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J.* 39(2):119-177.
 42. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, et al. (2012). Third universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 33(20):2551-2567.
 43. Sharma S, Jackson PG, Makan J (2004). Cardiac troponins. *J Clin Pathol.* 57(10):1025-1026.
 44. Bodor GS, Porterfield D, Voss EM, Smith S, Apple FS (1995). Cardiac troponin-I is not expressed in fetal and healthy or diseased adult human skeletal muscle tissue. *Clin Chem.* 41(12 Pt 1):1710-1715.
 45. Ricchiuti V, Voss EM, Ney A, Odland M, Anderson PA, Apple FS (1998). Cardiac troponin T isoforms expressed in renal diseased skeletal muscle will not cause false-positive results by the second generation cardiac troponin T assay by Boehringer Mannheim. *Clin Chem.* 44(9):1919-1924.
 46. Chan AW, Kornder J, Elliott H, Brown RI, Dorval JF, Charania J, Zhang R, Ding L, Lalani A, Kuritzky RA, Simkus GJ (2012). Improved survival associated with pre-hospital triage strategy in a large regional ST-segment elevation myocardial infarction program. *JACC Cardiovasc Interv.* 5(12):1239-1246.
 47. Zijlstra F, Hoorntje JC, de Boer MJ, Reiffers S, Miedema K, Ottervanger JP, van 't Hof AW, Suryapranata H. (1999) Long-term benefit of primary angioplasty as compared with thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 341(19):1413-1419.
 48. Widimsky P, Budesinsky T, Vorac D, Groch L, Zelizko M, Aschermann M, Branny M, St'ásek J, Formánek P (2003). Long distance transport for primary angioplasty vs immediate thrombolysis in acute myocardial infarction. Final results of the randomized national multicentre trial--PRAGUE-2. *Eur Heart J.* 24(1):94-104.

49. Andersen HR, Nielsen TT, Rasmussen K, Thuesen L, Kelbaek H, Thayssen P, et al. (2003). A comparison of coronary angioplasty with fibrinolytic therapy in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 349(8):733-742.
50. Windecker S, Kolh P, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, Filippatos G, Hamm C, Head SJ, Jüni P, Kappetein AP, Kastrati A, Knuuti J, Landmesser U, Laufer G, Neumann FJ, Richter DJ, Schauerte P, Sousa Uva M, Stefanini GG, Taggart DP, Torracca L, Valgimigli M, Wijns W, Witkowski A (2014). 2014 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization: The Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) Developed with the special contribution of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions (EAPCI). *Eur Heart J.* 35(37):2541-2619.
51. Jolly SS, Yusuf S, Cairns J, Niemela K, Xavier D, Widimsky P, Budaj A, Niemelä M, Valentin V, Lewis BS, Avezum A, Steg PG, Rao SV, Gao P, Afzal R, Joyner CD, Chrolavicius S, Mehta SR (2011). Radial versus femoral access for coronary angiography and intervention in patients with acute coronary syndromes (RIVAL): a randomised, parallel group, multicentre trial. *Lancet.* 377(9775):1409-1420.
52. Nordmann AJ, Hengstler P, Harr T, Young J, Bucher HC (2004). Clinical outcomes of primary stenting versus balloon angioplasty in patients with myocardial infarction: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Am J Med.* 116(4):253-262.
53. Sabate M, Brugaletta S, Cequier A, Iniguez A, Serra A, Jimenez-Quevedo P, Mainar V, Campo G, Tsepili M, den Heijer P, Bethencourt A, Vazquez N, van Es GA, Backx B, Valgimigli M, Serruys PW (2016). Clinical outcomes in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with everolimus-eluting stents versus bare-metal stents (EXAMINATION): 5-year results of a randomised trial. *Lancet.* 387(10016):357-366.
54. Bonaa KH, Mannsverk J, Wiseth R, Aaberge L, Myreng Y, Nygard O, Nilsen DW, Kløw NE, Uchto M, Trovik T, Bendz B, Stavnes S, Bjørnerheim R, Larsen AI, Slette M, Steigen T, Jakobsen OJ, Bleie Ø, Fossum E, Hanssen TA, Dahl-Eriksen Ø, Njølstad I, Rasmussen K, Wilsgaard T, Nordrehaug JE (2016). Drug-Eluting or Bare-Metal Stents for Coronary Artery Disease. *N Engl J Med.* 375(13):1242-1252.
55. Morrison LJ, Verbeek PR, McDonald AC, Sawadsky BV, Cook DJ (2000). Mortality and prehospital thrombolysis for acute myocardial infarction: A meta-analysis. *JAMA.* 283(20):2686-2692.
56. Armstrong PW, Gershlick AH, Goldstein P, Wilcox R, Danays T, Lambert Y, Sulimov V, Rosell Ortiz F, Ostojic M, Welsh RC, Carvalho AC, Nanas J, Arntz HR, Halvorsen S, Huber K, Grajek S, Fresco C, Bluhmki E, Regelin A, Vandenberghe K, Bogaerts K, Van de Werf F (2013).

- Fibrinolysis or primary PCI in ST-segment elevation myocardial infarction. *N Engl J Med.* 368(15):1379-1387.
57. Gershlick AH, Stephens-Lloyd A, Hughes S, Abrams KR, Stevens SE, Uren NG de Belder A, Davis J, Pitt M, Banning A, Baumbach A, Shiu MF, Schofield P, Dawkins KD, Henderson RA, Oldroyd KG, Wilcox R (2005). Rescue angioplasty after failed thrombolytic therapy for acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 353(26):2758-2768.
 58. Cantor WJ, Fitchett D, Borgundvaag B, Ducas J, Heffernan M, Cohen EA, Morrison LJ, Langer A, Dzavik V, Mehta SR, Lazzam C, Schwartz B, Casanova A, Goodman SG (2009). Routine early angioplasty after fibrinolysis for acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 360(26):2705-2718.
 59. Borgia F, Goodman SG, Halvorsen S, Cantor WJ, Piscione F, Le May MR, Fernández-Avilés F, Sánchez PL, Dimopoulos K, Scheller B, Armstrong PW, Di Mario C (2010). Early routine percutaneous coronary intervention after fibrinolysis vs. standard therapy in ST-segment elevation myocardial infarction: a meta-analysis. *Eur Heart J.* 31(17):2156-2169.
 60. ISIS-4 (Fourth International Study of Infarct Survival) Collaborative Group (1995). ISIS-4: a randomised factorial trial assessing early oral captopril, oral mononitrate, and intravenous magnesium sulphate in 58,050 patients with suspected acute myocardial infarction. *Lancet.* 345(8951):669-685.
 61. Roffi M, Patrono C, Collet JP, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, Bax JJ, Borger MA, Brotons C, Chew DP, Gencer B, Hasenfuss G, Kjeldsen K, Lancellotti P, Landmesser U, Mehilli J, Mukherjee D, Storey RF, Windecker S (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). *Eur Heart J.* 37(3):267-315.
 62. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, Joyal SV, Hill KA, Pfeffer MA, Skene AM (2004). Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 350(15):1495-1504.
 63. Kinlay S, Schwartz GG, Olsson AG, Rifai N, Sasiela WJ, Szarek M, Ganz P, Libby P (2004). Effect of atorvastatin on risk of recurrent cardiovascular events after an acute coronary syndrome associated with high soluble CD40 ligand in the Myocardial Ischemia Reduction with Aggressive Cholesterol Lowering (MIRACL) Study. *Circulation.* 110(4):386-391.
 64. Ibanez B, Macaya C, Sanchez-Brunete V, Pizarro G, Fernandez-Friera L, Mateos A, Fernández-Ortiz A, García-Ruiz JM, García-Álvarez A, Iñiguez

- A, Jiménez-Borreguero J, López-Romero P, Fernández-Jiménez R, Goicolea J, Ruiz-Mateos B, Bastante T, Arias M, Iglesias-Vázquez JA, Rodríguez MD, Escalera N, Acebal C, Cabrera JA, Valenciano J, Pérez de Prado A, Fernández-Campos MJ, Casado I, García-Rubira JC, García-Prieto J, Sanz-Rosa D, Cuellas C, Hernández-Antolín R, Albarrán A, Fernández-Vázquez F, de la Torre-Hernández JM, Pocock S, Sanz G, Fuster V (2013). Effect of early metoprolol on infarct size in ST-segment-elevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: the Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction (METOCARD-CNIC) trial. *Circulation*. 28(14):1495-1503.
65. Pizarro G, Fernandez-Friera L, Fuster V, Fernandez-Jimenez R, Garcia-Ruiz JM, Garcia-Alvarez A, Mateos A, Barreiro MV, Escalera N, Rodriguez MD, de Miguel A¹, Garcia-Lunar I, Parra-Fuertes JJ, Sánchez-González J, Pardillos L, Nieto B, Jiménez A, Abejón R, Bastante T, Martínez de Vega V, Cabrera JA, López-Melgar B, Guzman G, García-Prieto J, Mirelis JG, Zamorano JL, Albarrán A, Goicolea J, Escaned J, Pocock S, Iñiguez A, Fernández-Ortiz A, Sánchez-Brunete V, Macaya C, Ibanez B (2014). Long-term benefit of early pre-reperfusion metoprolol administration in patients with acute myocardial infarction: results from the METOCARD-CNIC trial (Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction). *J Am Coll Cardiol*. 63(22):2356-2362.
66. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe CH, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, et al. (2007). Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 357(20):2001-2015.
67. Wallentin L, Becker RC, Budaj A, Cannon CP, Emanuelsson H, Held C, Horrow J, Husted S, James S, Katus H, Mahaffey KW, Scirica BM, Skene A, Steg PG, Storey RF, Harrington RA (2009). Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 361(11):1045-1057.
68. Collet JP, Huber K, Cohen M, Zeymer U, Goldstein P, Pollack C Jr, Silvain J, Henry P, Varenne O, Carrié D, Coste P, Angioi M, Le Breton H, Cayla G, Elhadad S, Teiger E, Filippi E, Aout M, Vicaut E, Montalescot G (2013). A direct comparison of intravenous enoxaparin with unfractionated heparin in primary percutaneous coronary intervention (from the ATOLL trial). *The Am J Cardiol*. 112(9):1367-1372.
69. Montalescot G, Zeymer U, Silvain J, Boulanger B, Cohen M, Goldstein P, Ecollan P, Combes X, Huber K, Pollack C Jr, Bénézet JF, Stibbe O, Filippi E, Teiger E, Cayla G, Elhadad S, Adnet F, Chouihed T, Gallula S, Greffet A, Aout M, Collet JP, Vicaut E (2011). Intravenous enoxaparin or unfractionated heparin in primary percutaneous coronary intervention for ST-elevation myocardial infarction: the international randomised open-label ATOLL trial. *Lancet*. 378(9792):693-703.
70. Silvain J, Beygui F, Barthelemy O, Pollack C, Jr., Cohen M, Zeymer U, Huber K, Goldstein P, Cayla G, Collet JP, Vicaut E, Montalescot G

- (2012). Efficacy and safety of enoxaparin versus unfractionated heparin during percutaneous coronary intervention: systematic review and meta-analysis. *BMJ (Clinical research ed)* 344:e553.
71. de Araujo Goncalves P, Ferreira J, Aguiar C, Seabra-Gomes R (2005). TIMI, PURSUIT, and GRACE risk scores: sustained prognostic value and interaction with revascularization in NSTEMI-ACS. *Eur Heart J.* 26(9):865-872.
 72. Yeh RW, Sidney S, Chandra M, Sorel M, Selby JV, Go AS (2010). Population trends in the incidence and outcomes of acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 362(23):2155-2165.
 73. White J. Chapter 7 - Platelet Structure A2 - Michelson, Alan D. *Platelets (Third Edition)*. Academic Press. 2013:117-144.
 74. Bizzozero G (1882). Über einen neuen Formbestandteil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung. *Archiv path Anat Physiol klin Med.* 90:261-332.
 75. Tocantins LM (1938). The mammalian blood platelet in health and disease. *Medicine.* 17(2):155-260.
 76. Giles C (1981). The platelet count and mean platelet volume. *Br J Haematol.* 48(1):31-37.
 77. Balduini CL, Noris P (2014). Platelet count and aging. *Haematologica.* 99(6):953-955.
 78. Brewer DB (2006). Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the discovery of the platelet. *Br J Haematol.* 133(3):251-258.
 79. Nurden AT (2011). Platelets, inflammation and tissue regeneration. *Thrombosis and Haemostasis.* 105(Suppl 1):13-33.
 80. Wiesner T, Bugl S, Mayer F, Hartmann JT, Kopp HG (2010). Differential changes in platelet VEGF, Tsp, CXCL12, and CXCL4 in patients with metastatic cancer. *Clin ex Metastasis.* 27(3):141-149.
 81. Gawaz M, Langer H, May AE (2005). Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest.* 115(12):3378-3384.
 82. Gawaz M, Vogel S (2013). Platelets in tissue repair: control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Blood.* 122(15):2550-2554.
 83. Weber C (2005). Platelets and chemokines in atherosclerosis: partners in crime. *Circulation Res.* 96(6):612-616.
 84. Brill A, Dashevsky O, Rivo J, Gozal Y, Varon D (2005). Platelet-derived microparticles induce angiogenesis and stimulate post-ischemic revascularization. *Cardiovasc Res.* 67(1):30-38.

85. Klinger MH, Jelkmann W (2002). Role of blood platelets in infection and inflammation. *J Interferon Cytokine Res.* 22(9):913-922.
86. Yeaman MR (1997). The role of platelets in antimicrobial host defense. *Clin Infect Dis.* 25(5):951-968; quiz 969-970.
87. White JG, Rao GH (1998). Microtubule coils versus the surface membrane cytoskeleton in maintenance and restoration of platelet discoid shape. *Am J Pathol.* 152(2):597-609.
88. White JG, Krivit W (1967). An ultrastructural basis for the shape changes induced in platelets by chilling. *Blood.* 30(5):625-635.
89. Rumbaut RE, Thiagarajan P (2010). *Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function to Disease. Platelet-Vessel Wall Interactions in Hemostasis and Thrombosis.* San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences Copyright (c) 2010 by Morgan & Claypool Life Sciences.
90. Italiano JE, Hartwig JH. Chapter 2 – Megakaryocyte Development and Platelet Formation A2 - Michelson, Alan D. *Platelets (Third Edition).* Academic Press. 2013:27-49.
91. Patel SR, Hartwig JH, Italiano JE Jr (2005). The biogenesis of platelets from megakaryocyte proplatelets. *J Clinical Invest.* 115(12):3348-3354.
92. Ogawa M (1993). Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells. *Blood.* 81(11):2844-2853.
93. Kaushansky K (1995). Thrombopoietin: the primary regulator of platelet production. *Blood.* 86(2):419-431.
94. Jagerschmidt A, Fleury V, Anger-Leroy M, Thomas C, Agnel M, O'Brien D P (1998). Human thrombopoietin structure-function relationships: identification of functionally important residues. *Biochem J.* 333(Pt 3):729-734.
95. Kato T, Matsumoto A, Ogami K, Tahara T, Morita H, Miyazaki H (1998). Native thrombopoietin: structure and function. *Stem cells (Dayton, Ohio).* 16(5):322-328.
96. Behnke O, Forer A (1998). From megakaryocytes to platelets: platelet morphogenesis takes place in the bloodstream. *Eur J Haematol Suppl.* 61:3-23.
97. Josefsson EC, Dowling MR, Lebois M, Kile BT. Chapter 3 - The Regulation of Platelet Life Span A2 - Michelson, Alan D. *Platelets (Third Edition).* Academic Press. 2013:51-65.
98. Mustard JF, Rowsell HC, Murphy EA (1966). Platelet economy (platelet survival and turnover). *Br J Haematol.* 12(1):1-24.
99. Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postema CE, Ding L, Lindsten T, Turka LA, Mao X, Nuñez G, Thompson (1993). Bcl-x, a bcl-2-related gene that

- functions as a dominant regulator of apoptotic cell death. *Cell*. 74(4):597-608.
100. Zhang H, Nimmer PM, Tahir SK, Chen J, Fryer RM, Hahn KR, Iciek LA, Morgan SJ, Nasarre MC, Nelson R, Preusser LC, Reinhart GA, Smith ML, Rosenberg SH, Elmore SW, Tse C (2007). Bcl-2 family proteins are essential for platelet survival. *Cell Death Differ*. 14(5):943-951.
 101. Mason KD, Carpinelli MR, Fletcher JI, Collinge JE, Hilton AA, Ellis S, Kelly PN, Ekert PG, Metcalf D, Roberts AW, Huang DC, Kile BT (2007). Programmed anuclear cell death delimits platelet life span. *Cell*. 128(6):1173-1186.
 102. Youle RJ, Strasser A (2008). The BCL-2 protein family: opposing activities that mediate cell death. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 9(1):47-59.
 103. Li J, Xia Y, Bertino AM, Coburn JP, Kuter DJ (2000). The mechanism of apoptosis in human platelets during storage. *Transfusion*. 40(11):1320-1329.
 104. White JG, Escolar G (1993). Current concepts of platelet membrane response to surface activation. *Platelets*. 4(4):175-189.
 105. Behnke O (1970). The morphology of blood platelet membrane systems. *Series Haematologica* (1968). 3(4):3-16.
 106. White JG, Conard WJ (1973). The Fine Structure of Freeze-Fractured Blood Platelets. *Am J Pathol*. 70(1):45-56.
 107. White JG (1969). The submembrane filaments of blood platelets. *Am J Pathol*. 56(2):267-277.
 108. Kunicki TJ (1988). Platelet glycoprotein antigens and immune receptors. *Prog Clin Biol Res*. 283:87-123.
 109. Phillips DR, Charo IF, Parise LV, Fitzgerald LA (1988). The platelet membrane glycoprotein IIb-IIIa complex. *Blood*. 71(4):831-843.
 110. Clemetson KJ, JM. C. Chapter 9 - Platelet Receptors A2 - Michalson, Alan D. *Platelets* (Third Edition) Academic Press. 2013:169-194.
 111. Escolar G, Krumwiede M, White JG (1986). Organization of the actin cytoskeleton of resting and activated platelets in suspension. *Am J Pathol*. 123(1):86-94.
 112. Behnke O (1970). Microtubules in disk-shaped blood cells. *Int Rev Exp Pathol*. 9:1-92.
 113. Fox JE, Phillips DR (1981). Inhibition of actin polymerization in blood platelets by cytochalasins. *Nature*. 292(5824):650-652.

114. Hartwig JH. Chapter 8 - The Platelet Cytoskeleton A2 - Michelson, Alan D. Platelets (Third Edition): Academic Press; 2013. p. 145-68. Academic Press. 2013:145-168.
115. White JG (1968). Fine structural alterations induced in platelets by adenosine diphosphate. *Blood*. 31(5):604-622.
116. White JG (2003). Electron-dense chains and clusters in platelets from patients with storage pool-deficiency disorders. *J Thromb Haemost*. 1(1):74-79.
117. King SM, Reed GL (2002). Development of platelet secretory granules. *Semin Cell Dev Biol*. 13(4):293-302.
118. Flaumenhaft R. Chapter 18 - Platelet Secretion A2 - Michelson, Alan D. Platelets (Third Edition). Academic Press. 2013:343-366.
119. Berger G, Masse JM, Cramer EM (1996). Alpha-granule membrane mirrors the platelet plasma membrane and contains the glycoproteins Ib, IX, and V. *Blood*. 87(4):1385-1395.
120. Maynard DM, Heijnen HF, Horne MK, White JG, Gahl WA (2007). Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry. *J Thromb Haemost*. 5(9):1945-1955.
121. Rendu F, Brohard-Bohn B (2001). The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*. 12(5):261-273.
122. Holmsen H, Weiss HJ (1979). Secretable storage pools in platelets. *Annual Review of Medicine*. 30:119-34.
123. McNicol A, Israels SJ (1999). Platelet dense granules: structure, function and implications for haemostasis. *Thrombosis Research*. 95(1):1-18.
124. Duerschmied D, Bode C (2009). Die Rolle von Serotonin in der Hämostase. *Hämostaseologie*. 29(4):356-359.
125. White JG, Escolar G (1991). The blood platelet open canalicular system: a two-way street. *Eur J Cell Biol*. 56(2):233-242.
126. Escolar G, Leistikow E, White JG (1989). The fate of the open canalicular system in surface and suspension-activated platelets. *Blood*. 74(6):1983-1988.
127. Gerrard JM, White JG, Rao GH, Townsend D (1976). Localization of platelet prostaglandin production in the platelet dense tubular system. *Am J Pathol*. 83(2):283-298.
128. Lusis AJ (2000). Atherosclerosis. *Nature*. 407(6801):233-241.
129. Ross R (1999). Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 340(2):115-126.

130. Libby P (2001). What have we learned about the biology of atherosclerosis? The role of inflammation. *Am J Cardiol.* 88(7B):3J-6J.
131. Suzuki H, Kurihara Y, Takeya M, Kamada N, Kataoka M, Jishage K, et al. (1997). A role for macrophage scavenger receptors in atherosclerosis and susceptibility to infection. *Nature.* 386(6622):292-296.
132. Tanaga K, Bujo H, Inoue M, Mikami K, Kotani K, Takahashi K, Kanno T, Saito Y (2002). Increased circulating malondialdehyde-modified LDL levels in patients with coronary artery diseases and their association with peak sizes of LDL particles. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 22(4):662-666.
133. Fogelman AM, Shechter I, Seager J, Hokom M, Child JS, Edwards PA (1980). Malondialdehyde alteration of low density lipoproteins leads to cholesteryl ester accumulation in human monocyte-macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 77(4):2214-2218.
134. Amaki T, Suzuki T, Nakamura F, Hayashi D, Imai Y, Morita H, Fukino, K, Nojiri, T, Kitano, S, Hibi, N, Yamazaki T, Nagai R (2004). Circulating malondialdehyde modified LDL is a biochemical risk marker for coronary artery disease. *Heart.* 90(10):1211-1213.
135. Ruggeri ZM (2002). Platelets in atherothrombosis. *Nat Med.* 8(11):1227-1234.
136. Massberg S, Brand K, Gruner S, Page S, Muller E, Muller I, Bergmeier W, Richter T, Lorenz M, Konrad I, Nieswandt B, Gawaz M (2002). A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med.* 196(7):887-896.
137. Weyrich A, Cipollone F, Mezzetti A, Zimmerman G (2007). Platelets in atherothrombosis: new and evolving roles. *Curr Pharm Des.* 13(16):1685-1691.
138. Huo Y, Schober A, Forlow SB, Smith DF, Hyman MC, Jung S, Littman DR, Weber C, Ley K (2003). Circulating activated platelets exacerbate atherosclerosis in mice deficient in apolipoprotein E. *Nat Med.* 9(1):61-67.
139. Langer HF, Geisler T, Gawaz M. Chapter 32 -Atherothrombosis and Coronary Artery Disease A2 - Michelson, Alan D. Platelets (Third Edition). Academic Press. 2003:653-668.
140. Bombeli T, Schwartz BR, Harlan JM (1998). Adhesion of activated platelets to endothelial cells: evidence for a GPIIb/IIIa-dependent bridging mechanism and novel roles for endothelial intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), alpha v beta 3 integrin, and GPIbalpha. *J Exp Med.* 187(3):329-39.

141. Langer HF, Gawaz M (2008). Platelet-vessel wall interactions in atherosclerotic disease. *Thromb Haemost.* 99(3):480-486.
142. Gawaz M (2003). Do platelets trigger atherosclerosis? *Thromb Haemost.* 90(6):971-972.
143. Theilmeier G, Michiels C, Spaepen E, Vreys I, Collen D, Vermylen J, Hoylaerts MF (2002). Endothelial von Willebrand factor recruits platelets to atherosclerosis-prone sites in response to hypercholesterolemia. *Blood.* 99(12):4486-4493.
144. Henn V, Slupsky JR, Grafe M, Anagnostopoulos I, Forster R, Muller-Berghaus G, Kroczeck RA (1998). CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature.* 391(6667):591-594.
145. May AE, Kalsch T, Massberg S, Herouy Y, Schmidt R, Gawaz M (2002). Engagement of glycoprotein IIb/IIIa (alpha(IIb)beta3) on platelets upregulates CD40L and triggers CD40L-dependent matrix degradation by endothelial cells. *Circulation.* 106(16):2111-2117.
146. Dong ZM, Chapman SM, Brown AA, Frenette PS, Hynes RO, Wagner DD (1998). The combined role of P- and E-selectins in atherosclerosis. *J Clin Invest.* 102(1):145-152.
147. Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T, Reininger A, Adelsberger H, Gebhardt A, Schömig A (1997). Vitronectin receptor (alpha(v)beta3) mediates platelet adhesion to the luminal aspect of endothelial cells: implications for reperfusion in acute myocardial infarction. *Circulation.* 96(6):1809-1818.
148. Simon DI, Chen Z, Xu H, Li CQ, Dong J, McIntire LV, Ballantyne CM, Zhang L, Furman MI, Berndt MC, López JA (2000). Platelet glycoprotein Ialpha is a counterreceptor for the leukocyte integrin Mac-1 (CD11b/CD18). *J Exp Med.* 192(2):193-204.
149. Bultmann A, Li Z, Wagner S, Peluso M, Schonberger T, Weis C, Konrad I, Stellos K, Massberg S, Nieswandt B, Gawaz M, Ungerer M, Münch G (2010). Impact of glycoprotein VI and platelet adhesion on atherosclerosis--a possible role of fibronectin. *J Mol Cell Cardiol.* 49(3):532-542.
150. Schober A, Manka D, von Hundelshausen P, Huo Y, Hanrath P, Sarembock IJ, Ley, Weber C (2002). Deposition of platelet RANTES triggering monocyte recruitment requires P-selectin and is involved in neointima formation after arterial injury. *Circulation.* 106(12):1523-1529.
151. Scheuerer B, Ernst M, Durrbaum-Landmann I, Fleischer J, Grage-Griebenow E, Brandt E, Flad HD, Petersen F (2000). The CXC-chemokine platelet factor 4 promotes monocyte survival and induces monocyte differentiation into macrophages. *Blood.* 95(4):1158-1166.

152. Sachais BS, Kuo A, Nassar T, Morgan J, Kariko K, Williams KJ, Feldman M, Aviram M, Shah N, Jarett L, Poncz M, Cines DB, Higazi AA (2002). Platelet factor 4 binds to low-density lipoprotein receptors and disrupts the endocytic machinery, resulting in retention of low-density lipoprotein on the cell surface. *Blood*. 99(10):3613-3622.
153. Nassar T, Sachais BS, Akkawi S, Kowalska MA, Bdeir K, Leitersdorf E, Hiss E, Ziporen L, Aviram M, Cines D, Poncz M, Higazi AA (2003). Platelet factor 4 enhances the binding of oxidized low-density lipoprotein to vascular wall cells. *J Biol Chem*. 278(8):6187-6193.
154. Schafer A, Schulz C, Eigenthaler M, Fraccarollo D, Kobsar A, Gawaz M, Ertl G, Walter U, Bauersachs J (2004). Novel role of the membrane-bound chemokine fractalkine in platelet activation and adhesion. *Blood*. 103(2):407-412.
155. Feingold KR, Grunfeld C. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, et al., editors (2000). *Introduction to Lipids and Lipoproteins*. Endotext. South Dartmouth (MA): MDTText.com, Inc.; 2000.
156. The Pooling Project Research group-Leonard Cook (1978). Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to incidence of major coronary events: final report of the pooling project. *Journal of Chronic Diseases*. 31(4):201-306.
157. Anderson KM, Castelli WP, Levy D (1987). Cholesterol and mortality. 30 years of follow-up from the Framingham study. *JAMA*. 257(16):2176-2180.
158. Stamler J, Wentworth D, Neaton JD (1986). Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356,222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *JAMA*. 256(20):2823-2828.
159. Castelli WP (1988). Cholesterol and lipids in the risk of coronary artery disease--the Framingham Heart Study. *Can J Cardiol*. 4(Suppl A):5a-10a.
160. Watson AD, Berliner JA, Hama SY, La Du BN, Faull KF, Fogelman AM, Navab M (1995). Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. *J Clin Invest*. 96(6):2882-2891.
161. Parthasarathy S, Barnett J, Fong LG (1990). High-density lipoprotein inhibits the oxidative modification of low-density lipoprotein. *Biochimica et Biophysica acta*. 1044(2):275-283.
162. Rubin EM, Krauss RM, Spangler EA, Verstuyft JG, Clift SM (1991). Inhibition of early atherogenesis in transgenic mice by human apolipoprotein AI. *Nature*. 353(6341):265-267.

163. Khera AV, Demler OV, Adelman SJ, Collins HL, Glynn RJ, Ridker PM, Rader DJ, Mora S (2017). Cholesterol Efflux Capacity, High-Density Lipoprotein Particle Number, and Incident Cardiovascular Events: An Analysis From the JUPITER Trial (Justification for the Use of Statins in Prevention: An Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin). *Circulation*. 135(25):2494-2504.
164. Boden WE, Probstfield JL, Anderson T, Chaitman BR, Desvignes-Nickens P, Koprowicz K, McBride R, Teo K, Weintraub W (2011). Niacin in patients with low HDL cholesterol levels receiving intensive statin therapy. *N Engl J Med*. 365(24):2255-2267.
165. Landray MJ, Haynes R, Hopewell JC, Parish S, Aung T, Tomson J, Wallendszus K, Craig M, Jiang L, Collins R, Armitage J (2014). Effects of extended-release niacin with laropiprant in high-risk patients. *The N Engl J Med*. 371(3):203-212.
166. Assmann G, Schulte H, Funke H, von Eckardstein A (1998). The emergence of triglycerides as a significant independent risk factor in coronary artery disease. *Eur Heart J*. 19(Suppl M):M8-14.
167. Austin MA, Hokanson JE, Edwards KL (1998). Hypertriglyceridemia as a cardiovascular risk factor. *Am J Cardiol*. 81(4a):7b-12b.
168. Grundy SM (1998;). Hypertriglyceridemia, atherogenic dyslipidemia, and the metabolic syndrome. *Am J Cardiol*. 81(4a):18b-25b.
169. Sachdeva A, Cannon CP, Deedwania PC, Labresh KA, Smith SC, Jr., Dai D, Hernandez A, Fonarow GC (2009). Lipid levels in patients hospitalized with coronary artery disease: an analysis of 136,905 hospitalizations in Get With The Guidelines. *Am Heart J*. 157(1):111-117.
170. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, Hoes AW, Jennings CS, Landmesser U, Pedersen TR, Reiner Ž, Riccardi G, Taskinen MR, Tokgozoglu L, Verschuren WMM, Vlachopoulos C, Wood DA, Zamorano JL, Cooney MT (2016). 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 37(39):2999-3058.
171. Stone NJ, Robinson JG, Lichtenstein AH, Bairey Merz CN, Blum CB, Eckel RH, Goldberg AC, Gordon D, Levy D, Lloyd-Jones DM, McBride P, Schwartz JS, Shero ST, Smith SC Jr, Watson K, Wilson PW (2014). 2013 ACC/AHA guideline on the treatment of blood cholesterol to reduce atherosclerotic cardiovascular risk in adults: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 63(25 Pt B):2889-2934.
172. Sinning D, Landmesser U (2016). [ECS guidelines 2016 - dyslipidaemias]. *Herz*. 41(8):671-676.
173. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, Ducimetière P, Jousilahti U, Keil I, Njølstad RG, Oganov T, Thomsen T, Tunstall-Pedoe A, Tverdal H, Wedel P, Whincup L, Wilhelmsen L,

- Graham IM (2003). Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J.* 24(11):987-1003.
174. Mihas C, Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, Lairon D, Nordestgaard BG, Ooi TC, Perez-Martinez P, Bilianou H, Anagnostopoulou K, Panotopoulos G (2011). Diagnostic value of postprandial triglyceride testing in healthy subjects: a meta-analysis. *Curr Vasc Pharmacol.* 9(3):271-280.
175. Kolovou GD, Mikhailidis DP, Kovar J, Lairon D, Nordestgaard BG, Ooi TC, Perez-Martinez P, Bilianou H, Anagnostopoulou K, Panotopoulos G (2011). Assessment and clinical relevance of non-fasting and postprandial triglycerides: an expert panel statement. *Curr Vasc Pharmacol.* 9(3):258-270.
176. Schaefer EJ, Audelin MC, McNamara JR, Shah PK, Tayler T, Daly JA, Augustin JL, Seman LJ, Rubenstein JJ (2001). Comparison of fasting and postprandial plasma lipoproteins in subjects with and without coronary heart disease. *Am J Cardiol.* 88(10):1129-1133.
177. Baigent C, Blackwell L, Emberson J, Holland LE, Reith C, Bhalra N, Peto R, Barnes EH, Keech A, Simes J, Collins R (2010). Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170,000 participants in 26 randomised trials. *Lancet.* 376(9753):1670-1681.
178. LaRosa JC, Grundy SM, Waters DD, Shear C, Barter P, Fruchart JC, Gotto AM, Greten H, Kastelein JJ, Shepherd J, Wenger NK (2005). Intensive lipid lowering with atorvastatin in patients with stable coronary disease. *N Engl J Med.* 352(14):1425-1435.
179. Cannon CP, Blazing MA, Giugliano RP, McCagg A, White JA, Theroux P, Darius H, Lewis BS, Ophuis TO, Jukema JW, De Ferrari GM, Ruzyllo W, De Lucca P, Im K, Bohula EA, Reist C, Wiviott SD, Tershakovec AM, Musliner TA, Braunwald E, Califf RM (2015). Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes. *N Engl J Med.* 372(25):2387-2397.
180. Mihaylova B, Emberson J, Blackwell L, Keech A, Simes J, Barnes EH, Voysey M, Gray A, Collins R, Baigent C (2012). The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. *Lancet.* 380(9841):581-590.
181. Fulcher J, O'Connell R, Voysey M, Emberson J, Blackwell L, Mihaylova B, Simes J, Collins R, Kirby A, Colhoun H, Braunwald E, La Rosa J, Pedersen TR, Tonkin A, Davis B, Sleight P, Franzosi MG, Baigent C, Keech A (2015). Efficacy and safety of LDL-lowering therapy among men and women: meta-analysis of individual data from 174,000 participants in 27 randomised trials. *Lancet.* 385(9976):1397-1405.

182. Phillips PS, Haas RH, Bannykh S, Hathaway S, Gray NL, Kimura BJ, Vladutiu GD, England JD (2002). Statin-associated myopathy with normal creatine kinase levels. *Ann Intern Med.* 137(7):581-585.
183. Bruckert E, Hayem G, Dejager S, Yau C, Begaud B (2005). Mild to moderate muscular symptoms with high-dosage statin therapy in hyperlipidemic patients--the PRIMO study. *Cardiovasc Drugs Ther.* 19(6):403-414.
184. Parker BA, Capizzi JA, Grimaldi AS, Clarkson PM, Cole SM, Keadle J, Chipkin S, Pescatello LS, Simpson K, White CM, Thompson PD (2013). Effect of statins on skeletal muscle function. *Circulation.* 127(1):96-103.
185. Cziraky MJ, Willey VJ, McKenney JM, Kamat SA, Fisher MD, Guyton JR, Jacobson TA, Davidson MH (2013). Risk of hospitalized rhabdomyolysis associated with lipid-lowering drugs in a real-world clinical setting. *J Clin Lipidol.* 7(2):102-108.
186. Abifadel M, Varret M, Rabes JP, Allard D, Ouguerram K, Devillers M, Cruaud C, Benjannet S, Wickham L, Erlich D, Derré A, Villéger L, Farnier M, Beucler I, Bruckert E, Chambaz J, Chanu B, Lecerf JM, Luc G, Moulin P, Weissenbach J, Prat A, Krempf M, Junien C, Seidah NG, Boileau C (2003) Mutations in PCSK9 cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Nat Genet.* 34(2):154-156.
187. Benjannet S, Rhainds D, Essalmani R, Mayne J, Wickham L, Jin W, Jin W, Asselin MC, Hamelin J, Varret M, Allard D, Trillard M, Abifadel M, Tebon A, Attie AD, Rader DJ, Boileau C, Brissette L, Chrétien M, Prat A, Seidah NG (2004). NARC-1/PCSK9 and its natural mutants: zymogen cleavage and effects on the low density lipoprotein (LDL) receptor and LDL cholesterol. *J Biol Chem.* 279(47):48865-75.
188. Qian YW, Schmidt RJ, Zhang Y, Chu S, Lin A, Wang H, Wang X, Beyer TP, Bensch WR, Li W, Ehsani ME, Lu D, Konrad RJ, Eacho PI, Moller DE, Karathanasis SK, Cao G (2007). Secreted PCSK9 downregulates low density lipoprotein receptor through receptor-mediated endocytosis. *J Lipid Res.* 48(7):1488-1498.
189. Chan JC, Piper DE, Cao Q, Liu D, King C, Wang W, Tang J, Liu Q, Higbee J, Xia Z, Di Y, Shetterly S, Arimura Z, Salomonis H, Romanow WG, Thibault ST, Zhang R, Cao P, Yang XP, Yu T, Lu M, Retter MW, Kwon G, Henne K, Pan O, Tsai MM, Fuchslocher B, Yang E, Zhou L, Lee KJ, Daris M, Sheng J, Wang Y, Shen WD, Yeh WC, Emery M, Walker NP, Shan B, Schwarz M, Jackson SM (2009). A proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 neutralizing antibody reduces serum cholesterol in mice and nonhuman primates. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 106(24):9820-9825.
190. Sabatine MS, Giugliano RP, Wiviott SD, Raal FJ, Blom DJ, Robinson J, Ballantyne CM, Somaratne R, Legg J, Wasserman SM, Scott R, Koren

- MJ, Stein EA (2015). Efficacy and safety of evolocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *N Engl J Med.* 372(16):1500-1509.
191. Koren MJ, Lundqvist P, Bolognese M, Neutel JM, Monsalvo ML, Yang J, Kim JB, Scott R, Wasserman SM, Bays H (2014). Anti-PCSK9 monotherapy for hypercholesterolemia: the MENDEL-2 randomized, controlled phase III clinical trial of evolocumab. *J Am Coll Cardiol.* 63(23):2531-2540.
192. Robinson JG, Nedergaard BS, Rogers WJ, Fialkow J, Neutel JM, Ramstad D, Somaratne R, Legg JC, Nelson P, Scott R, Wasserman SM, Weiss R (2014) Effect of evolocumab or ezetimibe added to moderate- or high-intensity statin therapy on LDL-C lowering in patients with hypercholesterolemia: the LAPLACE-2 randomized clinical trial. *JAMA.* 311(18):1870-82.
193. Sabatine MS, Giugliano RP, Keech AC, Honarpour N, Wiviott SD, Murphy SA, Kuder JF, Wang H, Liu T, Wasserman SM, Sever PS, Pedersen TR (2017). Evolocumab and Clinical Outcomes in Patients with Cardiovascular Disease. *N Engl J Med.* 376(18):1713-1722.
194. Raal FJ, Stein EA, Dufour R, Turner T, Civeira F, Burgess L, Langslet G, Scott R, Olsson AG, Sullivan D, Hovingh GK, Cariou B, Gouni-Berthold I, Somaratne R, Bridges I, Scott R, Wasserman SM, Gaudet D (2015). PCSK9 inhibition with evolocumab (AMG 145) in heterozygous familial hypercholesterolaemia (RUTHERFORD-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet.* 385(9965):331-340.
195. Landmesser U, Chapman MJ, Stock JK, Amarenco P, Belch JJF, Boren J, Farnier M, Ference BA, Gielen S, Graham I, Grobbee DE, Hovingh GK, Lüscher TF, Piepoli MF, Ray KK, Stroes ES, Wiklund O, Windecker S, Zamorano JL, Pinto F, Tokgözoğlu L, Bax JJ, Catapano AL (2018). 2017 Update of ESC/EAS Task Force on practical clinical guidance for proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 inhibition in patients with atherosclerotic cardiovascular disease or in familial hypercholesterolaemia. *Eur Heart J.* 39(14):1131-1143.
196. Surya II, Akkerman JW (1993). The influence of lipoproteins on blood platelets. *Am Heart J.* 125(1):272-275.
197. Siegel-Axel D, Daub K, Seizer P, Lindemann S, Gawaz M (2008). Platelet lipoprotein interplay: trigger of foam cell formation and driver of atherosclerosis. *Cardiovasc Res.* 78(1):8-17.
198. Aviram M, Brook JG (1987). Platelet activation by plasma lipoproteins. *Prog Cardiovasc Dis.* 30(1):61-72.
199. Relou IA, Hackeng CM, Akkerman JW, Malle E (2003). Low-density lipoprotein and its effect on human blood platelets. *Cell Mol Life Sci.* 60(5):961-971.

200. Koller E, Koller F, Doleschel W (1982). Specific binding sites on human blood platelets for plasma lipoproteins. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift für physiologische Chemie.* 363(4):395-405.
201. Stellos K, Sauter R, Fahrleitner M, Grimm J, Stakos D, Emschermann F, Panagiota V, Gnerlich S, Perk A, Schönberger T, Bigalke B, Langer HF, Gawaz M (2012) Binding of oxidized low-density lipoprotein on circulating platelets is increased in patients with acute coronary syndromes and induces platelet adhesion to vascular wall in vivo--brief report. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 32(8):2017-2020.
202. Seizer P, Stellos K, Selhorst G, Kramer BF, Lang MR, Gawaz M, May AE (2011). CXCL16 is a novel scavenger receptor on platelets and is associated with acute coronary syndrome. *Thromb Haemost.* 105(6):1112-1114.
203. Chen K, Febbraio M, Li W, Silverstein RL (2008). A specific CD36-dependent signaling pathway is required for platelet activation by oxidized low-density lipoprotein. *Circulation Research.* 102(12):1512-1519.
204. Chen M, Kakutani M, Naruko T, Ueda M, Narumiya S, Masaki T, Sawamura T (2001). Activation-dependent surface expression of LOX-1 in human platelets. *Biochem Biophys Res Commun.* 282(1):153-158.
205. Korporaal SJ, Van Eck M, Adelmeijer J, Ijsseldijk M, Out R, Lisman T, Lenting PJ, Van Berkel TJ, Akkerman JW (2007). Platelet activation by oxidized low density lipoprotein is mediated by CD36 and scavenger receptor-A. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 27(11):2476-2483.
206. Magwenzi S, Woodward C, Wraith KS, Aburima A, Raslan Z, Jones H, McNeil C, Wheatcroft S, Yuldasheva N, Febbraio M, Kearney M, Naseem KM (2015). Oxidized LDL activates blood platelets through CD36/NOX2-mediated inhibition of the cGMP/protein kinase G signaling cascade. *Blood.* 125(17):2693-2703.
207. Carnevale R, Pignatelli P, Lenti L, Buchetti B, Sanguigni V, Di Santo S, Violi F (2007). LDL are oxidatively modified by platelets via GP91(phox) and accumulate in human monocytes. *FASEB J.* 21(3):927-934.
208. Carnevale R, Bartimoccia S, Nocella C, Di Santo S, Loffredo L, Illuminati G, Lombardi E, Boz V, Del Ben M, De Marco L, Pignatelli P, Violi F (2014). LDL oxidation by platelets propagates platelet activation via an oxidative stress-mediated mechanism. *Atherosclerosis.* 237(1):108-116.
209. Chatterjee M, Rath D, Schlotterbeck J, Rheinlaender J, Walker-Allgaier B, Alnaggar N, Zdanyte M, Müller I, Borst O, Geisler T, Schäffer TE, Lämmerhofer M, Gawaz M (2017). Regulation of oxidized platelet lipidome: implications for coronary artery disease. *Eur Heart J.* 38(25):1993-2005.
210. Salomon RG (2012). Structural identification and cardiovascular activities of oxidized phospholipids. *Circulation Research.* 111(7):930-946.

211. Laaksonen R, Ekroos K, Sysi-Aho M, Hilvo M, Vihervaara T, Kauhanen D, Suoniemi M, Hurme R, März W, Scharnagl H, Stojakovic T, Vlachopoulou E, Lokki ML, Nieminen MS, Klingenberg R, Matter CM, Hornemann T, Jüni P, Rodondi N, Räber L, Windecker S, Gencer B, Pedersen ER, Tell GS, Nygård O, Mach F, Sinisalo J, Lüscher TF (2016). Plasma ceramides predict cardiovascular death in patients with stable coronary artery disease and acute coronary syndromes beyond LDL-cholesterol. *Eur Heart J.* 37(25):1967-1976.
212. Shah SH, Sun JL, Stevens RD, Bain JR, Muehlbauer MJ, Pieper KS, Pieper KS, Haynes C, Hauser ER, Kraus WE, Granger CB, Newgard CB, Califf RM, Newby LK (2012). Baseline metabolomic profiles predict cardiovascular events in patients at risk for coronary artery disease. *Am Heart J.* 163(5):844-50.e1.
213. Chatterjee M, Rath D, Gawaz M (2015). Role of chemokine receptors CXCR4 and CXCR7 for platelet function. *Bioch Soc Trans.* 43(4):720-726.
214. Chatterjee M, von Ungern-Sternberg SN, Seizer P, Schlegel F, Buttcher M, Sindhu NA, Sindhu NA, Müller S, Mack A, Gawaz M (2015). Platelet-derived CXCL12 regulates monocyte function, survival, differentiation into macrophages and foam cells through differential involvement of CXCR4-CXCR7. *Cell Death Dis.* 6(1):e1989.
215. Walsh TG, Harper MT, Poole AW (2015). SDF-1alpha is a novel autocrine activator of platelets operating through its receptor CXCR4. *Cellular Signalling.* 27(1):37-46.
216. Rath D, Chatterjee M, Borst O, Muller K, Stellos K, Mack AF, Bongartz A, Bigalke B, Langer H, Schwab M, Gawaz M, Geisler T (2014). Expression of stromal cell-derived factor-1 receptors CXCR4 and CXCR7 on circulating platelets of patients with acute coronary syndrome and association with left ventricular functional recovery. *Eur Heart J.* 35(6):386-394.
217. Rath D, Chatterjee M, Bongartz A, Müller K, Droppa M, Stimpfle F, Borst O, Zuern C, Vogel S, Gawaz M, Geisler T (2017). Platelet surface expression of SDF-1 is associated with clinical outcomes in the patients with cardiovascular disease. *Platelets.* 28(1):34-39.
218. World Medical Association declaration of Helsinki. Recommendations guiding physicians in biomedical research involving human subjects. (1997). *JAMA.* 277(11):925-6.
219. ICH harmonized tripartite guideline: Guideline for Good Clinical Practice. (2001). *Journal of Postgraduate Medicine.* 47(1):45-50.
220. 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. *Medical Ethics & Bioethics : Journal of the Institute of Medical Ethics & Bioethics*. 2002;9(1-2):12-19.
221. Shattil SJ, Cunningham M, Hoxie JA (1987). Detection of activated platelets in whole blood using activation-dependent monoclonal antibodies and flow cytometry. *Blood*. 70(1):307-315.
222. Salmon S, Maziere C, Theron L, Beucler I, Ayrault-Jarrier M, Goldstein S, Polonozski J (1987). Immunological detection of low-density lipoproteins modified by malondialdehyde in vitro or in vivo. *Biochim Biophys Acta*. 920(3):215-220.
223. Kotani K, Maekawa M, Kanno T, Kondo A, Toda N, Manabe M (1994). Distribution of immunoreactive malondialdehyde-modified low-density lipoprotein in human serum. *Biochim Biophys Acta*. 1215(1-2):121-125.
224. Tsimikas S, Brilakis ES, Miller ER, McConnell JP, Lennon RJ, Kornman KS, Witztum JL, Berger PB (2005). Oxidized phospholipids, Lp(a) lipoprotein, and coronary artery disease. *N Engl J Med*. 353(1):46-57.
225. Kotseva K, Wood D, De Bacquer D, De Backer G, Ryden L, Jennings C, et al. (2016). EUROASPIRE IV: A European Society of Cardiology survey on the lifestyle, risk factor and therapeutic management of coronary patients from 24 European countries. *Eur J Prev Cardiol*. 23(6):636-648.
226. Poon S, Goodman SG, Yan RT, Bugiardini R, Bierman AS, Eagle KA, Johnston N, Huynh T, Grondin FR, Schenck-Gustafsson K, Yan AT (2012). Bridging the gender gap: Insights from a contemporary analysis of sex-related differences in the treatment and outcomes of patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J*. 163(1):66-73.
227. Worrall-Carter L, McEvedy S, Wilson A, Rahman MA (2016). Gender Differences in Presentation, Coronary Intervention, and Outcomes of 28,985 Acute Coronary Syndrome Patients in Victoria, Australia. *Women's Health Issues*. 26(1):14-20.
228. Baigent C, Blackwell L, Collins R, Emberson J, Godwin J, Peto R, Buring J, Hennekens C, Kearney P, Meade T, Patrono C, Roncaglioni MC, Zanchetti A (2009). Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. *Lancet*. 373(9678):1849-1860.
229. Baigent C, Blackwell L, Collins R, Emberson J, Godwin J, Peto R, Buring J, Hennekens C, Kearney P, Meade T, Patrono C, Roncaglioni MC, Zanchetti A Antithrombotic Trialists' Collaboration (2002). Collaborative meta-analysis of randomised trials of antiplatelet therapy for prevention of death, myocardial infarction, and stroke in high risk patients. *BMJ*. 324(7329):71-86.
230. Goodall AH, Appleby J (2004). Flow-cytometric analysis of platelet-membrane glycoprotein expression and platelet activation. *Methods Mol Biol*. 272:225-253.

231. Nording H, Giesser A, Patzelt J, Sauter R, Emschermann F, Stellos K, Gawaz M, Langer HF (2016). Platelet bound oxLDL shows an inverse correlation with plasma anaphylatoxin C5a in patients with coronary artery disease. *Platelets*. 27(6):593-597.
232. Akkerman JW (2008). From low-density lipoprotein to platelet activation. *Int J Biochem Cell Biol*. 40(11):2374-2378.
233. Kondo A, Li J, Manabe M, Saito K, Kanno T, Maekawa M (2003). Relationship between high-density lipoprotein-cholesterol and malondialdehyde-modified low-density lipoprotein concentrations. *J Atheroscler Thromb*. 10(2):72-78.
234. Girotti AW (1985). Mechanisms of lipid peroxidation. *J Free Radic Biol Med*. 1(2):87-95.
235. Austin MA, Breslow JL, Hennekens CH, Buring JE, Willett WC, Krauss RM (1988). Low-density lipoprotein subclass patterns and risk of myocardial infarction. *JAMA*. 260(13):1917-1921.
236. Kondo A MY, Ohta I, Notsu K, Manabe M, Kotani K, Saito K, Maekawa M, Kanno T (2001). Relationship between Triglyceride Concentrations and LDL Size Evaluated by Malondialdehyde- modified LDL. *Clin Chem*. 47(5):893–900.
237. Neumann FJ, Sousa-Uva M, Ahlsson A, Alfonso F, Banning AP, Benedetto U, Byrne RA, Collet JP, Falk V, Head SJ, Jüni P, Kastrati A, Koller A, Kristensen SD, Niebauer J, Richter DJ, Seferovic PM, Sibbing D, Stefanini GG, Windecker S, Yadav R, Zembala MO (2018). 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J*. 40(2):87-165.
238. Slatter DA, Aldrovandi M, O'Connor A, Allen SM, Brasher CJ, Murphy RC, Mecklemann S, Ravi S, Darley-Usmar V, O'Donnell VB (2016). Mapping the Human Platelet Lipidome Reveals Cytosolic Phospholipase A2 as a Regulator of Mitochondrial Bioenergetics during Activation. *Cell Metab*. 23(5):930-944.
239. Aldrovandi M, Hammond VJ, Podmore H, Hornshaw M, Clark SR, Marnett LJ, Slatter DA, Murphy RC, Collins PW, O'Donnell VB (2013). Human platelets generate phospholipid-esterified prostaglandins via cyclooxygenase-1 that are inhibited by low dose aspirin supplementation. *J Lipid Res*. 54(11):3085-3097.
240. Puccetti L, Pasqui AL, Pastorelli M, Bova G, Cercignani M, Palazzuoli A, Angori P, Auteri A, Bruni F (2002). Time-dependent effect of statins on platelet function in hypercholesterolaemia. *Eur J Clin Invest*. 32(12):901-908.
241. Bruni F, Pasqui AL, Pastorelli M, Bova G, Cercignani M, Palazzuoli A, Sawamura T, Gioffre WR, Auteri A, Puccetti L (2005). Different effect of statins on platelet oxidized-LDL receptor (CD36 and LOX-1) expression

- in hypercholesterolemic subjects. *Clin Appl Thromb Hemost.* 11(4):417-428.
242. Luzak B, Rywaniak J, Stanczyk L, Watala C (2012). Pravastatin and simvastatin improves acetylsalicylic acid-mediated in vitro blood platelet inhibition. *Eur J Clin Invest.* 42(8):864-872.
243. Luzak B, Boncler M, Rywaniak J, Wilk R, Stanczyk L, Czyz M, Rysz J, Watala C (2011). The effect of a platelet cholesterol modulation on the acetylsalicylic acid-mediated blood platelet inhibition in hypercholesterolemic patients. *Eur J Pharmacol.* 658(2-3):91-97.
244. Tani S, Watanabe I, Anazawa T, Kawamata H, Tachibana E, Furukawa K, Sato Y, Nagao K, Kanmatsuse K, Kushiro T (2005). Effect of pravastatin on malondialdehyde-modified low-density lipoprotein levels and coronary plaque regression as determined by three-dimensional intravascular ultrasound. *Am J Cardiol.* 96(8):1089-1094.
245. Tamura A, Watanabe T, Nasu M (2003). Effects of atorvastatin and pravastatin on malondialdehyde-modified LDL in hypercholesterolemic patients. *Circ J.* 67(10):816-820.
246. Vasankari T, Ahotupa M, Toikka J, Mikkola J, Irjala K, Pasanen P, Neuvonen K, Raitakari O, Viikari J (2001). Oxidized LDL and thickness of carotid intima-media are associated with coronary atherosclerosis in middle-aged men: lower levels of oxidized LDL with statin therapy. *Atherosclerosis.* 155(2):403-412.
247. Tsimikas S, Bergmark C, Beyer RW, Patel R, Pattison J, Miller E, Juliano J, Witztum JL (2003). Temporal increases in plasma markers of oxidized low-density lipoprotein strongly reflect the presence of acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol.* 41(3):360-370.
248. Wilson SH, Simari RD, Best PJ, Peterson TE, Lerman LO, Aviram M, Nath KA, Holmes DR Jr, Lerman A (2001). Simvastatin preserves coronary endothelial function in hypercholesterolemia in the absence of lipid lowering. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 21(1):122-128.
249. Wagner AH, Kohler T, Ruckschloss U, Just I, Hecker M (2000). Improvement of nitric oxide-dependent vasodilatation by HMG-CoA reductase inhibitors through attenuation of endothelial superoxide anion formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 20(1):61-69.
250. Wassmann S, Laufs U, Baumer AT, Muller K, Ahlbory K, Linz W, Itter G, Rösen R, Böhm M, Nickenig G (2001). HMG-CoA reductase inhibitors improve endothelial dysfunction in normocholesterolemic hypertension via reduced production of reactive oxygen species. *Hypertension.* 37(6):1450-1457.
251. Steer KA, Wallace TM, Bolton CH, Hartog M (1997). Aspirin protects low density lipoprotein from oxidative modification. *Heart.* 77(4):333-337.

252. Wu R, Lamontagne D, de Champlain J (2002). Antioxidative properties of acetylsalicylic Acid on vascular tissues from normotensive and spontaneously hypertensive rats. *Circulation*. 105(3):387-392.
253. El Midaoui A, Wu R, de Champlain J (2002). Prevention of hypertension, hyperglycemia and vascular oxidative stress by aspirin treatment in chronically glucose-fed rats. *Journal of Hypertension*. 20(7):1407-1142.
254. Boekholdt SM, Hovingh GK, Mora S, Arsenault BJ, Amarenco P, Pedersen TR, LaRosa JC, Waters DD, DeMicco DA, Simes RJ, Keech AC, Colquhoun D, Hitman GA, Betteridge DJ, Clearfield MB, Downs JR, Colhoun HM, Gotto AM Jr, Ridker PM, Grundy SM, Kastelein JJ (2014). Very low levels of atherogenic lipoproteins and risk of cardiovascular events; a meta-analysis of statin trials. *J Am Coll Cardiol*. 64(5):485-494.
255. Weng TC, Yang YHK, Lin SJ, Tai SH (2010). A systematic review and meta-analysis on the therapeutic equivalence of statins. *J Clin Pharm Ther*. 35(2):139-151.
256. Santos MT, Fuset MP, Ruano M, Moscardo A, Valles J (2009). Effect of atorvastatin on platelet thromboxane A(2) synthesis in aspirin-treated patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*. 104(12):1618-1623.
257. Undas A, Siudak Z, Topor-Madry R, Lesniak M, Tracz W (2012). Simvastatin administration reduces thromboxane production in subjects taking aspirin: links between aspirin resistance and thrombin generation. *Int J Cardiol*. 154(1):59-64.

8 Erklärung zum Eigenanteil

Diese Dissertationsschrift wurde in der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik, Abteilung Innere Medizin III, unter der Betreuung von Herrn Prof. Dr. med. Tobias Geisler verfasst. Die Konzeption der Studie erfolgte durch mich in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. med. Tobias Geisler, Herrn Dr. med. Dominik Rath und Frau Dr. rer. nat. Madhumita Chatterjee.

Die durchflusszytometrische Bestimmung des intrazellulären thrombozytären oxLDL wurde durch Frau Nada Alnagar durchgeführt. Die ELISA-Messung von MDA-LDL wurden von Frau Ingrid Epple durchgeführt.

Der ausgewertete Datensatz wurde von mir unter Anleitung von Dr. med. Dominik Rath erstellt. Die Datenrecherche wurde eigenständig durch mich durchgeführt. Für unsere Arbeitsgruppe war ich zudem für das Erheben der Follow-Up-Daten dieser Patientenkohorte zuständig, welche in Zukunft weiteren Forschungsprojekten dienen werden.

Die in der aktuellen Dissertation verwendete Patientenkohorte wurde in einer früheren, nachfolgend genannten, Studie auf thrombozytäre Lipidomics [209] untersucht. Die früher durchgeführten Untersuchungen und Ergebnisse stehen in keinem relevanten Zusammenhang zu dem in der vorliegenden Dissertation erbrachten Eigenleistung.

Madhumita Chatterjee, Dominik Rath, Jörg Schlotterbeck, Johannes Rheinlaender, Britta Walker-Allgaier, Nada Alnagar, Monika Zdanyte, Iris Müller, Oliver Borst, Tobias Geisler, Tilman E. Schäffer, Michael Lämmerhofer, Meinrad Gawaz: Regulation of oxidized platelet lipidome: implications for coronary artery disease, European Heart Journal, Volume 38, Issue 25, 1 July 2017, Pages 1993–2005.

Die statistische Auswertung des Datensatzes wurde, nach Einarbeitung durch Herrn Dr. med. Dominik Rath, durch mich eigenständig durchgeführt. Alle Grafiken wurden von mir eigenständig erstellt.

Ich versichere hiermit, die Dissertationsschrift selbständig verfasst und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 22. Februar 2019

9 Danksagung

Bedanken möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Tobias Geisler für die Möglichkeit, meine Doktorarbeit in seiner Arbeitsgruppe zu verfassen.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Dominik Rath, der mich als Betreuer stets unterstützt hat. Bei ihm möchte ich mich insbesondere für die Einarbeitung in die statistische Auswertung, die große Geduld dabei sowie die Korrektur der schriftlichen Ausarbeitung bedanken. Vielen Dank für die schnellen Antworten auf meine Fragen sowie die häufigen persönlichen Treffen, die mir sehr bei der Erstellung dieser Arbeit geholfen haben.

Weiterer Dank gilt Frau Nada Alnaggar und Ingrid Epple für die professionelle Messung der oxLDL- und MDA-LDL-Werte im Labor. Durch ihre Erfahrung und ihr sorgfältiges Arbeiten konnten verlässliche Ergebnisse erzielt werden.

Ebenfalls möchte ich mich herzlich bei allen Patienten bedanken, welche an dieser Studie teilgenommen haben. Durch ihre Bereitschaft wurde diese Studie überhaupt erst ermöglicht.

Nicht zuletzt gilt mein Dank meiner Familie und meinen Freunden die sich die Zeit genommen haben und mir oft einfach durch ihr Zuhören sehr geholfen haben. Besonders möchte ich mich bei Lennart Mayer bedanken, der mir stets mit seiner Erfahrung zur Seite stand und mir sowohl bei inhaltlichen Fragestellungen als auch bei Fragen zum Wordprogramm und Formatierungen geduldig geholfen hat. Vielen Dank liebe Vero für die sprachliche Unterstützung und das Lesen dieser Arbeit, obwohl du aus einem ganz anderen Gebiet der Wissenschaft kommst und es für dich deshalb sicher nicht leicht war. Vielen Dank an meine Eltern, die es auch in den schwierigen Phasen immer wieder geschafft haben, mich zu motivieren und stets unterstützen. Ohne Euch wären mein Studium und die Fertigstellung dieser Arbeit nicht möglich gewesen.