

Aus der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen
Abteilung Innere Medizin III
Schwerpunkt: Kardiologie und Kreislauferkrankungen

Die thrombozytäre Oberflächenexpression von
Transforming Growth Factor- β 1 beeinflusst die Mortalität
einer Patientenkohorte mit akutem Koronarsyndrom

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard Karls Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Böckmann, Corinna Désirée

2018

Dekan:	Professor Dr. I.B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Professor Dr. T. Geisler
2. Berichterstatter:	Privatdozentin Dr. V. Mirakaj

Tag der Disputation: 17.04.2018

Für meine Familie

Inhaltsverzeichnis

INHALTSVERZEICHNIS	1
ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	3
1. EINLEITUNG	6
1.1 KARDIOVASKULÄRE ERKRANKUNGEN	6
1.1.1 THROMBOZYTEN UND ARTERIOSKLEROSE	7
1.1.2 MYOKARDINFARKT	8
1.2 KARDIALES INTERSTITIUM	9
1.2.1 KARDIALE REPARATURMECHANISMEN	10
1.2.2 FIBROSE	11
1.2.3 HERZINSUFFIZIENZ	12
1.3 DAS ZYTOKIN TGF- β 1 IM HERZEN	13
1.4 KLINISCHE RELEVANZ	15
2. MATERIAL UND METHODIK	17
2.1 STUDIENPOPULATION	17
2.2 DIAGNOSESTELLUNG	18
2.3 STUDIENAUFBAU UND STUDIENDESIGN	18
2.4 FOLLOW-UP	19
2.5 MATERIAL	19
2.6 METHODENANGABE MIT FEHLERBREITE	20
2.6.1 DURCHFLUSSZYTOMETRIE	20
2.6.2 VERARBEITUNG DER BLUTPROBEN	21
2.6.3 STATISTISCHE ANALYSE UND DATENDARSTELLUNG	22
3. ERGEBNISSE	24
3.1 DIE STUDIENPOPULATION	24
3.2 THROMBOZYTÄRES TGF- β 1 UND KLINIK	25
3.3 UNABHÄNGIGKEIT VON TGF- β 1	27
3.4 FOLLOW-UP	29

3.4.1	LV-FUNKTION	30
3.4.2	MORTALITÄT	31
3.4.3	TODESURSACHE	34
4.	DISKUSSION	38
4.1	DIE TGF- β 1-OBERFLÄCHENEXPRESSION	38
4.2	TGF- β 1 UND DIE ERHOLUNG DER LV-FUNKTION	39
4.3	TGF- β 1 UND MORTALITÄT	40
4.4	LIMITIERUNG	42
4.5	SCHLUSSFOLGERUNG	43
5.	ZUSAMMENFASSUNG	45
	TABELLENVERZEICHNIS	47
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	48
	LITERATURVERZEICHNIS	49
	PUBLIKATION	58
	ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL	59
	DANKSAGUNG	60
	LEBENS LAUF	FEHLER! TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.

Abkürzungsverzeichnis

95%KI	95% Konfidenzintervall
α -SMA	Alpha-smooth muscle Actin
ACC	American College of Cardiology
ACE-Hemmer	Angiotensin-Converting-Enzyme-Hemmer
ACS	Akutes Koronarsyndrom
ADP	Adenosindiphosphat
ALM	Allgemeines lineares Modell
Art. Hypertonie	Arterielle Hypertonie
ASS	Acetylsalicylsäure
AT1-R	Angiotensin 1-Rezeptor
ATP	Adenosin-Triphosphat
CD42b	Cluster of Differentiation 42b
CPDA	Citrat Phosphat Dextrose Adenin
CTGF	Connective Tissue Growth Factor
cTnI	kardiales Troponin I
Diab. Mellitus	Diabetes mellitus
ECM	Extrazelluläre Matrix
EKG	Elektrokardiographie
FACS	Fluorescence-activated Cell-Sorting
FITC	Fluoresceinisothiocyanat

GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GPIb	Glykoprotein I b
GPIIb/IIIa	Glykoprotein IIb/IIIa
HLP	Hyperlipoproteinämie
HR	Hazard Ratio
IFN- γ	Interferon- γ
IgG1	Immunglobulin G1
INR	International normalised Ratio
KHK	Koronare Herzkrankheit
LVEF%	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion in Prozent
LV-Funktion	Linksventrikuläre Funktion
NSTEMI	Nicht-ST-Strecken-Hebungsinfarkt
OAK	Orale Antikoagulation
PAI-1	Plasminogen-Activator-Inhibitor-1
PBS	Phosphat-gepufferte Salzlösung
PCI	Perkutane Koronarintervention
PE	Phycoerythrin
SA	Standardabweichung
SAP	Stabile Angina Pectoris
SD	Standardabweichung
SMC	Glatte Muskelzellen

STEMI	ST-Strecken-Hebungsinfarkt
TGF- β 1	Transforming Growth Factor - Beta 1
TNF- α	Tumor Nekrosefaktor-Alpha
VHF	Vorhofflimmern

1. Einleitung

1.1 Kardiovaskuläre Erkrankungen

Seit Jahren gehören kardiovaskuläre Erkrankungen zu den häufigsten Todesursachen weltweit. ^[1] So waren im Jahr 2012 46,2% (17,5 Millionen) der krankheitsbedingten Todesfälle in Deutschland auf diese Erkrankungen zurückzuführen. ^[2] Im Vergleich dazu stellten Krebserkrankungen mit etwa 27% nur die zweithäufigste Todesursache dar. ^[3] Besonders dramatisch betroffen ist die Altersgruppe der unter 70-Jährigen, etwa 37% aller Todesfälle in dieser Altersgruppe sind mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen verbunden. ^[2] Hierunter gehören Erkrankungen wie die koronare ischämische Herzerkrankung, die Herzinsuffizienz und der Herzinfarkt. ^[4]

Die heutigen therapeutischen Interventionen zur Minimierung der Sterblichkeit nach Myokardinfarkt fokussieren hauptsächlich die möglichst schnelle Reperfusion der okkludierten Koronararterie und damit die schnelle Reduktion der Sauerstoffminderversorgung. ^[5] Dank dieser neueren Behandlungsmethoden sank die Mortalitätsrate nach einem erlebten Myokardinfarkt in den letzten Jahren stetig. ^[6] Sie liegt nun unter 10%. ^[5] Ein großes therapeutisches Problem liegt allerdings in der hohen 1-Jahres-Mortalität von 20% durch die Entwicklung einer langfristigen Funktionsminderung des Herzens. ^[7] Der Zustand, in dem das Herz nicht mehr in der Lage ist den Körper mit ausreichendem Sauerstoff und Nährstoffen zu versorgen, wird als Herzinsuffizienz bezeichnet. ^[8] Sie verursachte im Jahr 2014 allein in Deutschland 44 000 Todesfälle. ^[2] Das Langzeitrisiko für ihre Entwicklung nach einem erlebten Myokardinfarkt liegt bei 30%. ^[9] Der finanzielle Aufwand zur Behandlung wird in Europa auf 1-2% der nationalen Gesundheitsausgaben geschätzt. ^[10] Er verdeutlicht die Bedeutung der Forschung vor allem im Hinblick auf ihre Entstehung und Behandlung nach Myokardinfarkt.

Durch den Verlust von Myozyten und folgenden kardialen Umbauprozessen kann die Funktion des Herzens nach Myokardischämie langfristig oft nicht

aufrechterhalten werden. Der Umbauprozess mit Dilatation des umliegenden Myokards führt zu einer kardialen Dysfunktion und ist bis heute wenig zu beeinflussen.^[11] Aus diesem Grund beschäftigen sich Forscher seit einigen Jahren mit der Ergündung von Reparaturmechanismen und Funktionswiederherstellung nach Herzinfarkt. Im Besonderen untersuchen sie den Einfluss der Zytokine in diesem Prozess. Transforming Growth Factor- β 1 (TGF- β 1) ist ein solches Zytokin, welches ubiquitär, aber hauptsächlich auf Thrombozyten lokalisiert ist und durch fibrotische Reaktionen Einfluss auf kardiale Umbauprozesse ausübt.^[12] In der hier vorliegenden Studie wurde die Konzentration des thrombozytären TGF- β 1 eines Patientenkollektives mit koronarer Herzkrankheit (KHK) untersucht. Gleichzeitig wurde sein Zusammenhang mit der Mortalität dieser Patienten im Jahresverlauf analysiert.

1.1.1 Thrombozyten und Arteriosklerose

In der Entstehung und Entwicklung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen spielen Thrombozyten eine wichtige Rolle.^[13] Sie sind neben dem akuten Verschluss eines Blutgefäßes nach Endothelläsion das Schlüsselement in der Entstehung von arteriosklerotischen Plaques und vermitteln die Anlagerung von Lipiden und anderen Stoffen an die Endothelwand beziehungsweise ihre Ablagerung in die Gefäßwand.^[14] Hierbei werden Thrombozyten durch Zytokine, Wachstumsfaktoren, vasoaktive Substanzen und prokoagulatorische Faktoren an der Gefäßwand adhären und aggregieren im aktivierten Zustand.^[15] Sie regen Endothelzellen und Muskelzellen an zu proliferieren und extrazelluläre Matrix (ECM) und Muskelfasern zu bilden.^[16] Nach der Aggregation werden entzündliche Prozesse generiert, über welche unter anderem Monozyten in die Gefäßwand migrieren.^[13] Durch Aufnahme von Lipiden differenzieren sie zu Schaumzellen.^[15] Für diesen Stimulus muss die Gefäßwand nicht äußerlich verletzt sein. Neuere Studien zeigen, dass auch im unverletzten Endothel chronisch entzündliche Prozesse ablaufen.^[17] Ein Beispiel ist die Adhäsion von Monozyten und die Permeabilitätssteigerung des Endothels.^[18] Fortschreitende Entzündungen führen zu der Entstehung einer fibrösen Kappe über der Endothelläsion, bestehend aus Lipiden, Leukozyten und

Zellbestandteilen. ^[19] Der Kern dieser fibrösen Plaques besteht aus Cholesterin und Resten abgestorbener Zellen umgeben von Makrophagen, Schaumzellen, glatten Muskelzellen und Lymphozyten. Unter der Kappe sorgen zytotoxische Effekte oxidierender Lipide für Nekrosen und Kalzifikationen. ^[16] T-Lymphozyten und Makrophagen synthetisieren Metalloproteinasen, welche die Bestandteile der Plaque auflösen. Hierdurch kommt es im Verlauf zur Degradation von Matrixbestandteilen und daraufhin zur Instabilität der Kappe. ^[19] Rupturiert die Plaque wird subendotheliale Matrix zum Gefäßlumen frei und prokoagulatorische Faktoren werden ausgeschüttet. ^[18] Wird das Gefäß hierbei verengt und treten belastungsabhängige Symptome wie Brust- oder Schulterschmerzen auf, die auf die Gabe von Nitroglycerin oder in Ruhe rückläufig sind, wird eine Stabile Angina pectoris (SAP) diagnostiziert. ^[20] Wird das Gefäß komplett oder größtenteils verschlossen und geht Herzgewebe zugrunde, liegt ein akutes Koronarsyndrom (ACS) vor, welches weiter unterteilt wird in die belastungsunabhängige instabile Angina Pectoris, den Herzinfarkt mit STEMI- oder NSTEMI-Entwicklung und den plötzlichen Herztod. ^[21]

Besonders gefährdet für die schnelle Entwicklung der arteriosklerotischen Plaques und chronischer Intima-Verletzung sind die Patienten bei denen zusätzlich kardiovaskuläre Risikofaktoren wie Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus oder Nikotinabusus vorliegen. ^[13] So steigt beispielsweise bei Patienten mit Hyperlipidämie die Sensitivität der Thrombozyten auf Aggregationsstimuli. ^[22] Die Dicke der Gefäßwand nimmt durch die Einlagerung von Lipiden zu, es werden verstärkt Fette in der Gefäßwand oxidiert und vermehrt Entzündungsprozesse generiert. ^[19] All dies trägt zur Entstehung der arteriosklerotischen Plaques und der Plaqueruptur bei.

1.1.2 Myokardinfarkt

Myokardinfarkt bedeutet einen durch Ischämie verursachten Zelltod von Herzmuskelzellen als Reaktion auf ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und -angebot. Dieses Ungleichgewicht kommt im Herzen meist durch einen akuten oder chronischen Verschluss eines oder mehrerer

Herzkranzgefäße zustande und führt immer zum Untergang von Herzmuskelgewebe.^[23]

Als Reaktion auf ein ischämisches Ereignis findet innerhalb von Sekunden eine aerobe Glykolyse, Adenosin-Triphosphat (ATP)-Depletion und ein Laktatanstieg statt. Durch Metabolite aus dem Gewebe, welche die Kalzium-Sensitivität der Myofilamente herabsetzen, nimmt die Kontraktilität des Myokards ab.^[11] Im kardialen Interstitium wird Kollagen zerstört und abgebaut, Glykoproteine verschwinden, das Endomysium löst sich auf und die Sarkomere verlängern sich. Dies führt zu einer dyskinetischen Herzwandbewegung.^[24] Weitere Sauerstoffunterversorgung führt zu einem Versagen der Natrium/Kalium-ATPase-Pumpe und dem Anstieg der intrazellulären Natriumkonzentration mit folgendem Anschwellen der Zellen.^[11]

Nach wenigen Tagen ist das Myokard ödematös angeschwollen, Glykosaminoglykane werden vermehrt gebildet und Zellen wandern in das Infarktgebiet.^[25] Das Laktat reduziert den PH-Wert, sodass Enzyme ihre normale Funktion nicht aufrechterhalten können und lysosomale Produkte zunehmen. Durch einen zusätzlichen Kalzium-Einstrom nimmt die ribosomale Dissoziation zu, das mitochondriale Membranpotential ab und die Zellen durchlaufen apoptotische Reaktionen.^[11] Durch die verminderte kontraktile Funktion, verliert das Herz an Struktur, die Ventrikelgröße und das Füllungsvolumen nehmen zu.^[26] Durch diese paradoxe Expansion und Ausdünnung des Myokards, sowie die Degradation der Kollagene verliert das Herz an struktureller Integrität.^[27] So korreliert die Größe des Herzens mit einer erhöhten Mortalität der Patienten.^[9]

1.2 Kardiales Interstitium

Der nicht-muskuläre Anteil des Myokards wird als kardiales Interstitium oder auch ECM bezeichnet.^[34] Es besteht insgesamt aus einem fibrillären Bindegewebe, Zellen wie den Fibroblasten oder Plasmazellen, und einer gelartigen Grundsubstanz bestehend aus Glykosaminoglykanen und Glykoproteinen. Des Weiteren befinden sich hier kardiale Nerven und die

Koronargefäße.^[35] Das Interstitium erfüllt verschiedene Funktionen: Es stellt ein strukturelles Grundgerüst zur Einbettung der Myozyten dar, sorgt für den Schutz vor Bakterien und Viren sowie für die Nährstoffversorgung der Myozyten.^[36] Die ECM ist ein wichtiger Bestandteil in der Regulation des Zellverhaltens und bestimmt die Adhäsion, Migration, Proliferation und Differenzierung von Zellen.^[37]

Der Hauptbestandteil des kardialen Interstitiums, das Kollagen, besteht zu 85% aus Kollagen I, welches durch seine dicken Fasern Reißfestigkeit vermittelt, und zu einem geringen Anteil aus Kollagen III, welches mit seinen dünnen Fasern die strukturelle Integrität erhält.^[35] Das Kollagen wird durch Fibroblasten produziert, welche auch für die Orientierung der Fasern im Myokard sorgen.^[38] Aus den Fibroblasten entwickeln sich im Bedarfsfall Myofibroblasten. Diese besitzen durch einen erhöhten α -smooth muscle actin- (α -SMA-) Anteil die Fähigkeit die ECM zu kontrahieren und weisen eine erhöhte Aktivität für die Kollagenproduktion auf.^[39]

1.2.1 Kardiale Reparaturmechanismen

Die Anpassungsreaktionen, die nach einer Schädigung des Myokards mit Apoptose von Myozyten und strukturellem Funktionsverlust stattfinden, werden zusammenfassend als kardiales Remodeling bezeichnet. Sie sind für die funktionelle Integrität des Gewebes entscheidend und bilden einen Widerstand zu den veränderten Volumen- und Druckbelastungen der Ventrikel. Das Ausmaß des Infarktheilungsprozesses beeinflusst direkt das linksventrikuläre Remodeling und die Prognose des Patienten.^[12] Die Regenerationsfähigkeit des Herzens ist jedoch so limitiert, dass der Prozess immer mit Funktionseinschränkungen verbunden ist.^[11]

Das kardiale Remodeling ist ein komplexer Prozess, in den verschiedene biologische Prozesse wie Entzündung, Regulation der ECM, Fibrose, Zelltod und Angiogenese involviert sind. Es kommt zu einer strukturellen Umgestaltung und Reorganisation des überlebenden Myokards.^[40] Insgesamt führen physikalische und biochemische Veränderungen zu einer Vergrößerung und

Ausdünnung der Ventrikelwand. ^[35] Des Weiteren erhöht sich im insuffizienten und chronisch-ischämischen Herzen der relative Anteil der ECM durch die Vervielfältigung der Matrix-Bestandteile und der nicht-myozytären Zellen. ^[41]

Der Reparaturprozess kann in drei Phasen unterteilt werden: Entzündungsphase, Proliferationsphase und Reifungsphase. Während der Entzündungsphase kommt es durch die Hypoxie und den Tod von Kardiomyozyten zur Freisetzung von freien Sauerstoffradikalen sowie zur Chemokin- und Zytokin-Synthese. Dieses führt zur Freisetzung von Leukozyten und endothelialen Adhäsionsmolekülen, welche in das infarzierte Gewebe einwandern und die Entzündung vorantreiben. ^[12] Innerhalb von Minuten nach der Verletzung des Gefäßes führt die Apoptose von Zellen in der Media und der glatten Muskelzellen (smooth muscle cells; SMC) zu einem Substanzverlust der Gefäßwand mit Dilatation. ^[11] Dadurch kommt es zu einer Vergrößerung des Kammervolumens. ^[42] Das Infarktgebiet vergrößert sich. ^[40] Während der Proliferationsphase werden die Entzündungsmediatoren supprimiert und Fibroblasten und endotheliale Zellen infiltrieren die Wunde. Innerhalb von Tagen bis Wochen begehen die meisten Entzündungszellen Apoptose. Aktivierte Myofibroblasten produzieren ECM-Proteine und fibrovaskuläres Granulationsgewebe. In der Reifungsphase unterliegen die Fibroblasten und die vaskulären Zellen dem programmierten Zelltod, wodurch eine Narbe mit querverlaufenden Kollagenfasern entsteht. ^[12] Dieses Narbengewebe ist vermindert kontraktile und besteht aus einem reduzierten zellulären Anteil. ^[11] Die adäquate Formierung einer Narbe an Stellen des nekrotischen Myokards ist eine Langzeitadaptation des Herzens zur Bewahrung der strukturellen Integrität der Ventrikel und zum Schutz vor einer akuten Ventrikelruptur. ^[35]

1.2.2 Fibrose

Physiologisch wird die Wundheilung besonders durch die profibrotischen Proteine TGF- β und Connective Tissue Growth Factor (CTGF) und die antifibrotischen Proteine Tumornekrose-Faktor- α (TNF- α) und Interferon- γ (IFN- γ) balanciert. Hierbei fördern das TGF- β und das CTGF die ECM-Produktion. ^[43] Übertrifft die Neubildung durch gesteigerte Synthese den Bedarf, kommt es

zu einem Funktionsverlust der umliegenden Zellen. ^[44] Dies wird als Fibrose bezeichnet und führt zu schweren Organschäden. ^[45]

Die kardiale Fibrose erfolgt als reparative Reaktion auf den nekrotischen Verlust von Myozyten und reaktiv im interstitiellen Gewebe. ^[46] Durch die Freisetzung von lysosomalen Enzymen und der Einwanderung von Entzündungszellen in das Infarktgebiet werden Zytokine und Wachstumsfaktoren frei. ^[12] Durch diese Freisetzung wird die Proliferation der Fibroblasten generiert und die Produktion von ECM-Bestandteilen eingeleitet. Die Kollagenmatrix im Interstitium nimmt zu, die Kollagen-Formation und -organisation und das Cross-Linking ändern sich und der Kollagen-Typ verschiebt sich, hin zu einer vermehrten Expression von Kollagen Typ I. ^[36] Diese Änderungen in der Kollagenexpression bestimmen, ob eine Anpassungsreaktion pathologisch wird. So kommt es bei der Entstehung einer Fibrose zu einem exzessiven Reparaturmechanismus, der durch vermehrte Aktivierung der profibrotischen Zytokine und vermehrte ECM-Proliferation hervorgerufen wird. ^[35] Eine Überproduktion, wie sie im Rahmen einer Herzinsuffizienz oder Herzhypertrophie entsteht, resultiert in einem negativen Effekt auf die Kontraktilität des Myokards, einer erhöhten myokardialen Steifigkeit. ^[28] Es entsteht eine gestörte Relaxationsfähigkeit des Herzens während der Diastole. ^[11]

1.2.3 Herzinsuffizienz

Die Ursache einer Herzinsuffizienz liegt in einer eingeschränkten Funktion des linken und/oder rechten Ventrikels, zum Beispiel verursacht durch arterielle Hypertonie, koronare Herzkrankheit oder nicht-ischämische Kardiomyopathie. ^[1] Unabhängig von ihrem Ursprung geht die Herzschwäche mit Fibrose, Steifigkeit und Dilatation der Ventrikel sowie Kontraktilitätsverlust des Myokards einher. ^[28] Entsteht sie im Anschluss an ein ACS führt oft die Entstehung einer bindegewebigen Narbe mit Hypertrophie und Dilatation des Ventrikels im zu einer linksventrikulären Dysfunktion. ^[29] Es kommt zu Veränderungen der Ventrikelgeometrie und der Hämodynamik. ^[30] Zusätzlich zu der Größenzunahme der einzelnen Myozyten und der gesteigerten Proteinsynthese, äußert sich die Hypertrophie auch in einer veränderten

Zusammensetzung des myokardialen Bindegewebes. Durch die vermehrte Expression von Kollagen entsteht eine narbige Fibrose, mit abnehmender Kontraktilität. ^[28] Dieses Narbengewebe bestimmt in Abhängigkeit seiner Größe die Prognose des Patienten. ^[31] Verschiedene Versuche, die Größe und Struktur des Narbengewebes günstig zu beeinflussen, hatten bis heute nur teilweise Erfolg. ^[32, 33] Des Weiteren kommt es durch die Einlagerung der bindegewebigen Fasern in das Myokard zu elektromechanischen Veränderungen und zu einem erhöhten elektrischen Widerstand. Als Folge kann die Erregungsausbreitung der Herzaktion gestört sein. Dadurch können Reentry-Effekte und Arrhythmie neigung entstehen und es kann zum plötzlichen Herztod kommen. ^[36] Häufig führt der strukturelle Umbau des Herzens zu einer schweren Kardiomyopathie, dessen Folge das Herzversagen ist. ^[11]

1.3 Das Zytokin TGF- β 1 im Herzen

TGF- β ist ein pleiotropes Zytokin mit drei Isoformen (TGF- β 1, TGF- β 2 und TGF- β 3). ^[12] Diese sind sich sehr ähnlich und haben überlappende Funktionen. ^[47] Die TGF- β 1-Isoform ist fast ubiquitär exprimiert. ^[12] Sie ist in den Thrombozyten etwa 40-100mal höher konzentriert als in anderen Zellen ^[48] und wird im Zuge der Thrombozytenaktivierung an die Zelloberfläche transportiert. ^[37] Die zwei anderen Isoformen sind an bestimmte andere Gewebstypen gebunden. ^[12]

In den vergangenen Jahren ist TGF- β 1 auch hinsichtlich seiner Rolle im Herzen nach Myokardinfarkt und bei Herzinsuffizienz untersucht worden. Nach Gewebeverletzungen übernimmt es eine wichtige regulatorische Funktion in der Gewebereparatur. ^[49] Es sorgt physiologisch für ein Gleichgewicht zwischen der nötigen Wundheilung und einer exzessiven Narbenbildung mit Funktionsverlust ^[50]. Durch die Induktion der Fibronectin-, α -SMA- und der Kollagen-Typ I-Expression ^[43] induziert es die Transition von Entzündungsprozessen auf Narbenbildung. Die Etablierung einer bindegewebigen Narbe nach einem Myokardinfarkt ist entscheidend für die Funktionsaufrechterhaltung des Gewebes und insofern ein prognostisch wichtiger Faktor. ^[40] Das TGF- β 1 ist durch die Stimulation des Kardiomyozyten-Wachstums und die Induzierung der

interstitiellen Fibrose in die Entwicklung der hypertrophen und dilatativen Kardiomyopathie involviert. Zeitgleich nimmt es Einfluss auf die Funktion der Endothelzellen, reguliert ihre Aktivität und generiert die Bildung eines neuen Gefäßsystems. ^[12]

Das TGF- β 1 beeinflusst durch die Proliferations- und Apoptose-Modulation sowie die Aktivierung und Differenzierung verschiedener Zielzellen ^[51] das Wachstum von mesenchymalen Fibroblasten ^[52] und reduziert den ECM-Abbau, indem es Proteasen inhibiert. ^[12] Dadurch schützt es die strukturelle Integrität des Herzens nach Schädigung. ^[35] Jedoch induziert es gegebenenfalls durch die fibrotische Reaktion das pathologische hypertrophe Remodeling. ^[12] So konnte gezeigt werden, dass seine Konzentration im kardialen Gewebe, an fibrotischen Bereichen und bei Herzinsuffizienz erhöht ist und dort die Kollagen-Ablagerung stimuliert. ^[53] Mäuse mit einer erhöhten Stimulation dieses Zytokins entwickelten signifikant mehr Herzhypertrophie und interstitielle Fibrose. ^[54] Wurde der Spiegel durch Heterozygotie ^[55] bzw. die Deletion des Gens ^[56] reduziert, traten hingegen weniger alter-assoziierte kardiale Fibrose und diastolische Dysfunktion auf. ^[55] Des Weiteren steuert TGF- β 1 den Fibroblasten-Phänotyp hin zur Differenzierung in Myofibroblasten. ^[39] Diese produzieren vermehrt Kollagen und besitzen durch erhöhte Spiegel von α -SMA die Fähigkeit sich zu kontrahieren. ^[43] Bei Mäusen mit der Deletion im Gen, konnte eine geringere Expression von diesen Myofibroblasten im Vergleich zu Wildtyp-Mäusen nachgewiesen werden. ^[56]

Die Aktivität wichtiger Wachstumsfaktoren wie beispielsweise des zysteinreichen Proteins CTGF wird ebenfalls von TGF- β 1 moduliert. ^[57] Nach der Induktion triggert es zelluläre Prozesse, die der Fibrosierung unterliegen. Dazu gehören die Zellproliferation, Adhäsion, Migration und Synthese der ECM. ^[43] Eine Erhöhung der CTGF-Aktivität korreliert mit dem Ansteigen der Konzentrationen an Fibronectin, Kollagen Typ I und Plasminogen-Activator-Inhibitor-1 (PAI-1). Da die Expression von CTGF bei Patienten, die an einer ischämischen Herzkrankheit leiden, erhöht ist und mit dem TGF- β -Gehalt

korreliert, wird angenommen, dass CTGF ein wichtiger Mediator am Herzen ist.
[57]

Da TGF- β 1 in großen Mengen von den Thrombozyten ausgeschüttet wird und in fibrotische Reaktionen involviert ist, war die Motivation der vorliegenden Studie die Einflussfaktoren auf die Oberflächenexpression von TGF- β 1 auf Thrombozyten bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit zu untersuchen und somit Regenerationsprozesse nach Myokardinfarkt zu ergründen.

1.4 Klinische Relevanz

Die Hauptursache der Patientensterblichkeit nach überlebtem Myokardinfarkt liegt heutzutage besonders in der langfristigen Entwicklung einer Herzinsuffizienz. [11] Diese wird nicht nur durch den Verlust der Myozyten hervorgerufen, sondern besonders durch den Prozess des kardialen Remodelings. [28]

Der Reparaturprozess des Myokards ist für die Integrität des Herzens von entscheidender Bedeutung. Er kann aber auch zur Fibrose mit Verformung und Dilatation der Herzkammern führen, welche oft im akuten Herzversagen enden. [40] Bis heute gibt es keine klinische Therapie, die zur Verringerung des Verlustes der Kardiomyozyten, beziehungsweise der Minimierung des überschießenden kardialen Remodelings, führt. [58] Ziel der Forschung ist es, die Mechanismen der Gewebereparatur zu ergründen und positiv zu beeinflussen. Thrombozyten sind seit einigen Jahren hierbei im Fokus der Wissenschaft. Ihre Rolle in der Entwicklung des Infarktes und der Progression der Herzinsuffizienz mit myokardialen Umbauprozessen ist Grundlage im Verständnis des Wirkungsgefüges. Im Mittelpunkt der Forschung steht eine möglichst gute Wiederherstellung der myokardialen Funktion zu erreichen, sowie die Entstehung weiterer kardiovaskulärer Ereignisse und der Herzinsuffizienz zu verhindern.

In den vergangenen Jahren wurde TGF- β 1 als ein wichtiger Regulator in der Entwicklung der Herzinsuffizienz entdeckt. Es wird besonders von den

Thrombozyten freigesetzt und fördert die Narbenbildung, sowie die Entwicklung der kardialen interstitiellen Fibrose. ^[49] Durch Blockierung des TGF- β im Skelettmuskel sieben Tage vor einer Ligatur der linken Koronararterie in Tierversuchen wurde bereits der Entstehungsmechanismus der Fibrose am Herzen von Mäusen untersucht. ^[42] Bisher gibt es allerdings keine Studien, die den Einfluss der thrombozytären Oberflächenexpression auf die Entwicklung der Herzinsuffizienz und der Mortalitätsrate bei Menschen untersucht haben.

2. Material und Methodik

2.1 Studienpopulation

In einer Kohortenstudie wurde in der medizinischen Klinik III der Universitätsklinik Tübingen in der Zeit vom 30.04.2012 bis zum 30.04.2013 eine Gesamtzahl von 299 konsekutiven Patienten untersucht, die in der Klinik auf Grund einer symptomatischen KHK eine koronare Intervention erhielten. Die Blutproben wurden während der perkutanen Koronarintervention (PCI) gewonnen und innerhalb von einer Stunde im Labor aufgearbeitet, um den Serumspiegel von TGF- β 1 und Glykoprotein Ib (GPIb) mittels Durchflusszytometrie zu analysieren. Einen Überblick über die demographischen Daten der Studienpopulation bietet die Tabelle 1.

Die Medikation vor Klinikankunft wurde berücksichtigt, jedoch nicht die antithrombozytäre Medikation, die als Loading Dose direkt vor der Koronarintervention in der Klinik gegeben wurde. Bei Patienten mit oraler Langzeitantikoagulations-Medikation und einem Niedrig-Risiko Non-ST-Elevations-Myokardinfarkt (NSTEMI) wurde die Koronarintervention gegebenenfalls verschoben (8,4%), bis die Patienten eine International normalized Ratio (INR) \leq 2 hatten. Bei wenigen Patienten (<5%) mit Hoch-Risiko NSTEMI oder ST-Elevations-Myokardinfarkt (STEMI), wurde die PCI unter oraler Antikoagulation durchgeführt.

Als symptomatische KHK-Patienten galten Patienten, die entweder eine SAP oder ein ACS entwickelten. Eine SAP wurde diagnostiziert bei typischem belastungsabhängigem Schmerz und/oder einem pathologischen Belastungstest bei gleichzeitig negativem myokardialen Ischämie marker Troponin I (cTnI). Als belastungsabhängiger Schmerz wurde der Brustschmerz, Kieferschmerz, Schulter-, Becken- oder Armschmerz aufgeführt, der durch emotionalen Stress auftrat und durch Ruhe oder Nitroglyzerin rückläufig war. 145 von 299 Patienten erfüllten diese Kriterien einer SAP. Die Diagnose eines ACS wurde bei den restlichen 154 Patienten der Gesamtgruppe in der Notaufnahme durch Zunahme der Angina Pectoris Beschwerden, durch

pathologische Elektrokardiographie (EKG)-Veränderungen oder durch Ansteigen des kardialen Biomarkers cTnI gestellt. Folgende EKG-Veränderungen sind als Ischämie bedingte Veränderungen anzusehen: neue signifikante ST-Strecken- oder T-Wellen-Deformierungen, Auftreten eines neuen Linksschenkelblocks oder die Entstehung einer pathologischen Q-Zacke. Des Weiteren wurde die Diagnose eines ACS gestellt, wenn Ischämiesymptome oder neue myokardiale Wandbewegungsstörungen auftraten, sowie wenn mittels Angiographie ein neuer intrakoronarer Thrombus entdeckt wurde.

2.2 Diagnosestellung

Die vorläufige Diagnose erfolgte in der medizinischen Klinik III der Universitätsklinik Tübingen durch den behandelnden Arzt. Zur Diagnosestellung wurden EKG-Auswertungen sowie Laborwerte, insbesondere cTnI hinzugezogen. Anamnestisch wurden die aktuellen Beschwerden, wie auch Vorerkrankungen, Medikation zum Aufnahmezeitpunkt, kardiovaskuläre Risikofaktoren und die Familienanamnese ermittelt. Die Patienten wurden in die Diagnosegruppen SAP und ACS eingeteilt. Die ACS-Patienten wurden durch das EKG weiter in die Gruppen STEMI und NSTEMI unterteilt. Diese Patienten erhielten entsprechend der Richtlinien des American College of Cardiology (ACC) eine direkte koronarangiographische Untersuchung in der medizinischen Klinik. Patienten mit SAP wurden in der Klinik elektiv koronarangiographiert. Während der Herzkatheter-Untersuchung wurde die Diagnose gesichert.

2.3 Studienaufbau und Studiendesign

Die aktuelle Studie wurde im Rahmen der TuePic-Forschungsgruppe von der Universität Tübingen genehmigt und von der zuständigen Ethik-Kommission anerkannt (270/2011BO1). Sie richtet sich nach der Deklaration von Helsinki an den Richtlinien für gute klinische Praxis. Alle Patienten wurden im Rahmen der TuePic-Aufklärung sowohl mündlich als auch schriftlich über die Teilnahme an der Studie aufgeklärt und unterzeichneten schriftlich ihr Einverständnis. Patienten, die ihr Einverständnis verweigerten oder die während der

Herzkatheteruntersuchung verstarben, wurden nicht in die Studie aufgenommen.

Die Blutproben für unsere Studie wurden während der Koronarintervention nach Verabreichung von 2500 I.E. unfraktioniertem Heparin aus der Arteria femoralis entnommen und in 5ml CPDA-Röhrchen (Citrat Phosphat Dextrose Adenin-Röhrchen) abgefüllt. Die Proben wurden innerhalb von 1 Stunde nach Studienprotokoll gefärbt und analysiert. Die lückenlose Studienaufnahme der Probanden sowie die schnelle Verarbeitung der Proben innerhalb von zwei Stunden nach Entnahme erforderten eine 24-Stunden-Rufbereitschaft.

2.4 Follow-up

Alle Patienten wurden nach ihrer Koronarintervention für ein Jahr auf klinische Events nachverfolgt. Hierbei lag der Fokus der Nachverfolgung auf kardiovaskulären Ereignissen wie erneutem akutem Infarktgeschehen sowie Todesfall und -ursache. Die Patienten wurden per Telefon interviewt und/oder relevante Informationen aus Patientenakten übernommen. Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF%) der ACS-Patienten wurde mittels transthorakaler Echokardiographie während des Klinikaufenthaltes sowie erneut nach drei Monaten bestimmt. Hierzu wurde die 2D-Echokardiographie genutzt um mittels manueller Planimetrie durch die Grenzen des Endokards im enddiastolischen und endsystolischen Zustand Rückschlüsse auf die ventrikuläre Pumpfunktion ziehen zu können. Zehn Patienten konnten nach einem Jahr nicht verfolgt werden (3%).

2.5 Material

Geräte

FACS-Calibur flow cytometer (Becton-Dickinson, East Rutherford, NJ, USA)

Pufferlösungen und weitere Lösungen

Phosphat-gepufferte Salzlösung (PBS) (Gibco, Darmstadt, Hessen, Germany)

0,5% Paraformaldehyd (PFA) (Merck, Darmstadt, Germany, Art.818715)

Antikörper für die Durchflusszytometrie

Mouse Anti-human TGF- β 1-PE (R&D Systems, Clone 9016, Katalognummer: IC240P, Ig-Klasse: IgG1, Minneapolis, MN, USA)

Plättchenspezifischer Mäuse Anti-Human-Marker für Glykoprotein Ib: GPIb-FITC / CD42b-FITC (Beckman Coulter, Clone SZ2, Brea, CA, USA)

Isotypenkontrolle für die Durchflusszytometrie

Isotypkontrolle für TGF- β : Monoclonal Mouse IgG1 PE (R&D Systems, Clone 9016, Minneapolis, MN, USA)

Blutprodukte für die Durchflusszytometrie

Vollblut der Patienten, die in unserer Medizinischen Klinik behandelt wurden und in die Studie eingeschlossen wurden.

2.6 Methodenangabe mit Fehlerbreite

2.6.1 Durchflusszytometrie

Die Durchflusszytometrie oder Fluorescence-activated Cell-Sorting (FACS)-Analyse gehört in der Hämostaseologie für die quantitative und qualitative Analyse von Zellen und Oberflächenproteinen zu den Standardverfahren. Mit ihrer Hilfe kann die Diagnostik seltener hereditärer Thrombozytendefekte wie klassische Membranrezeptordefekte betrieben werden. Außerdem können Sekretionsdefekte der α - und δ -Granula aufgedeckt sowie Thrombozytenzahlen bestimmt werden. Sie dient als Qualitätskontrolle von Thrombozytenkonzentraten und ermöglicht einzelne Thrombozyten zu untersuchen und spezifische Antigene oder Bindungen von Liganden zu analysieren. Das Prinzip der Durchflusszytometrie ist die Anstrahlung der Zellflüssigkeit mit einem Laser. Beim Vorbeiführen von markierten Zellen an dem Laserstrahl werden die Reflektionen der Fluoreszenzsignale detektiert. Die Intensität des Fluoreszenzsignals korreliert mit der Menge der gebundenen Antikörper-Molekülen und somit mit der Expression des jeweiligen Antigens.

In der vorliegenden Studie wurde die Durchflusszytometrie genutzt um Thrombozyten durch ihr Volumen im Vollblut zu identifizieren und die

Oberflächenexpression von TGF- β 1 auf den Thrombozyten zu bewerten. Die Analyse der Zellen erfolgte nach biochemischen Färbemethoden mit fluoreszenzmarkierten monoklonalen Antikörpern. Die Lokalisation der Thrombozyten im Vollblut wurde durch die thrombozytäre Ausbildung des Antigens Cluster of differentiation 42b (CD42b) ermittelt. Dieses wurde auf der Plättchenmembran mit Antikörpern gefärbt und die Anzahl verschiedener Thrombozytenrezeptoren sowie die Sekretion von Chemokinen aus den Thrombozytengranula durch die Bindungsfähigkeit von Liganden an Rezeptoren, bestimmt. Das Ergebnis muss jeweils mittels Isotypkontrolle mit einem Immunglobulin G1-Phycoerythrin (IgG1-PE) Mäuse-Antikörper evaluiert werden. Referenzbereiche werden vor jeder Untersuchung definiert und in exakten Protokollen festgeschrieben. In der Untersuchung wurde der Schwellenwert für TGF- β bei 610nm im Kanal FL-1 PMT definiert. Die Auswertung erfolgt mittels Histogramm.

Beeinflusst wird die Messung durch Stör- und Einflussgrößen wie den unterschiedlichen Thrombozytenzahlen im Blut, Verdünnungsfaktoren, sowie dem Kalziumgehalt im Blut (z.B. durch Antikoagulation). Weiteren Einfluss haben Defekte der Thrombozytenmembranrezeptoren und vor allem spezielle Antikörper gegen Membranbestandteile sowie Medikamente wie Aspirin, Adenosindiphosphat- (ADP)-Rezeptor-Antagonisten wie Clopidogrel und Glykoprotein (GP)-IIb/IIIa-Rezeptor-Blocker. Durch eine unzureichende Standardisierung kann es so zu einer großen intra- und interlabortechnischen Variabilität kommen. Zudem bereitet das enge Zeitfenster zur Verarbeitung der Proben durch kurze Thrombozyten-ex vivo-Überlebenszeit Schwierigkeiten in der Analyse. Deswegen wurden die Proben innerhalb von einer Stunde nach Gewinnung verarbeitet und anschließend analysiert. Bei der Interpretation der Testergebnisse müssen die Einfluss- und Störgrößen mitberechnet werden und gegebenenfalls eine zweite Kontrollanalyse vorgenommen werden.

2.6.2 Verarbeitung der Blutproben

Für die vorliegende Studie wurde die Oberflächenexpression von TGF- β 1 auf Thrombozyten mit Hilfe des Durchflusszytometers untersucht. Hierfür benutzten

wir Fluoresceinisothiocyanat (FITC)-konjugierte monoklonale Maus-Antikörper gegen CD42b. Geeignete Maus-IgG1 PE-konjugierte monoklonale Antikörper wurden für die Messung und die Isotypenkontrolle verwendet.

Für die Messungen wurden 10µl CPDA-Blut in 490µl PBS-Lösung in einem Verhältnis von 1:50 verdünnt. Dann wurden 10µl Lösung mit 5µl des Antikörpers TGF-β1-PE und 5µl des plättchenspezifischen Markers CD42b-FITC, mit weiteren 5µl PBS für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend mit 300µl 0,5% Paraformaldehyd fixiert. Für die Isotypenkontrolle wurde TGF-β1-PE mit 5µl CD42b-FITC und 10µl des im Verhältnis 1:50 mit PBS verdünnten Blutes für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubation wurde die Probe mit 300µl 0,5% Paraformaldehyd fixiert und alle Proben mittels Durchflusszytometrie analysiert. Die Ergebnisse wurden mit FACSCalibur gemessen. Die Ergebnisse der Messungen ergaben ein typisches DotPlot-Diagramm. Der geometrische Mittelwert für TGF-β1 wurde in jeder Probe mittels CellQuestPro® Software analysiert. Die TGF-β1-Intensität wurde im Kanal FL1 bei 610nm bestimmt (Gate R1 für TGF-β1, für die Isokontrolle Gate R2). Die Ergebnisse wurden als linearer Wert dargestellt.

2.6.3 Statistische Analyse und Datendarstellung

Für die statistische Analyse und Datenerstellung wurden SPSS Version 23.0 für Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA) und Microsoft Excel 2010 (Microsoft, Redmond, USA) verwendet. Normalverteilte Daten wurden mittels des T-Tests für unabhängige Stichproben ausgewertet und mit dem Median ± Standardabweichung (SA) präsentiert. Die Normalverteilung wurde mittels Kolmogorov-Smirnov-Test überprüft. Um eine Normalverteilung zu verbessern, wurden die TGF-β1-Werte mit Hilfe der Box-Cox-Methode transformiert. Nicht-parametrische Daten wurden mit Hilfe des U-Test von Mann und Whitney verglichen. Diese Daten wurden mit dem Median und der 25sten und 75sten Perzentile angegeben und mittels BoxPlot-Diagrammen graphisch dargestellt. Aus dem Allgemeinen Linearen Modell (ALM) wurde mit Hilfe der univariaten Analyse auf Kovarianzen die unabhängige Assoziation der TGF-β1-Spiegel dargestellt. Variablen, die hier untersucht wurden, bezogen sich auf

kardiovaskuläre Risikofaktoren, kardiovaskuläre Medikation bei Klinikaufnahme, das akute Koronarsyndrom, die Nierenfunktion sowie die linksventrikuläre Auswurffraktion (LVEF%). Der T-Test für verbundene Stichproben wurde angewendet, um Unterschiede der LV-Funktion zu zwei Zeitpunkten (während des Klinikaufenthaltes und 3 Monate nach PCI) bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom zu untersuchen. Die Cox-Regressionsanalyse wurde angewandt, um eine Assoziation von kontinuierlichen Werten des TGF- β 1 (nach Transformierung mittels Box-Cox-Methode) mit dem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt (Tod und/oder STEMI) direkt nach der Bestimmung von epidemiologischen Faktoren, welche das Outcome bei kardiovaskulären Erkrankungen beeinflussen, zu bestimmen. Die zeitabhängige kovariante Methode wurde benutzt, um das proportionale Gefährdungsrisiko zu untersuchen. Im Follow-Up wurde als vordefinierter Endpunkt das Versterben und/oder Myokardinfarkt (STEMI) während der 12-Monate des Follow-ups definiert. Bei 255 Patienten wurde das Zutreffen des Endpunktes und die Abhängigkeit von hohen und niedrigen TGF- β 1-Spiegeln (\leq Median und $>$) mit dem zweiseitigen Signifikanzwert von 5% bestimmt. Die kumulative ereignisfreie Überlebensfunktion wurde mit Hilfe der Kaplan-Meier-Kurve und der Hazard-Funktion dargestellt. Der Log-rank-Test wurde angewendet, um ein kumulatives Überleben bei Patienten mit hohen oder niedrigen TGF- β 1-Werten (\leq Median versus $>$ Median) zu vergleichen.

3. Ergebnisse

3.1 Die Studienpopulation

In diese Studie wurde eine Population von 299 konsekutiven Patienten integriert, die innerhalb eines Jahres aufgrund ihrer symptomatischen koronaren Herzkrankheit in der Medizinischen Klinik III in Tübingen untersucht wurden. Anhand der Klinik konnte bei 145 Patienten eine SAP diagnostiziert werden, während 154 Patienten die Diagnose eines ACS erhielten. Hierbei war die SAP definiert als klinische Beschwerdesymptomatik, ohne Laborwert- oder EKG-Bild-Veränderungen. ACS umfasste die instabile Angina Pectoris, den STEMI, den NSTEMI und den kardialen Herztod an sich. Tabelle 1 zeigt die demographischen Daten der Studienpopulation bei Klinikaufnahme.

Charakteristika	Gesamtpopulation	ACS	SAP
	(n=299)	(n=154)	(n=145)
n Männer	219 (73,2%)	116 (75,3%)	103 (71,0%)
n Frauen	80 (26,8%)	38 (24,7%)	42 (29,0%)
Alter (Jahre; Mittel \pm SA)	68 (\pm 12)	69 (\pm 12)	68 (\pm 11)
Kardiovaskuläre Risikofaktoren			
Art. Hypertonie	262 (87,6%)	126 (81,8%)	136 (93,8%)
HLP	195 (65,2%)	90 (58,4%)	105 (72,4%)
Diab. mellitus II	85 (28,4%)	45 (29,2%)	40 (27,6%)
Rauchen	56 (18,7%)	27 (17,5%)	29 (20,0%)
Ex-Rauchen (>6 Monate)	55 (18,4%)	26 (16,9%)	29 (20,0%)
Klinische Faktoren			
VHF	65 (21,7%)	34 (22,1%)	31 (21,4%)
LVEF% (Mittel \pm SA)	49,7 (\pm 11,1)	48,2 (\pm 11,0)	51,2 (\pm 11,2)
LVEF% normal	128 (42,8%)	52 (33,8%)	76 (52,4%)
LVEF% leicht reduziert	68 (22,7%)	41 (26,6%)	27 (18,6%)
LVEF% moderat eingeschränkt	55 (18,4%)	35 (22,7%)	20 (13,8%)
LVEF% stark	45 (15,1%)	24 (15,6%)	21 (14,5%)

eingeschränkt			
LVEF% unbekannt	3 (1,0%)	2 (1,3%)	1 (0,7%)
GFR (Mittel ± SA)	75,2 (± 24,8)	75,3 (± 26,9)	75,1 (± 21,6)
Medikation bei Klinikankunft			
ASS	178 (59,5%)	83 (53,9%)	95 (65,5%)
Clopidogrel	64 (21,4%)	18 (11,7%)	46 (31,7%)
Prasugrel	9 (3,9%)	2 (1,3%)	7 (4,8%)
Ticagrelor	16 (5,4%)	9 (5,8%)	7 (4,8%)
OAK	33 (11,0%)	13 (8,4%)	20 (13,8%)
ACE-Hemmer	144 (48,2%)	63 (40,9%)	81 (55,9%)
AT1-R-Antagonisten	48 (16,1%)	23 (14,9%)	25 (17,2%)
β-Blocker	173 (57,9%)	74 (48,1%)	99 (68,3%)
Statine	169 (56,5%)	72 (46,8%)	97 (66,9%)

Tabelle 1: Demographische Daten der Studienpopulation.

(n: Anzahl; SA: Standardabweichung; Art. Hypertonie: Arterielle Hypertonie; HLP: Hyperlipoproteinämie; Diab. mellitus II: Diabetes mellitus Typ II; VHF: Vorhofflimmern; LVEF%: Linksventrikuläre Auswurfraction in Prozent; GFR: Glomeruläre Filtrationsrate; ASS: Acetylsalicylsäure; OAK: Orale Antikoagulation; ACE-Hemmer: Angiotensin-Converting-Enzyme-Hemmer; AT-1-R-Antagonisten: Angiotensin-1-Rezeptor-Antagonisten)

3.2 Thrombozytäres TGF-β1 und Klinik

Die Oberflächenexpression von TGF-β1 auf Thrombozyten wurde in Abhängigkeit von klinischen Faktoren wie kardiovaskulären Risikofaktoren, Komedikation oder Patientencharakteristika untersucht (Tabelle 2).

Variable	TGF-β1 Median pg/ml	Point Estimates (95% KI)	p
Kardiovaskuläre Risikofaktoren			
Art. Hypertonie	12,2 / 13,5 (ja / nein)	-2,6675 (-3,391 - 1,944)	0,593
HLP	11,8 / 14,6 (ja / nein)	-1,9515 (0,791 - 4,694)	0,006
Diab. mellitus II	11,9 / 12,4 (ja / nein)	-1,610 (-1,008 - 2,212)	0,462
Raucher	12,1 / 12,3 (ja / nein)	-2,1975 (-2,580 - 1,815)	0,732
Medikation bei Klinikaufnahme			

β-Blocker	12,1 / 13,3 (ja / nein)	-1,702 (-1.209 - 2,195)	0,568
ACE-Hemmer	12,4 / 12,3 (ja / nein)	-1,570 (-1,917 - 1,223)	0,664
Statine	12,2 / 13,0 (ja / nein)	-2,1735 (-2,929 - 1,418)	0,494
Clopidogrel	12,1 / 12,6 (ja / nein)	-1,9875 (-2,011 - 1,964)	0,981
Prasugrel	10,3 / 12,4 (ja / nein)	-4,108 (-2,708 - 5,508)	0,503
Ticagrelor	10,7 / 12,4 (ja / nein)	-3,0765 (-0,653 - 5,500)	0,122
Klinische Faktoren			
Alter	-	-0,077 (-0,092 - 0,062)	0,705
Geschlecht	12,3 / 12,3 (w / m)	-1,6345 (-1,682 - 1,587)	0,954
LV-Funktion	-	-0,0675 (-0,062 - 0,073)	0,866
GFR	-	-0,033 (-0,040 - 0,026)	0,667
ACS vs. SAP	13,4 / 11,7 (ACS / SAP)	-1,4885 (-3,086 - -0,109)	0,036

Tabelle 2: Univariate Analyse auf Kovarianzen

ACS-Patienten zeigen eine höhere Oberflächenexpression von TGF-β1 als SAP-Patienten. (95%KI: 95%-Konfidenzintervall; Art. Hypertonie: Arterielle Hypertonie; HLP: Hyperlipoproteinämie; Diab mellitus II: Diabetes mellitus Typ II; ACE-Hemmer: Angiotensin-Converting-Enzyme-Hemmer; LV-Funktion: Linksventrikuläre Funktion; GFR: Glomeruläre Filtrationsrate; ACS: Akutes Koronarsyndrom; SAP: Stabile Angina Pectoris)

Durch die univariate Analyse auf Kovarianzen mit dem TGF-β1-Spiegel als abhängige Variable und klinischen Faktoren als Kofaktoren konnte gezeigt werden, dass Patienten mit ACS (n=154) eine signifikant höhere Oberflächenexpression von TGF-β1 im Vergleich zu Patienten mit SAP (n=145) aufwiesen (p=0,036). Hierbei betrug der Median der TGF-β1-Konzentration, gemessen in pg/ml, bei ACS 13,4 versus 11,7 bei SAP (Point Estimates; 95% Konfidenzintervall (KI): -1,4885; -3,086 - -0,109) (Abbildung 1).

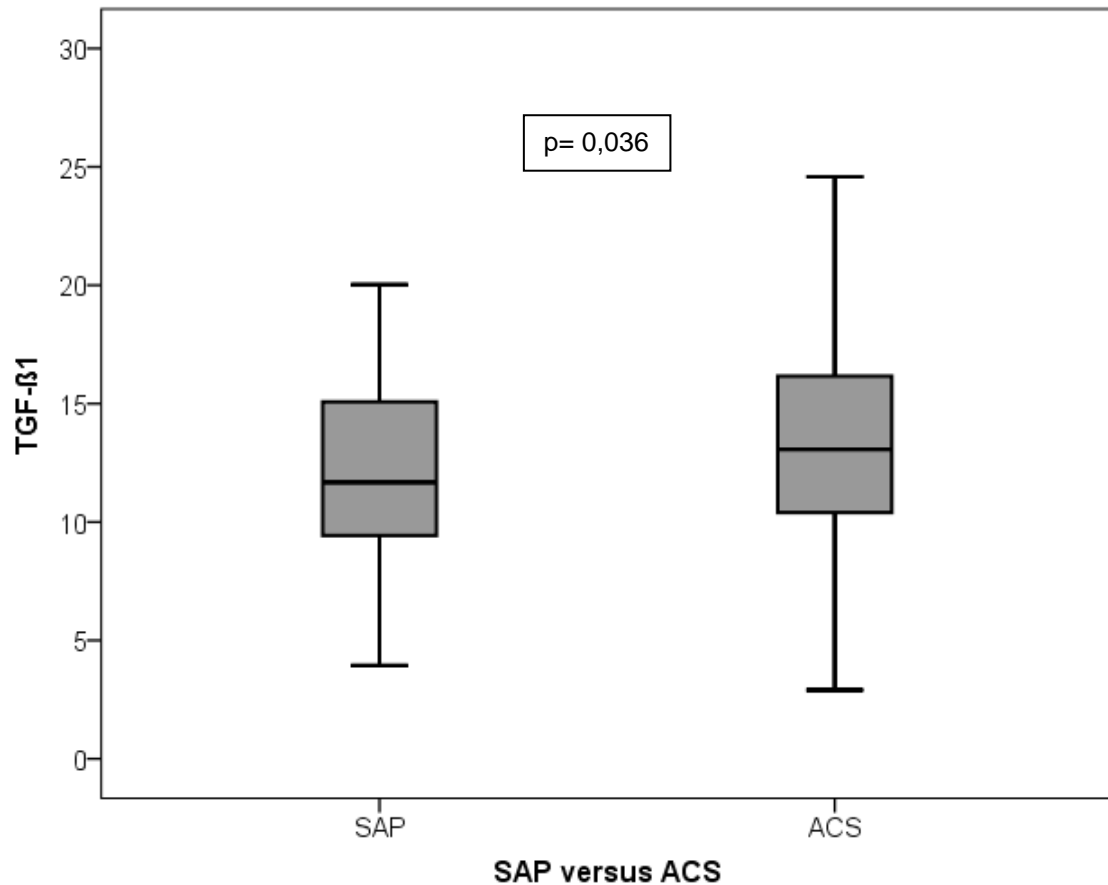


Abbildung 1: Oberflächenexpression von TGF-β1 auf Thrombozyten. Patienten mit ACS zeigten signifikant höhere Oberflächenspiegel im Vergleich zu Patienten mit SAP (* $p < 0,05$).

3.3 Unabhängigkeit von TGF-β1

Es wurden weitergehend die Unabhängigkeit der Oberflächenexpression des TGF-β1 von den klinischen Faktoren überprüft (Tabelle 2). In der Analyse der klinischen Faktoren konnte bei Patienten mit einer Hyperlipoproteinämie (n= 195) ein signifikanter Unterschied der Oberflächenexpression von TGF-β1 im Vergleich zu Patienten ohne Hyperlipoproteinämie (n= 104) festgestellt werden ($p=0,006$) (Abbildung 2).

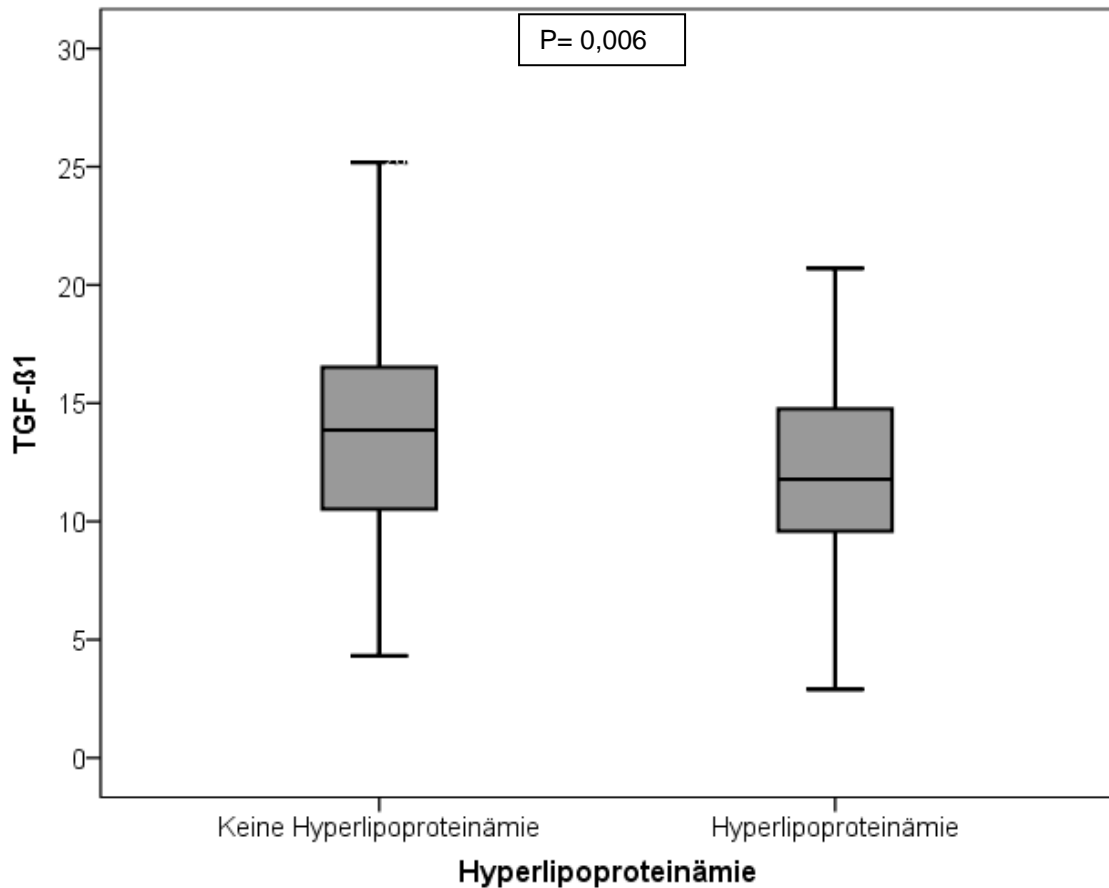


Abbildung 2: Unterschiedliche Oberflächenexpression von TGF-β1 in Abhängigkeit einer Hyperlipoproteinämie

Es zeigt sich in der Gesamtkohorte eine signifikant niedrigere Oberflächenexpression von TGF-β1 beim Vorliegen einer Hyperlipidämie (* $p < 0,05$).

Hierbei wurde die Hyperlipoproteinämie als chronische Erhöhung der Blutfette LDL-Cholesterin, Triglyzeride oder des Gesamtcholesterins definiert. Die Oberflächenkonzentration von TGF-β1 bei Hyperlipoproteinämie betrug im Median 11.8 pg/ml versus 14.6 pg/ml ohne Hyperlipoproteinämie (Punktschätzung: -1,9515; 95%KI: 0,791 - 4,694). Dieser signifikante Unterschied war besonders im Hinblick auf die SAP-Patienten groß ($p = 0,001$) (Abbildung 3).

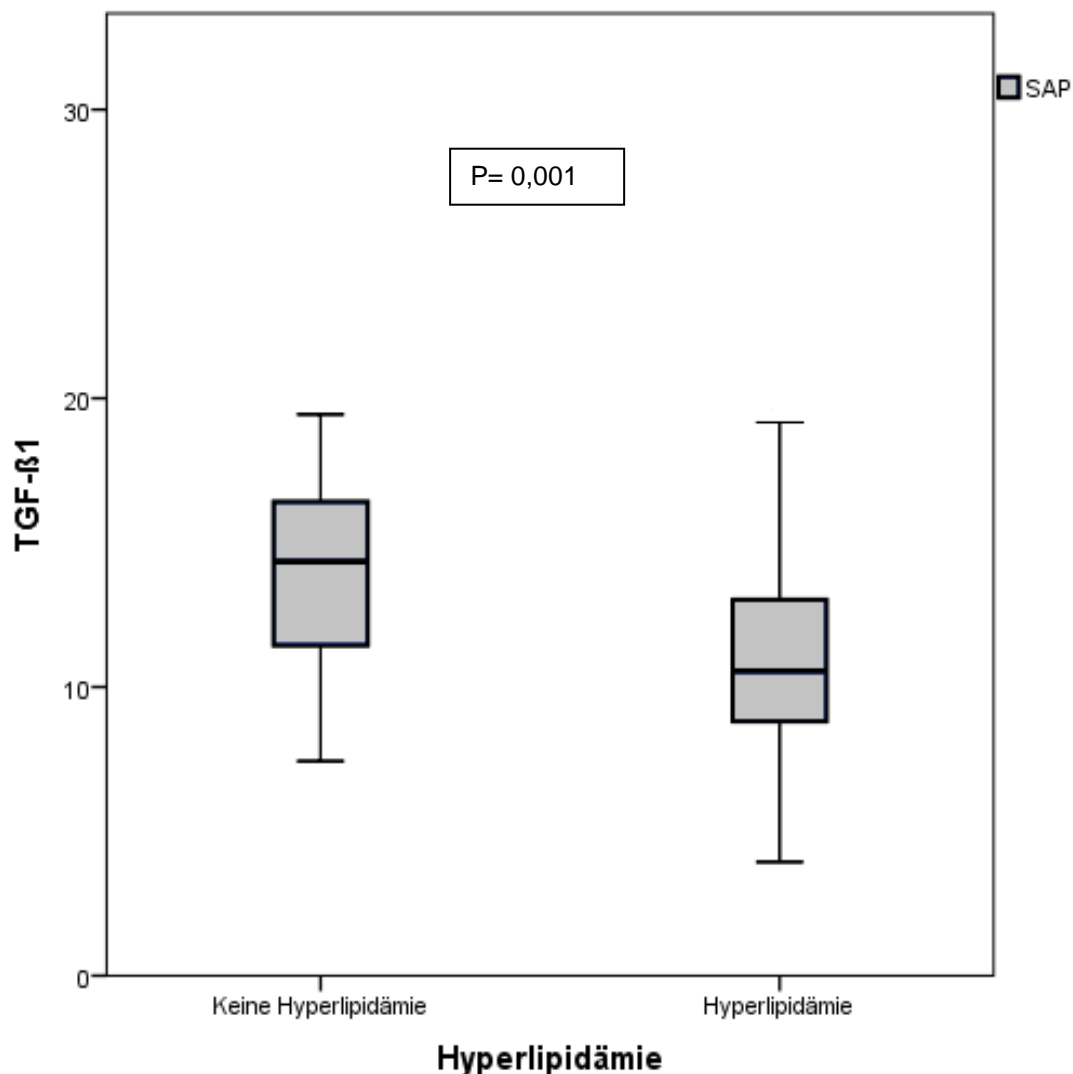


Abbildung 3: Unterschiedliche TGF-β1-Expression bei SAP-Patienten mit und ohne Vorliegen einer Hyperlipoproteinämie

In der Gruppe der SAP-Patienten zeigen sich signifikant niedrigere TGF-β1-Spiegel bei Vorliegen einer Hyperlipoproteinämie (* $p < 0,05$).

3.4 Follow-Up

Der krankheitsgeschichtliche Verlauf aller Patienten der Kohorte wurde nach der initialen PCI verfolgt. Die durchschnittliche Follow-Up-Zeit betrug für die klinischen Events 297 Tage sowie nach ACS und der Standardzeit zur wiederholten Messung der LV-Funktion 93 Tage (3 Monate). Von den initial 299 aufgenommenen Patienten konnten 289 Patienten (97%) nach einem Jahr zurückverfolgt werden. Von zehn Patienten konnten keine Informationen eingeholt werden.

3.4.1 LV-Funktion

Ein möglicher Einfluss der TGF- β 1-Oberflächenexpression auf die Regeneration der LVEF% wurde untersucht, indem die LV-Funktion 3 Monate nach initialem ACS erneut bestimmt wurde und hierdurch Rückschlüsse auf die Erholung der Herzfunktion gezogen wurden (Tabelle 3; Abbildung 4).

TGF- β 1	LV-Funktion nach 1-5 Tagen	LV-Funktion nach drei Monaten
< Median	49,5 %	53 %
\geq Median	47,5 %	53 %

Tabelle 3: Kreuztabelle zur Darstellung der Entwicklung der LV-Funktion in Abhängigkeit von der medianen TGF- β 1-Oberflächenexpression. Die LV-Funktion verbessert sich in den 3 Monaten nach ACS, aber unabhängig von den thrombozytären TGF- β 1-Oberflächenspiegeln.

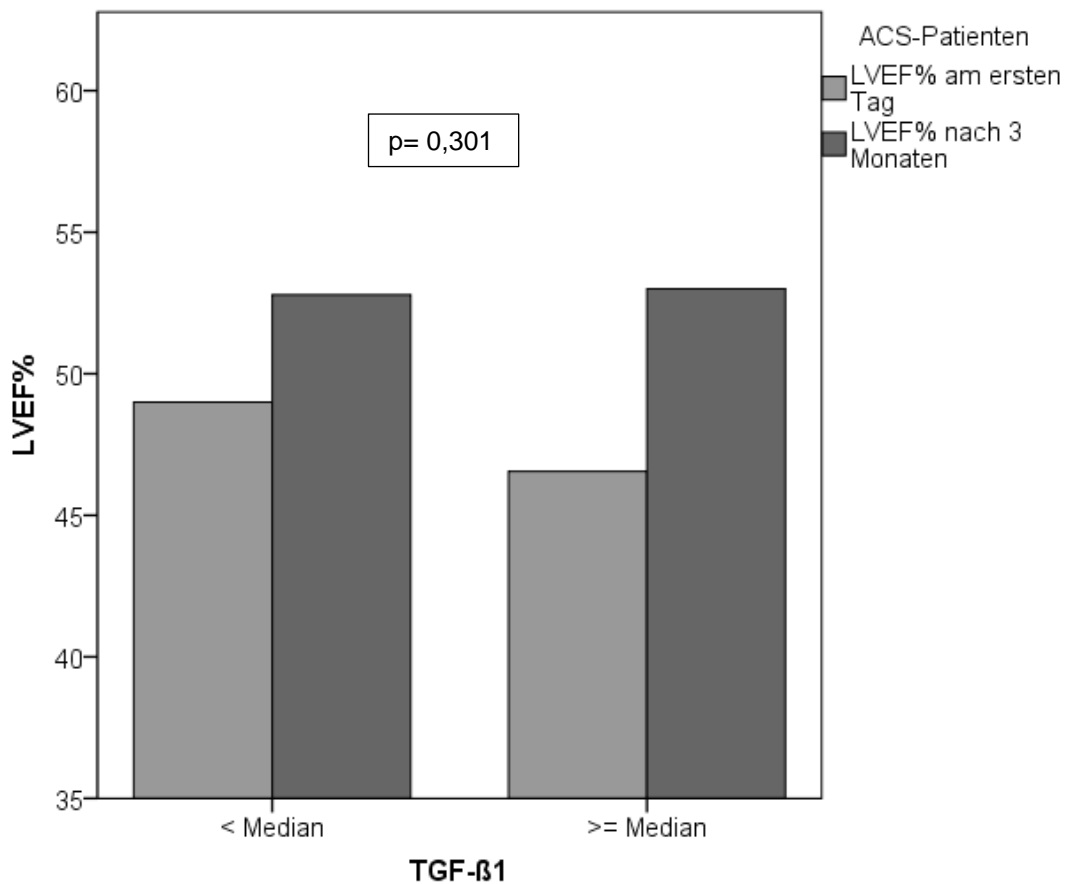


Abbildung 4: Balken-Diagramm

Die LV-Funktion der ACS-Patienten verbesserte sich in den drei Monaten signifikant, aber unabhängig von der medianen Oberflächenexpression von TGF- β 1.

Es konnte keine Assoziation der TGF- β 1-Expression mit der LV-Funktion aufgezeigt werden. So war die mittlere LV-Funktion am ersten Tag nach ACS: 49,5 % bei TGF- β 1 < Median versus 47,5 % bei TGF- β 1 \geq Median; p=0,301. Es konnte zwar gezeigt werden, dass sich die linksventrikuläre Auswurfraction in den 3 Monaten nach einem akuten Koronarsyndrom signifikant verbesserte (der Mittelwert der LV-Funktion verbesserte sich von 48,4 % auf 53 %; p<0,001). Es konnte jedoch kein Einfluss der Höhe der Oberflächenexpression von TGF- β 1 (</ \geq Median) bei ACS-Patienten auf die Verbesserung der LV-Funktion nach 3 Monaten festgestellt werden (p=0,406).

3.4.2 Mortalität

In Abhängigkeit von klinischen Faktoren wie kardiovaskulären Risikofaktoren, Komedikation oder Patientencharakteristika wurde mit Hilfe der Cox-Regressionsanalyse untersucht wie hoch das Risiko in der Patientenkohorte (n=289) war im untersuchten Zeitraum von einem Jahr zu versterben (Tabelle 4).

Variable	Hazard Ratio	95% KI	p
Kardiovaskuläre Risikofaktoren			
Art. Hypertonie	0,118	(0,020 - 0,691)	0,018
HLP	1,154	(0,218 - 6,104)	0,867
Diab. mellitus II	1,459	(0,437 - 4,867)	0,539
Raucher	3,683	(0,527 - 25,726)	0,189
Medikation bei Klinikaufnahme			
β-Blocker	7,045	(1,543 - 32,156)	0,012
ACE-Hemmer	1,540	(0,463 - 5,115)	0,481
Statine	0,485	(0,084 - 2,811)	0,419
Clopidogrel	0,973	(0,215 - 4,414)	0,972
Prasugrel	0,000	0,000	0,984
Ticagrelor	3,098	(0,471 - 20,393)	0,239
OAK	2,465	(0,763 - 7,961)	0,132
Klinische Faktoren			

Alter	1,057	(0,988 - 1,131)	0,108
Geschlecht	0,474	(0,137 - 1,642)	0,239
LV-Funktion	0,974	(0,956 - 1,018)	0,246
GFR	0,981	(0,956 - 1,007)	0,159
ACS vs. SAP	10,748	(2,392 - 48,296)	0,002
TGF-β	0,248	(0,079 - 0,775)	0,016

Tabelle 4: multivariate Cox-Regressionsanalyse

Das Mortalität-Risiko bzw. das Risiko zu der Entwicklung eines Reinfarktes ist in Abhängigkeit einer β -Blocker-Therapie und eines ACS ist erhöht. Ein hohes TGF- β 1 und das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie senkt das Mortalitätsrisiko. (95%KI: 95%-Konfidenzintervall; Art. Hypertonie: Arterielle Hypertonie; HLP: Hyperlipoproteinämie; Diab. Mellitus: Diabetes mellitus Typ II; OAK: Orale Antikoagulation; LV-Funktion: Linksventrikuläre Funktion; GFR: Glomeruläre Filtrationsrate; ACS: Akutes Koronar Syndrom; SAP: Stabile Angina Pectoris)

In unserer Patientenkohorte bestand ein erhöhtes Mortalitätsrisiko der Patienten unter β -Blocker-Therapie bei Studienaufnahme ($p= 0,012$; HR: 7,045; 95%KI: 1,543 - 32,156); Die vorbekannte arterielle Hypertonie reduzierte das Risiko ($p=0,018$; HR: 0,118; 95%KI: 0,020 - 0,691). Es zeigte sich außerdem, dass Patienten mit einem ACS ein signifikant höheres Risiko besaßen, im folgenden Jahr zu versterben, als Patienten mit einer SAP ($p=0,002$; HR: 10,748; 95%KI: 2,392 - 48,296) (Abbildung 5).

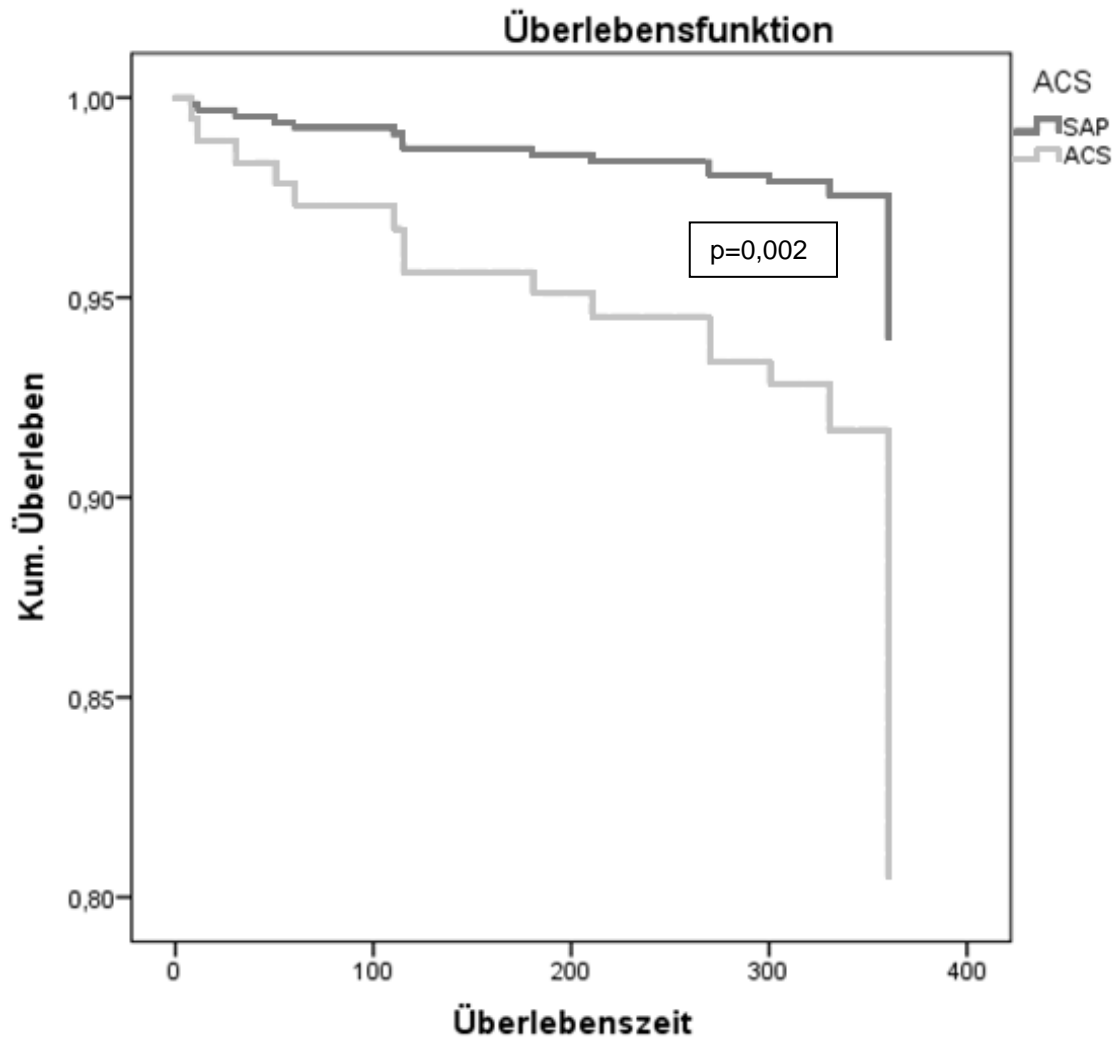


Abbildung 5: Kaplan-Meier-Überlebensfunktion.

Im ersten Jahr nach Studieneinschluss verstarben mehr ACS-Patienten als SAP-Patienten.

Zusätzlich zeigte sich, dass Patienten mit einer geringeren Oberflächenexpression von TGF- β 1 (TGF- β 1 \leq Median; n=143) ein höheres Risiko trugen im folgenden Jahr zu versterben, als Patienten mit einer höheren TGF- β 1-Oberflächenexpression (TGF- β 1 > Median; n=128) (p=0,016; HR: 0,248; 95%KI: 0,079 - 0,775) (Abbildung 6).

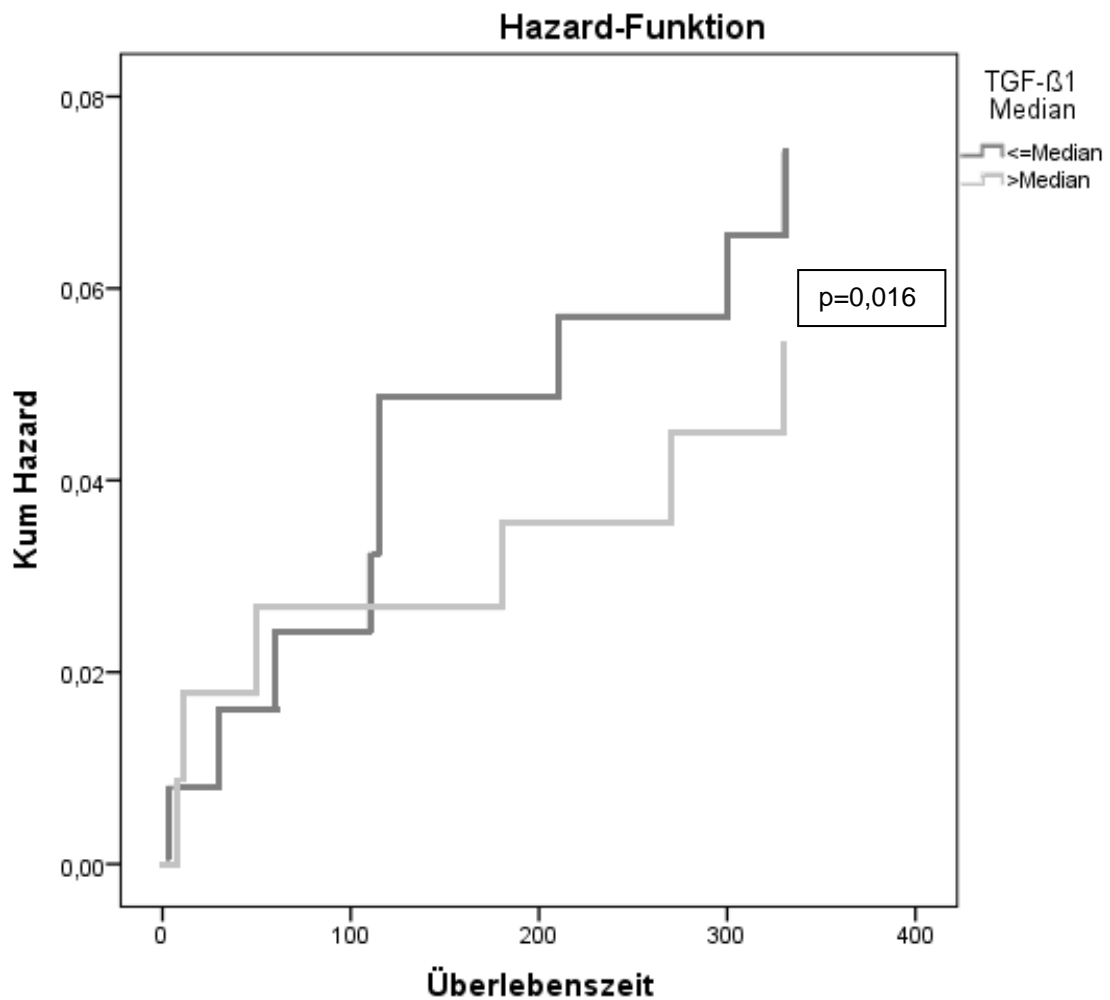


Abbildung 6: Hazard-Funktion.

Das Mortalitätsrisiko der ACS-Patienten ist bei niedriger TGF-β1-Expression größer, als bei hoher TGF-β1-Expression.

3.4.3 Todesursache

Es wurde untersucht in wiefern sich die mediane TGF-β1-Oberflächenexpression der Patientengruppen in Bezug auf die Todesursache unterschied (Tabelle 5 und Tabelle 6).

Variable	Anzahl der Events	TGF-β1 Median	P
Gesamt mortalität	n=18	10.6/13.0 (verstorben/überlebt)	0.011
STEMI	n=5	8.7/13.4 (ja/nein)	0.116

Kombinierter Endpunkt Tod und/oder STEMI	n=22	10.8/13.9 (ja/nein)	0.006
---	------	---------------------	-------

Tabelle 5: Ein-Jahres-Events bei Patienten mit ACS und korrespondierendes TGF- β 1.

Die mediane Oberflächenexpression von TGF- β 1 ist bei ACS-Patienten (n=147), die in einem Jahr verstarben, niedriger, als bei denen die überlebten. (n: Anzahl)

ACS-Patienten, die im Verlauf des Jahres verstarben (n=18), zeigten zu Studienbeginn unabhängig von der Todesursache eine niedrigere Oberflächenkonzentration von TGF- β 1 auf den Thrombozyten (Median: 10,6 pg/ml; 25ste bis 75ste Perzentile: 8,9 – 12,8) im Vergleich zu den Patienten, die im Verlauf des Jahres nicht verstarben (Median: 13,0 pg/ml; 25ste bis 75ste Perzentile: 10,5 – 16,5) (p=0,011) (Abbildung 7). Ebenso zeigte sich, dass Patienten mit ACS, die im folgenden Jahr verstarben und/oder einen STEMI erlitten (n=22), eine signifikant niedrigere Oberflächenkonzentration von TGF- β 1 hatten (Median:10,8 pg/ml; 25ste bis 75ste Perzentile: 8,8 – 13,1) als Patienten, die das Jahr überlebten und/oder keinen STEMI entwickelten (Median: 13,9 pg/ml; 25ste bis 75ste Perzentile: 10,6 – 16,5) (p=0,006). Daraus ergibt sich, dass Patienten mit akutem Koronarsyndrom, deren TGF- β 1-Spiegel höher war als der mediane TGF- β 1-Oberflächenspiegel, ein signifikant besseres kumulatives eventfreies Überleben zeigten, als Patienten, deren TGF- β 1-Spiegel unterhalb des Median lag (log rank 0.029).

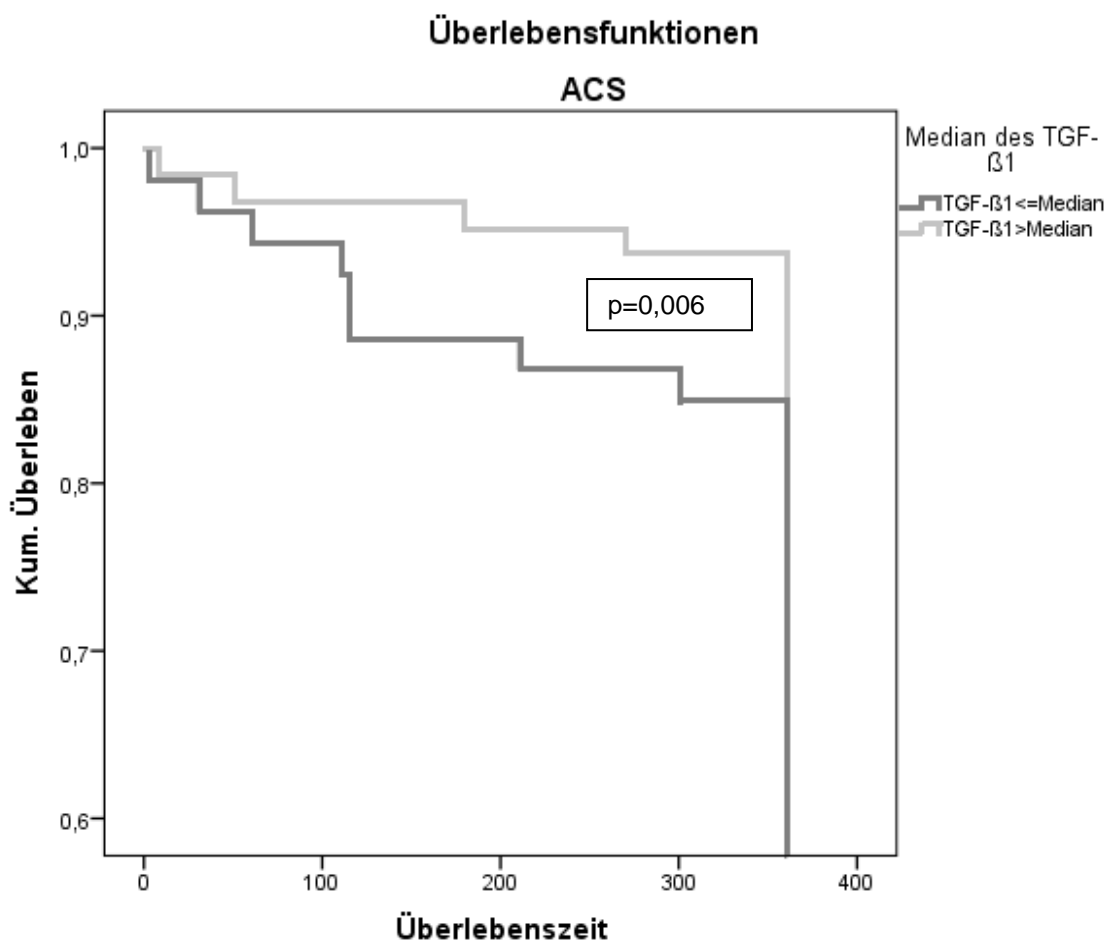


Abbildung 7: Kaplan-Meier-Überlebensanalyse

Darstellung des häufigeren Überlebens der ACS-Patienten mit hohen TGF- β 1-Spiegeln bei Studieneinschluss, im Vergleich zu den ACS-Patienten mit niedrigerer TGF- β 1-Oberflächenexpression.

Variable	Anzahl Events	an	TGF- β 1 Median	P
Gesamtmortalität	n=4		11.6/11.8 (verstorben/überlebt)	0.767
STEMI	n=0		-	-
Kombinierter Endpunkt Tod und/oder STEMI	n=4		11.6/11.8 (ja/nein)	0.767

Tabelle 6: Ein-Jahres-Events bei Patienten mit SAP und korrespondierendes TGF- β 1.

Die mediane Oberflächenexpression von TGF- β 1 auf Thrombozyten bei SAP-Patienten (n=142), die in dem Follow-Up-Jahr verstarben unterschied sich nicht signifikant von derer, die das Jahr überlebten. (n: Anzahl)

Patienten mit einer SAP, die im Jahr nach der Studienaufnahme verstarben (n=4), zeigten zwar keinen signifikanten Unterschied in der thrombozytären

Expression von TGF- β 1 im Vergleich zu den Patienten, die das Jahr überlebten ($p= 0,767$; TGF- β 1 11,6 versus 11,8), allerdings muss berücksichtigt werden, dass die Fallzahl so gering ist, dass hier kein signifikantes Ergebnis ermittelt werden kann. In unserem Follow-Up nach einem Jahr entwickelte keiner der Patienten einen STEMI.

4. Diskussion

Die Hauptergebnisse dieser Studie sind:

- Die TGF- β 1-Oberflächenexpression ist auf Thrombozyten von Patienten mit ACS signifikant höher als auf Thrombozyten von Patienten mit SAP.
- Es konnte ein Zusammenhang zwischen dem kardiovaskulären Risikofaktor der Hyperlipidämie und der reduzierten Oberflächenexpression von TGF- β 1 in der Studienpopulation im Besonderen bei Patienten mit SAP gezeigt werden.
- Die linksventrikuläre Funktion von ACS-Patienten verbesserte sich in dem Zeitraum von 3 Monaten signifikant, aber unabhängig von der Oberflächenexpression des TGF- β 1.
- Eine geringe TGF- β 1-Oberflächenexpression bei ACS-Patienten ist assoziiert mit einer höheren Gesamtmortalität und koronaren Ereignissen; bei SAP-Patienten konnte eine solche Assoziation nicht nachgewiesen werden.

4.1 Die TGF- β 1-Oberflächenexpression

TGF- β 1 ist ein pleiotropes Zytokin, welches mit verschiedenen Krankheiten wie der Lungenfibrose, Leberzirrhose, Sklerodermie sowie der koronaren Herzerkrankung und Arteriosklerose in Verbindung gebracht wird ^[43]. Frühere Studien konnten bereits seinen Einfluss auf Regenerationsprozesse nach Myokardinfarkt im Tierversuch zeigen. ^[59] Dies konnte in neueren Studien ebenfalls für humane Umbauprozesse nach ACS gezeigt werden. ^[42] Das TGF- β 1 ist in physiologische und pathologische Prozesse durch Reparatur- und Remodelingprozesse involviert, indem es die Kollagen-Ablagerungen in kardialem Gewebe stimuliert und die Bildung von Narbengewebe induziert. ^[12] Zugleich beeinflusst es die Aktivität von Endothelzellen und Perizyten, sowie die Bildung einer neuen Gefäßwand. ^[12]

Thrombozyten gelten als Hauptquelle für TGF- β 1, wobei die Konzentration etwa 40-100mal größer ist als in anderen Zellen. ^[48] Es wird während der Thrombozytenaktivierung zur Oberfläche sezerniert. ^[37] Da im akuten Infarktgeschehen durch die Verletzung der Gefäßwand vermehrt Thrombozyten

aktiviert werden, wurde in der vorliegenden Studie erwartet, dass die Patienten mit ACS eine hohe Oberflächenexpression zeigten. Wie belegt wurde war diese Expression auf den Thrombozyten der ACS-Patienten tatsächlich signifikant höher als auf denen der SAP-Patienten. Weiter konnte gezeigt werden, dass sich die Hyperlipoproteinämie als klinischer Faktor ebenfalls auf die TGF- β 1-Werte auswirkt. So war besonders bei den SAP-Patienten mit Hyperlipoproteinämie der TGF- β 1-Oberflächenspiegel signifikant niedriger, als bei denen ohne diese Blutwertveränderung. Bisher wurde dies noch nicht an Menschen untersucht. In Tierstudien konnte allerdings gezeigt werden, dass die Sensitivität der Thrombozyten auf Aggregationsstimuli bei vorliegender Hyperlipidämie erhöht war. ^[22] Dies hätte eine erhöhte TGF- β 1-Expression erwarten lassen. Das vorliegende Ergebnis könnte zum einen auf die Heterogenität der Patienten-Kohorte zurückzuführen sein. Zum anderen sind die SAP-Patienten oft chronisch vorerkrankte Patienten, die eine optimale Therapie ihrer KHK mit beispielsweise Statinen und antithrombozytärer Medikation erhalten. Diese Therapien wirken zusätzlich antiinflammatorisch und können somit zu weniger thrombozytärer Stimulation führen.

4.2 TGF- β 1 und die Erholung der LV-Funktion

TGF- β 1 initiiert die Kollagen- und ECM-Produktion der kardialen Fibrozyten. ^[39] IKEUCHI ET AL. konnten bereits verdeutlichen, dass eine Blockade zum Zeitpunkt einer Ligatursetzung im Tierversuch mit Mäusen zu einer verminderten linksventrikulären Dilatation und kontraktile Dysfunktion sowie weniger myozytärer Hypertrophie und interstitieller Fibrose vier Wochen später führte. ^[42] OKADA ET AL. blockierten TGF- β bei Mäusen am dritten Tag nach einer Ligatur durch Blockade der Rezeptoren und zeigten, dass dies mit einer geringeren Fibroseformation nach vier Wochen korrelierte. ^[58] Des Weiteren konnten DEVAUX ET AL. in einer Studie zur Untersuchung der LVEF% von Patienten direkt nach einem Infarktgeschehen und vier Monate später aufzeigen, dass das TGF- β 1 bei Patienten mit einer LV-Dysfunktion erhöht und mit der Funktion nach vier Monaten assoziiert war. Im Tierversuch mit Ratten korrelierte das Ausmaß des kardialen Remodelings nach Myokardinfarkt positiv

mit dem TGF- β 1. ^[60] Aus diesem Grund wurde in der gegenwärtigen Studie erwartet, dass hohe Konzentrationen mit vermehrter Kollagenablagerung in der ECM und somit mit einer schlechteren kardialen Funktion assoziiert waren. Die Entwicklung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF%) wurde bei den ACS-Patienten zum Zeitpunkt des Infarktes und in einem dreimonatigen zeitlichen Abstand kontrolliert. Ziel war es, einen möglichen Einfluss der Oberflächenexpression zu untersuchen. Dargestellt werden konnte, dass sich die LVEF% in der Zeit von drei Monaten signifikant verbesserte, allerdings konnte keine Korrelation der Menge des thrombozytären TGF- β 1 mit diesem Prozess aufgezeigt werden. Die Oberflächenexpression schien sich nicht auf die Entwicklung der LV-Funktion sowie die Regeneration selbiger auszuwirken. Die Untersuchung der LV-Funktion als Indikator der Entwicklung einer Herzinsuffizienz müsste längerfristig kontrolliert werden, um die Ergebnisse verifizieren zu können.

4.3 TGF- β 1 und Mortalität

Nach einem Herzinfarkt kommt es durch das linksventrikuläre Remodeling zu einer ventrikulären Dilatation und einer schlechteren kardialen Funktion. Entscheidend für das Outcome des Patienten ist neben dem Ausmaß des Verlustes an Kardiomyozyten während der akuten Phase der Infarktheilung besonders die hypertrophe Antwort des überlebenden Ventrikel-Myokards, sowie die Generierung einer fibrotischen Gewebeantwort im Langzeitverlauf. ^[58]

Eine hohe TGF- β -Expression ist verbunden mit einer vermehrten Hypertrophie und Fibrose. ^[51] Gleichzeitig ist seine Expression dieses Zytokins nach einem Myokardinfarkt im infarzierten sowie im nicht-infarzierten Herzgewebe erhöht. ^[58] Dies deutet darauf hin, dass es mit postischämischen fibrotischen Umbauprozessen im Herzen in Verbindung steht. IKEUCHI ET AL. untersuchten die LV-Funktion nach Arterienligatur im Tierversuch mit Mäusen. Sie führten auf, dass ein früher TGF- β -Antagonismus sieben Tage vor einer Koronararterienligatur in einer erhöhten Mortalität innerhalb von 24 Stunden nach Verschluss resultierte, sowie in einer vermehrten linksventrikulären Dilatation mit Dysfunktion und erhöhter Infiltration von Neutrophilen endete. Die

Antagonisierung zum Zeitpunkt der Ligatursetzung sowie sieben Tage später zeigte, dass sich nach vier Wochen die linksventrikuläre Funktion verbesserte, sowie die myozytäre Hypertrophie und die interstitielle Fibrose gemildert waren. So schützte die Aktivierung von TGF- β in der Frühphase der Infarktheilung vor ischämischen Myokardschäden; in der späten Phase konnte der schützende Einfluss nicht belegt werden. ^[42] Auch OKADA ET AL. verdeutlichten, dass eine TGF- β -Antagonisierung drei Tage nach der Ligatur (in der subakuten Phase der Reparatur) in einem besseren Überleben, einem reduzierten Remodeling mit verminderter ventrikulärer Dilatation, einer verbesserten ventrikulären Funktion und weniger Fibrose-Ablagerungen resultierte. Des Weiteren konnten sie zeigen, dass die Apoptoserate der Myofibroblasten im Granulationsgewebe bei den Mäusen mit TGF- β -Inhibition nach zehn Tagen weniger ausgeprägt war und der α -SMA-Anteil im infarzierten Gewebe anteilig höher war, was zu einer verbesserten Kontraktion des Infarktgebietes führte. Die Antagonisierung vier Wochen nach dem Arterienverschluss in der chronischen Phase des Umbaus war hingegen uneffektiv. ^[58] Diese Ergebnisse könnten darauf hindeuten, dass das TGF- β 1 in der akuten Verschlussituation einen positiven Effekt auf das Überleben von Patienten hat, im chronischen Stadium aber keinen Einfluss mehr ausübt. Wird die Konzentration allerdings zum Zeitpunkt des Infarktes oder kurz darauf gesenkt, resultiert ein besseres Überleben und ein verringertes kardiales Remodeling.

In der hier vorliegenden Studie wurde der TGF- β 1-Spiegel bei Patienten mit KHK während des Klinikaufenthalts gemessen und mit der Erholung der LV-Funktion sowie dem Überleben der Patienten verglichen. Durch die Unabhängigkeit der Erholung der LV-Funktion von der TGF- β 1-Oberflächenexpression wird angenommen, dass es zunächst keinen positiven Einfluss auf die Entwicklung der Herzfunktion ausübt. Gleichzeitig war allerdings eine geringere Expression mit einer erhöhten Gesamtmortalität der ACS-Patienten im 1-Jahres-Follow-Up assoziiert. Die ACS-Patienten mit niedrigem TGF- β 1 bei Studieneinschluss verstarben insgesamt häufiger und/oder entwickelten einen Reinfarkt. Hohe Spiegel schienen einen schützenden Einfluss auf das Gewebe im Sinne der Funktionserhaltung

auszuüben. Dieses Ergebnis stimmt mit den Ergebnissen von IKEUCHI ET AL. überein. ^[42] Es zeigt sich, dass ein hoher TGF- β 1-Spiegel in der akuten Phase des ACS für die dauerhafte Integrität und Funktionserhaltung des Myokards eine wichtige Rolle spielt und dadurch mit einer geringeren Gesamtmortalität assoziiert ist. Gleichzeitig wirkt sich ein hoher Spiegel während des akuten Zustandes nicht negativ auf die LV-Funktion im Sinne einer Fibroseentstehung aus. TGF- β 1 initiierte kardiale Reparaturprozesse sind folglich für die Funktionsfähigkeit des Herzens von entscheidender Bedeutung. Ohne die Entstehung von neuem Bindegewebe an der Stelle der kardialen Verletzung könnte das Gewebe seine Funktion verlieren, dem hohen Anspruch nicht entsprechen und in einer erhöhten Mortalität der ACS-Patienten enden. Weitere Studien wären nötig um die aufgestellte Hypothese zu verifizieren.

Bei den SAP-Patienten konnte keine Assoziation des Oberflächenspiegels mit der Mortalität gezeigt werden. Der TGF- β 1-Oberflächenspiegel in der chronischen koronaren Herzerkrankung wirkte sich auch in der vorliegenden Studie nicht auf Funktionserhaltung und Mortalität aus. Dieses lässt sich mit den Ergebnissen von OKADA ET AL. in Einklang bringen und könnte bedeuten, dass es in der chronischen Phase der Gewebeschädigung keinen positiven Effekt mit sich bringt. ^[58]

Diese Studie konnte, wie schon andere Studien zuvor, eine Assoziation der ACS-Patienten mit einer erhöhten Gesamtmortalität aufzeigen. Dies könnte mit der insgesamt erhöhten Mortalitätsrate der ACS-Patienten im Vergleich zu dem SAP zusammenhängen, wie es auch ALCOCK ET AL. schon beschrieben haben ^[61] und soll hier nicht vertiefend thematisiert werden.

4.4 Limitierung

Wir sind uns bewusst, dass die abgeleiteten Ergebnisse Anlass für Hypothesen geben. Der biologische Mechanismus, der hinter den beobachteten Ergebnissen liegt, also dem Einfluss von thrombozytärem TGF- β 1 auf die Prognose nach ACS, muss in weiteren Studien untersucht werden. Außerdem ist uns bewusst, dass die Heterogenität der eingeschlossenen

Studienpopulation hinsichtlich des kardiovaskulären Outcomes (beispielsweise die geringere Komplikationsrate bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit im Vergleich zu der höheren Komplikationsrate nach akutem Infarktgeschehen) unsere klinische Observierung beeinflussten. Der prognostische Einfluss der TGF- β 1-Expression in einer Untergruppe von kardiovaskulären Patienten lässt keinen Aufschluss auf die Gesamtpopulation zu. ^[61]

4.5 Schlussfolgerung

Die vorliegende Studie stellt eine positive Korrelation des Auftretens eines ACS mit einem erhöhten thrombozytären TGF- β 1-Spiegels dar. Es wird gezeigt, dass die Oberflächenexpression auf Thrombozyten bei Patienten mit ACS signifikant höher ist, als bei SAP-Patienten. Des Weiteren wird die höhere Mortalitätsrate der Patienten mit ACS im Jahresverlauf dargestellt. Frühere Studien haben bereits verdeutlicht, dass das TGF- β 1 mit der Entwicklung einer Kardiomyopathie in Zusammenhang steht. Es war zum Beispiel bei Patienten mit dilatativer, ^[62] hypertropher Kardiomyopathie ^[63] und bei Aortenstenose ^[64] erhöht. Die Assoziation mit dem Outcome der Patienten nach Myokardinfarkt wurde bisher nicht in Verbindung mit der TGF- β 1-Expression gebracht. Zum ersten Mal wurde hier der Effekt auf klinische Events nach ACS, bzw. SAP, in der Zeit von einem Jahr untersucht.

Die Studie verdeutlicht, dass ein niedriger TGF- β 1-Spiegel am Tag des kardialen Events einen negativen Effekt auf den klinischen Verlauf des Patienten mit sich brachte. Eine hohe Expression zum Zeitpunkt der Messung könnte also vor weiteren kardialen Ereignissen im Langzeitverlauf von einem Jahr schützen und scheint für die langfristige Funktionserhaltung eine Rolle zu spielen. So war der gewählte Endpunkt, das Versterben und/oder ein erneut auftretender STEMI in der vorliegenden Studie häufiger mit niedrigen TGF- β 1-Spiegeln zum Untersuchungsbeginn assoziiert. Die Entstehung von Infarkten scheint aber insgesamt nicht von TGF- β 1 beeinflusst zu werden und beruht eventuell auf anderen Mechanismen. Das TGF- β 1 könnte einen Einfluss im

kardialen Remodeling nach Myokardinfarkt besitzen und nicht in der Entstehung oder Verhinderung weiterer Infarkte. Die positive Wirkung auf die Mortalität könnte es über die primäre Narbengewebsbildung zur Bewahrung der Ventrikelintegrität in der direkten post-ischämischen Phase ausüben. Da es in dieser Studie quantitativ nicht ausreichend Events für eine konkretere Stellungnahme auftraten, wären weitere Studien nötig um diese Thesen zu begründen.

Das Follow-Up drei Monate nach dem akuten Infarktgeschehen zeigt die Unabhängigkeit der LV-Funktions-Regeneration von der TGF- β 1-Oberflächenexpression in der Akutsituation. Die vermehrte Expression wirkte sich trotz seines profibrotischen Effektes nicht negativ auf die Erholung der LV-Funktion aus. Die Ergebnisse könnten andeuten, dass keine Assoziation des TGF- β 1 mit der Entwicklung der LV-Funktion besteht. Bei SAP-Patienten konnten wir keinen Einfluss auf die Mortalität und die Entstehung weiterer koronarer Ereignisse nachweisen, so scheint es in den chronischen Regenerationsprozessen keinen schützenden Einfluss auszuüben und daher eher zu LV-Remodeling zu führen.

5. Zusammenfassung

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind seit vielen Jahren weltweit die Todesursache Nummer Eins. ^[4] Obwohl in den letzten Jahren durch Forschungen viele Erkenntnisse zur Entstehung der Herzinsuffizienz und ihrem Verlauf gewonnen wurden, bleiben viele Fragen zur kardialen Regeneration bis heute ungeklärt. Bisher konnte hauptsächlich nachgewiesen werden, dass die Entwicklung einer Herzinsuffizienz in großem Ausmaß von der Entwicklung einer kardialen Fibrose abhängig ist. ^[29]

In der vorliegenden Studie wurde mittels Durchflusszytometrie der Einfluss des profibrotischen, thrombozytären TGF- β 1-Zytokins bei KHK-Patienten auf Verletzungs- und Reparatursmechanismen des Herzens untersucht. Dafür wurde das Vollblut von 299 Patienten, die in der medizinischen Klinik III in Tübingen auf Grund eines kardialen Ereignisses vorstellig wurden, analysiert. Hierbei konnte mit Hilfe des plättchenspezifischen Mäuse-Antikörpers CD42b-FITC die Thrombozyten im Vollblut identifiziert und mittels des Mäuse-Antikörpers TGF- β 1-PE die Menge dieses Zytokins auf den Thrombozyten in einer FACS-Analyse bemessen werden.

Es konnte gezeigt werden, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von TGF- β 1 bei ACS-Patienten signifikant höher war als bei SAP-Patienten. Im Verlauf von drei Monaten konnte kein Einfluss auf die Erholung der LV-Funktion festgestellt werden. Die kardiale Funktion verbesserte sich zwar signifikant, allerdings ohne den Einfluss des TGF- β 1-Spiegels. Des Weiteren wurde im Jahresverlauf ermittelt, dass eine geringe Oberflächenexpression bei ACS-Patienten mit einer höheren Gesamtmortalität und koronaren Ereignissen assoziiert war. Es konnte keine Assoziation der Oberflächenexpression und der Entwicklung eines neuen Infarktes beobachtet werden, weder bei den ACS- noch bei den SAP-Patienten.

Die Ergebnisse verdeutlichen, dass TGF- β 1 in den Prozess des kardialen Remodelings nach Herzinfarkt involviert ist, so wie es eine Rolle in Wundheilungsprozessen innehat. ^[12] Es scheint eine protektive Wirkung auf das

Überleben der Patienten auszuüben, allerdings keine Rolle in der Entstehung von Infarkten zu spielen. Offensichtlich gibt es in der direkten post-ischämischen Phase durch die Induktion von Narbengewebe einen positiven Effekt von einer hohen TGF- β 1-Oberflächenexpression auf das Überleben der Patienten. Es beeinflusst wahrscheinlich nicht die Funktionswiederherstellung und Regeneration der kardialen Funktion.

Weitere Studien sind nötig um genaue Wirkmechanismen dieses Zytokins auf die kardiale Regeneration zu ergründen.

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Demographische Daten der Studienpopulation S. 23

Tabelle 2: Univariate Analyse auf Kovarianzen S. 24

Tabelle 3: Entwicklung der medianen LV-Funktion in Abhängigkeit der medianen TGF- β 1-Oberflächenexpression S.29

Tabelle 4: Multivariate Cox-Regressionsanalyse S. 30

Tabelle 5: Ein-Jahres-Events bei Patienten mit ACS und korrespondierendes TGF- β 1 S. 33

Tabelle 6: Ein-Jahres-Events bei Patienten mit SAP und korrespondierendes TGF- β 1 S. 35

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Oberflächenexpression von TGF- β 1 auf Thrombozyten	S. 26
Abbildung 2: Unterschiedliche Oberflächenexpression von TGF- β 1 in Abhängigkeit einer Hyperlipidämie	S. 27
Abbildung 3: Unterschiedliche TGF- β 1-Expression bei SAP-Patienten mit und ohne Vorliegen einer Hyperlipoproteinämie	S. 28
Abbildung 4: Balken-Diagramm	S. 29
Abbildung 5: Kaplan-Meyer-Überlebensfunktion	S. 32
Abbildung 6: Hazard-Funktion	S. 33
Abbildung 7: Kaplan-Meyer-Überlebensanalyse	S. 35

Literaturverzeichnis

- 1 **Kannel WB.**
Incidence and epidemiology of heart failure.
Heart Fail Rev 2000; **5**: 167–173
[PMID: 16228142; DOI: 10.1023/A:1009884820941]
- 2 **Statistisches Bundesamt.**
Todesursachen in Deutschland - Fachserie 12 Reihe 4 - 2014
<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Todesursachen.html;jsessionid=E9BD8479EC169149823871393CC66573.cae2#Tabellen>
- 3 **Organization WH.**
Global Status Report on Noncommunicable Diseases 2014.
Geneva: World Health Organization, 2014
- 4 **Lloyd-Jones DM.**
Lifetime Risk for Developing Congestive Heart Failure. The Framingham Heart Study.
Circulation 2002; **106**: 3068–3072
[DOI: 10.1161/01.CIR.0000039105.49749.6F]
- 5 **Aso S,** Imamura H, Sekiguchi Y, Iwashita T, Hirano R, Ikeda U, Okamoto K.
Incidence and mortality of acute myocardial infarction. A population-based study including patients with out-of-hospital cardiac arrest.
Int Heart J 2011; **52**: 197–202
[PMID: 21828943]
- 6 **Myerson M,** Coady S, Taylor H, Rosamond WD, Goff DC, JR.
Declining severity of myocardial infarction from 1987 to 2002: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study.
Circulation 2009; **119**: 503–514
[PMID: 19153274; DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.693879]
- 7 **Jhund PS,** McMurray JJV.
Heart failure after acute myocardial infarction: a lost battle in the war on heart failure?
Circulation 2008; **118**: 2019–2021
[PMID: 19001032; DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.813493]
- 8 **Erdmann E,** Baer FM, editors.
Herzinsuffizienz. Ursachen, Pathophysiologie und Therapie.
3rd ed. Stuttgart: Wiss. Verl.-Ges, 2003

- 9 **Armstrong PW.**
Left ventricular dysfunction. Causes, natural history, and hopes for reversal.
Heart 2000; **84**: 15i–17
[DOI: 10.1136/heart.84.suppl_1.i15]

- 10 **Willich SN, Reinhold T, Lenz C, Brüggenjürgen B.**
Herzinsuffizienz nach Myokardinfarkt in Deutschland — Ökonomische Bedeutung und Einschränkung der Lebensqualität.
Pharmacoeconomics-Ger-Res-Articles 2005; **3**: 25–39
[DOI: 10.1007/BF03321561]

- 11 **Joggerst SJ, Hatzopoulos AK.**
Stem cell therapy for cardiac repair: benefits and barriers.
Expert Rev Mol Med 2009; **11**: e20
[PMID: 19586557; DOI: 10.1017/S1462399409001124]

- 12 **Bujak M, Frangogiannis NG.**
The role of TGF-beta signaling in myocardial infarction and cardiac remodeling.
Cardiovasc Res 2007; **74**: 184–195
[PMID: 17109837; DOI: 10.1016/j.cardiores.2006.10.002]

- 13 **Fuster V, Badimon L, Badimon JJ, Chesebro JH.**
The pathogenesis of coronary artery disease and the acute coronary syndromes (1).
N Engl J Med 1992; **326**: 242–250
[PMID: 1727977; DOI: 10.1056/NEJM199201233260406]

- 14 **Badimon JJ, Fuster V, Chesebro JH, Badimon L.**
Coronary atherosclerosis. A multifactorial disease.
Circulation 1993; **87**: 113-16
[PMID: 8443920]

- 15 **Ross R.**
Atherosclerosis-an inflammatory disease.
N Engl J Med 1999; **340**: 115–126
[PMID: 9887164; DOI: 10.1056/NEJM199901143400207]

- 16 **Bräsen JH, Niendorf A.**
Atherosklerose.
Der Pathologe 1997; **18**: 218–227
[DOI: 10.1007/s002920050209]

- 17 **Galle J.**
Atherosklerose und Arteriitis Die inflammatorische Hypothese: Konsequenzen für die Therapie von kardiovaskulären Erkrankungen.
Herz 2004; **29**: 4–11
[PMID: 14968336; DOI: 10.1007/s00059-004-2520-5]

- 18 **Munro JM**, Cotran RS.
The pathogenesis of atherosclerosis: atherogenesis and inflammation.
Lab Invest 1988; **58**: 249–261
[PMID: 3279259]
- 19 **Libby P**.
Inflammation and Atherosclerosis.
Circulation 2002; **105**: 1135–1143
[DOI: 10.1161/hc0902.104353]
- 20 **Fox K**, Garcia MAA, Ardissino D, Buszman P, Camici PG, Crea F, Daly C, Backer G de, Hjemdahl P, Lopez-Sendon J, Marco J, Morais J, Pepper J, Sechtem U, Simoons M, Thygesen K, Priori SG, Blanc J, Budaj A, Camm J, Dean V, Deckers J, Dickstein K, Lekakis J, McGregor K, Metra M, Osterspey A, Tamargo J, Zamorano JL.
Guidelines on the management of stable angina pectoris: executive summary: The Task Force on the Management of Stable Angina Pectoris of the European Society of Cardiology.
Eur Heart J 2006; **27**: 1341–1381
[PMID: 16735367; DOI: 10.1093/eurheartj/ehl001]
- 21 **Thygesen K**, Alpert JS, Jaffe AS, Simoons ML, Chaitman BR, White HD, Katus HA, Lindahl B, Morrow DA, Clemmensen PM, Johanson P, Hod H, Underwood R, Bax JJ, Bonow RO, Pinto F, Gibbons RJ, Fox KA, Atar D, Newby LK, Galvani M, Hamm CW, Uretsky BF, Steg PG, Wijns W, Bassand J, Menasche P, Ravkilde J, Ohman EM, Antman EM, Wallentin LC, Armstrong PW, Januzzi JL, Nieminen MS, Gheorghide M, Filippatos G, Luepker RV, Fortmann SP, Rosamond WD, Levy D, Wood D, Smith SC, Hu D, Lopez-Sendon J, Robertson RM, Weaver D, Tendera M, Bove AA, Parkhomenko AN, Vasilieva EJ, Mendis S.
Third universal definition of myocardial infarction.
Circulation 2012; **126**: 2020–2035
[PMID: 22923432; DOI: 10.1161/CIR.0b013e31826e1058]
- 22 **Carvalho AC**, Colman RW, Lees RS.
Platelet function in hyperlipoproteinemia.
N Engl J Med 1974; **290**: 434–438
[PMID: 4359434; DOI: 10.1056/NEJM197402212900805]
- 23 **Thygesen K**, Alpert JS, White HD.
Universal definition of myocardial infarction.
Journal of the American College of Cardiology 2007; **50**: 2173–2195
[PMID: 18036459; DOI: 10.1016/j.jacc.2007.09.011]

- 24 **Sato S**, Ashraf M, Millard RW, Fujiwara H, Schwartz A.
Connective tissue changes in early ischemia of porcine myocardium: an ultrastructural study.
J Mol Cell Cardiol 1983; **15**: 261–275
[PMID: 6876183]
- 25 **Judd JT**, Wexler BC.
Myocardial connective tissue metabolism in response to injury. Histological and chemical studies of mucopolysaccharide and collagen in rat hearts after isoproterenol-induced infarction.
Circ Res 1969; **25**: 201–214
[PMID: 4241082]
- 26 **Pfeffer MA**, Lamas GA, Vaughan DE, Parisi AF, Braunwald E.
Effect of captopril on progressive ventricular dilatation after anterior myocardial infarction.
N Engl J Med 1988; **319**: 80–86
[PMID: 2967917; DOI: 10.1056/NEJM198807143190204]
- 27 **Zhao MJ**, Zhang H, Robinson TF, Factor SM, Sonnenblick EH, Eng C.
Profound structural alterations of the extracellular collagen matrix in postischemic dysfunctional ("stunned") but viable myocardium.
Journal of the American College of Cardiology 1987; **10**: 1322–1334
[PMID: 3680802]
- 28 **Conrad CH**, Brooks WW, Hayes JA, Sen S, Robinson KG, Bing OHL.
Myocardial Fibrosis and Stiffness With Hypertrophy and Heart Failure in the Spontaneously Hypertensive Rat.
Circulation 1995; **91**: 161–170
[DOI: 10.1161/01.CIR.91.1.161]
- 29 **Moreo A**, Ambrosio G, Chiara B de, Pu M, Tran T, Mauri F, Raman SV.
Influence of myocardial fibrosis on left ventricular diastolic function: noninvasive assessment by cardiac magnetic resonance and echo.
Circ Cardiovasc Imaging 2009; **2**: 437–443
[PMID: 19920041; DOI: 10.1161/CIRCIMAGING.108.838367]
- 30 **Hasenfuss G**, Holubarsch C, Just H, Alpert NR, editors.
Cellular and Molecular Alterations in the Failing Human Heart. Factors associated with reactive and reparative fibrosis of the myocardium.
Darmstadt: Steinkopff-Verlag, 1992

- 31 **Kusunose K**, Obuchowski N, Popovic Z, Desai M, Flamm S, Griffin B, Kwon D.
Myocardial fibrosis is a powerful predictor of Mortality in patients with ischemic mitral regurgitation who have undergone surgical mitral valve intervention.
Journal of the American College of Cardiology 2016; **67**: 2191
[DOI: 10.1016/S0735-1097(16)32192-1]
- 32 **Cohn JN**.
ACE inhibition and vascular remodeling of resistance vessels: vascular compliance and cardiovascular implications.
Heart Dis 2000; **2**: S2—6
- 33 **Lijnen PJ**, Petrov VV, Fagard RH.
Collagen production in cardiac fibroblasts during inhibition of angiotensin-converting enzyme and aminopeptidases.
Journal of Hypertension 2004; (**22**): 209–216
[DOI: 10.1016/j.amjhyper.2004.03.410]
- 34 **Borg TK**, Rubin K, Carver W, Samarel A, Terracio L.
The cell biology of the cardiac interstitium.
Trends in Cardiovascular Medicine 1996; **6**: 65–70
[DOI: 10.1016/1050-1738(96)00005-9]
- 35 **Weber KT**.
Cardiac interstitium in health and disease. The fibrillar collagen network.
Journal of the American College of Cardiology 1989; **13**: 1637–1652
[DOI: 10.1016/0735-1097(89)90360-4]
- 36 **Weber KT**, Sun Y, Tyagi SC, Cleutjens JP.
Collagen network of the myocardium: function, structural remodeling and regulatory mechanisms.
J Mol Cell Cardiol 1994; **26**: 279–292
[PMID: 8028011; DOI: 10.1006/jmcc.1994.1036]
- 37 **Roberts AB**, McCune BK, Sporn MB.
TGF- β . Regulation of extracellular matrix.
Kidney International 1992; **41**: 557–559
[DOI: 10.1038/ki.1992.81]
- 38 **Eghbali M**, Czaja MJ, Zeydel M, Weiner FR, Zern MA, Seiffter S, Blumenfeld OO.
Collagen chain mRNAs in isolated heart cells from young and adult rats.
J Mol Cell Cardiol 1988; **20**: 267–276
[PMID: 3398057]

- 39 **Petrov VV**, Fagard RH, Lijnen PJ.
Stimulation of Collagen Production by Transforming Growth Factor- 1
During Differentiation of Cardiac Fibroblasts to Myofibroblasts.
Hypertension 2002; **39**: 258–263
[DOI: 10.1161/hy0202.103268]
- 40 **Sutton, M. G. St. J.**, Sharpe N.
Left Ventricular Remodeling After Myocardial Infarction. Pathophysiology
and Therapy.
Circulation 2000; **101**: 2981–2988
[DOI: 10.1161/01.CIR.101.25.2981]
- 41 **Weber KT**, Brilla CG.
Pathological hypertrophy and cardiac interstitium. Fibrosis and renin-
angiotensin-aldosterone system.
Circulation 1991; **83**: 1849–1865
[DOI: 10.1161/01.CIR.83.6.1849]
- 42 **Ikeuchi M**, Tsutsui H, Shiomi T, Matsusaka H, Matsushima S, Wen J,
Kubota T, Takeshita A.
Inhibition of TGF-beta signaling exacerbates early cardiac dysfunction but
prevents late remodeling after infarction.
Cardiovasc Res 2004; **64**: 526–535
[PMID: 15537506; DOI: 10.1016/j.cardiores.2004.07.017]
- 43 **Leask A**, Abraham DJ.
TGF-beta signaling and the fibrotic response.
FASEB J 2004; **18**: 816–827
[PMID: 15117886; DOI: 10.1096/fj.03-1273rev]
- 44 **Meurer DG**, Wolf S.
Allgemeine Pathologie. Kompendium für die Veterinärmedizin.
2nd ed. Stuttgart: Schattauer, 2007
- 45 **Cox TR**, Erler JT.
Remodeling and homeostasis of the extracellular matrix: implications for
fibrotic diseases and cancer.
Dis Model Mech 2011; **4**: 165–178
[PMID: 21324931; DOI: 10.1242/dmm.004077]
- 46 **Weber KT**.
Patterns of myocardial fibrosis*1.
J Mol Cell Cardiol 1989; **21**: 121–131
[DOI: 10.1016/0022-2828(89)90778-5]

- 47 **Border WA**, Ruoslahti E.
Transforming growth factor-beta in disease: the dark side of tissue repair.
J Clin Invest 1992; **90**: 1–7
[PMID: 1634602; DOI: 10.1172/JCI115821]
- 48 **Ahamed J**, Burg N, Yoshinaga K, Janczak CA, Rifkin DB, Collier BS.
In vitro and in vivo evidence for shear-induced activation of latent transforming growth factor-beta1.
Blood 2008; **112**: 3650–3660
[PMID: 18544680; DOI: 10.1182/blood-2008-04-151753]
- 49 **Border WA**, Noble NA.
Interactions of Transforming Growth Factor- and Angiotensin II in Renal Fibrosis.
Hypertension 1998; **31**: 181–188
[DOI: 10.1161/01.HYP.31.1.181]
- 50 **Toma I**, McCaffrey TA.
Transforming growth factor- β and atherosclerosis: interwoven atherogenic and atheroprotective aspects.
Cell Tissue Res 2012; **347**: 155–175
[PMID: 21626289; DOI: 10.1007/s00441-011-1189-3]
- 51 **Varga J**, Rosenbloom J, Jimenez SA.
Transforming growth factor β (TGF β) causes a persistent increase in steady-state amounts of type I and type III collagen and fibronectin mRNAs in normal human dermal fibroblasts.
Biochem. J. 1987; **247**: 597–604
[DOI: 10.1042/bj2470597]
- 52 **Schiller M**, Javelaud D, Mauviel A.
TGF-beta-induced SMAD signaling and gene regulation: consequences for extracellular matrix remodeling and wound healing.
J Dermatol Sci 2004; **35**: 83–92
[PMID: 15265520; DOI: 10.1016/j.jdermsci.2003.12.006]
- 53 **Lijnen PJ**, Petrov VV, Fagard RH.
Induction of cardiac fibrosis by transforming growth factor-beta(1).
Mol Genet Metab 2000; **71**: 418–435
[PMID: 11001836; DOI: 10.1006/mgme.2000.3032]
- 54 **Rosenkranz S**, Flesch M, Amann K, Haeuseler C, Kilter H, Seeland U, Schlüter K, Böhm M.
Alterations of beta-adrenergic signaling and cardiac hypertrophy in transgenic mice overexpressing TGF-beta(1).
Am J Physiol Heart Circ Physiol 2002; **283**: H1253-62
[PMID: 12181157; DOI: 10.1152/ajpheart.00578.2001]

- 55 **Brooks WW**, Conrad CH.
Myocardial fibrosis in transforming growth factor beta(1)heterozygous mice.
J Mol Cell Cardiol 2000; **32**: 187–195
[PMID: 10722796; DOI: 10.1006/jmcc.1999.1065]
- 56 **Meyer A**, Wang W, Qu J, Croft L, Degen JL, Coller BS, Ahamed J.
Platelet TGF- β 1 contributions to plasma TGF- β 1, cardiac fibrosis, and
systolic dysfunction in a mouse model of pressure overload.
Blood 2012; **119**: 1064–1074
[PMID: 22134166; DOI: 10.1182/blood-2011-09-377648]
- 57 **Chen MM**, Lam A, Abraham JA, Schreiner GF, Joly AH.
CTGF expression is induced by TGF- beta in cardiac fibroblasts and
cardiac myocytes: a potential role in heart fibrosis.
J Mol Cell Cardiol 2000; **32**: 1805–1819
[PMID: 11013125; DOI: 10.1006/jmcc.2000.1215]
- 58 **Okada H**, Takemura G, Kosai K, Li Y, Takahashi T, Esaki M, Yuge K,
Miyata S, Maruyama R, Mikami A, Minatoguchi S, Fujiwara T, Fujiwara H.
Postinfarction gene therapy against transforming growth factor-beta signal
modulates infarct tissue dynamics and attenuates left ventricular
remodeling and heart failure.
Circulation 2005; **111**: 2430–2437
[PMID: 15867170; DOI: 10.1161/01.CIR.0000165066.71481.8E]
- 59 **Wang X**.
Circulating transforming growth factor β 1 and coronary artery disease.
Cardiovasc Res 1997; **34**: 404–410
[DOI: 10.1016/S0008-6363(97)00033-3]
- 60 **Devaux Y**, Bousquenaud M, Rodius S, Marie P, Maskali F, Zhang L,
Azuaje F, Wagner DR.
Transforming growth factor β receptor 1 is a new candidate prognostic
biomarker after acute myocardial infarction.
BMC Med Genomics 2011; **4**: 83
[PMID: 22136666; DOI: 10.1186/1755-8794-4-83]
- 61 **Alcock RF**, Yong ASC, Ng ACC, Chow V, Cheruvu C, Aliprandi-Costa B,
Lowe HC, Kritharides L, Brieger DB.
Acute coronary syndrome and stable coronary artery disease: are they so
different? Long-term outcomes in a contemporary PCI cohort.
Int J Cardiol 2013; **167**: 1343–1346
[PMID: 22534045; DOI: 10.1016/j.ijcard.2012.04.011]

- 62 **Pauschinger M**, Knopf D, Petschauer S, Doerner A, Poller W, Schwimmbeck PL, Kuhl U, Schultheiss H.
Dilated Cardiomyopathy Is Associated With Significant Changes in Collagen Type I/III ratio.
Circulation 1999; **99**: 2750–2756
[DOI: 10.1161/01.CIR.99.21.2750]
- 63 **Li R**, Li G, Mickle DAG, Weisel RD, Merante F, Luss H, Rao V, Christakis GT, Williams WG.
Overexpression of Transforming Growth Factor- 1 and Insulin-Like Growth Factor-I in Patients With Idiopathic Hypertrophic Cardiomyopathy.
Circulation 1997; **96**: 874–881
[DOI: 10.1161/01.CIR.96.3.874]
- 64 **Fielitz J**, Hein S, Mitrovic V, Pregla R, Zurbrügg HR, Warnecke C, Schaper J, Fleck E, Regitz-Zagrosek V.
Activation of the cardiac renin-angiotensin system and increased myocardial collagen expression in human aortic valve disease.
Journal of the American College of Cardiology 2001; **37**: 1443–1449
[DOI: 10.1016/S0735-1097(01)01170-6]

Publikation

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift wurden bereits in der folgenden
Publikation veröffentlicht:

**Rath, Dominik; Chatterjee, Madhumita; Müller, Iris; Müller, Karin;
Böckmann, Corinna; Droppa, Michael et al. (2014)**

Platelet expression of transforming growth factor beta 1 is enhanced and
associated with cardiovascular prognosis in patients with acute coronary
syndrome.

Atherosclerosis 237 (2), S. 754–759.

DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2014.10.021.

Erklärung zum Eigenanteil

Ich, Corinna Desiree Böckmann, versichere die vorgelegte Dissertation selbstständig und ohne unerlaubte fremde Hilfe und nur mit Hilfen angefertigt zu haben, die ich in der Dissertation angegeben habe.

Alle Textstellen die wörtlich oder sinngemäß aus veröffentlichten Schriften entnommen sind, sind als solche kenntlich gemacht.

Ich arbeitete mich, mithilfe von Madhumita Chatterjee und Lydia Laptev, in die verwendeten Labormethoden ein. Die Laboruntersuchung sowie die Datenerhebung, führte ich selbstständig und im Rahmen der 24-Stunden Rufbereitschaft in Zusammenarbeit mit den anderen Doktoranden/innen der TuePic-Studie durch. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der Unterstützung von Dominik Rath.

Bei der von mir durchgeführten und in der Dissertation beschriebenen Untersuchung habe ich die Grundsätze guter wissenschaftlicher Praxis eingehalten.

Tübingen, den 09. November 2016

Danksagung

Ich möchte mich als Erstes ganz herzlich bei Prof. Dr. Geisler bedanken, der mich in seine Arbeitsgruppe integriert und mir die Möglichkeit gegeben hat das Forschungslabor der Inneren Medizin III der Universität zu benutzen. Des Weiteren gilt mein Dank Prof. Dr. Gawaz, der mir das Thema überlassen hat.

Ein ganz besonderes Dankeschön gilt auch meinem engagierten Betreuer, Dominik Rath, der jederzeit für mich zu erreichen war und bei dem meine Fragen ein offenes Ohr fanden. Durch seine fachliche Unterstützung trug er viel zum Gelingen dieser Arbeit bei.

Ich möchte mich bei allen Mitarbeitern/innen des Labors der medizinischen Klinik III der Eberhard-Karls Universität für die Unterstützung bedanken. Ein großer Dank geht hier an Lydia Laptev und Madhumita Chatterjee, für die Einarbeitung in die Arbeitstechniken. Sie standen mir im Labor mit Rat und Tat zur Seite und ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Ferner danke ich allen Mitdoktoranden/innen der TuePic-Arbeitsgruppe für die Zusammenarbeit und Aufteilung der Dienste im Labor.

Danken möchte ich auch meiner Familie und meinen Freunden für ihre Unterstützung und Motivation. Im Besonderen danke ich Lena, Patricia und Philipp für die Korrekturvorschläge. Meinem Freund Björn danke ich für die vielen Nerven, die ich ihn gekostet habe und für seine Geduld, außerdem danke ich ihm für die stetige Kaffee-Versorgung. Und zu guter Letzt danke ich meinen Eltern, ohne die ich nie das geworden wäre, was ich jetzt bin.