

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

**Einfluss der thrombozytären Oberflächenexpression
von CXCR7 und CXCR4 auf die myokardiale
Regeneration nach STEMI**

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

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

vorgelegt von

Nina Tekath

2019

Dekan:

Professor Dr. I. B. Authenrieth

1. Berichterstatter:

Professor Dr. T. Geisler

2. Berichterstatter:

Professor Dr. H. P. Wendel

Tag der Disputation: 09.05.2019

Widmung

Diese Arbeit widme ich meiner Großmutter und meiner Mutter, die mich stets unterstützt haben und mir ein großer Halt waren.

Inhaltsverzeichnis

Widmung.....	3
Inhaltsverzeichnis	4
Abkürzungen.....	5
1 Einleitung.....	8
1.1 Koronare Herzerkrankung.....	8
1.2 Akutes Koronarsyndrom (ACS).....	13
1.2.1 ACS – Definition und Pathophysiologie.....	13
1.2.2 STEMI als Form des ACS	14
1.3 Thrombozyten	15
1.3.1 Thrombozyten – Definition und Morphologie.....	15
1.3.3 Thrombozytäre Hämostase	18
1.3.4 Thrombozyten und das ACS	19
1.3.5 Thrombozytenaggregationhemmer in der Therapie der KHK.....	21
1.4 Die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse.....	23
1.4.1 Struktur und allgemeine Funktionen von Chemokinen.....	23
1.4.2 SDF-1 α	24
1.4.3 CXCR4	26
1.4.4 CXCR7	27
2 Ziele.....	30
3 Material und Methoden.....	32
4 Ergebnisse.....	44
5 Diskussion	55
6 Zusammenfassung	63
7 Literaturverzeichnis	65
8 Erklärung zum Eigenanteil.....	84
9 Lebenslauf.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.
10 Danksagung.....	85

Abkürzungen

AAR – Area at risk
ACS – Acute coronary syndrome
ADP – Adenosindiphosphat
AMI – acute myocardial infarction
ASS – Acetylsalicylsäure
ATP – Adenosintriphosphat
bFGF – Basic fibroblast growth factor
BL – Baseline
CAD – coronary artery disease
CD – Cluster of differentiation
CGRP – Calcitonin-gene-related-peptide
c-kit – Tyrosinkinase KIT
CMR – cardiac magnetic resonance imaging
COX-1 – Cyclooxygenase 1
COX-2 – Cyclooxygenase 2
CPDA – Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin
CTGF – connective tissue growth factor
CXCL12 – CXC-Ligand 12
CXCR4 – CXC-Rezeptor 4
CXCR7 – CXC-Rezeptor 7
DPBS – Dulbecco's Phosphate-Buffered Saline
DES – drug eluting stent
EDTA – ethylene diamine tetraacetic acid
EDV – Enddiastolisches Volumen
EF – Ejektionsfraktion
EGF – epithelial growth factor
EKG – Elektrokardiographie
eNOS – Endotheliale NO-Synthetase
ESV – Endsystolisches Volumen
FACS – Fluorescence activated cell sorting

FITC – Fluorescein Isothiocyanat
FU – Follow-up
GPCR – G-protein-coupled receptor
GPVI – Glycoprotein VI
HCT – Hydrochlorothiazid
HF – Herzfrequenz
HIF-1 α – Hypoxia-induced-factor 1 α
HIV – Humanes Immundefizienz-Virus
ICAM-1 – Intercellular adhesion molecule 1
IGF-1 – insuline-like-growth-factor
KA – Kurzachsenschnitt
Kardio-MRT – Kardiale Magnetresonanztomographie
kg – Kilogramm
KG – Körpergewicht
KHK – Koronare Herzerkrankung
KVRF – Kardiovaskuläre Risikofaktoren
LDL – Low Density Lipoprotein
LGE – Late Gadolinium Enhancement
In $S_{TE(1/2)}$ – Logarithmus des Signals im Bild bei Echozeit (1/2)
LV – linksventrikulär
LV-EDV – Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen
LV-ESV – Linksventrikuläres endsystolisches Volumen
LVEF – Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LV-Funktion – Linksventrikuläre Funktion
LV-SV – Linksventrikuläres Schlagvolumen
M – Mittelwert
MFI – mean fluorescence intensity
MIF – Macrophage Migration Inhibition Factor
ml – Milliliter
MM – Myokardmasse
MMP – Matrixmetalloprotease
MR/ MRT – Magnetresonanztomographie

ms – Millisekunden
MSC – mesenchymal stem cells
NO – Stickstoffmonoxid
NSTEMI – Non-ST-segment elevation myocardial infarction
PBS – Phosphate buffered saline
PDGF – Platelet-derived growth factor
PFA – Paraformaldehyd
PRP – Plättchenreiches Plasma
PTCA – Perkutane transluminale Coronare Angioplastie
Q₂₅ – 25. Quartil
Q₇₅ – 75. Quartil
ROI – region of interest
SD – Standardabweichung (standard deviation)
SDF-1 – Stromal cell-derived factor 1
SDT – signal decay time
S_{TE 1} – Signal im Bild bei Echozeit 1 (signal time echo)
S_{TE 2} – Signal im Bild bei Echozeit 2 (signal time echo)
SV – Schlagvolumen
STEMI – ST-segment elevation myocardial infarction
TE – echo time
TGF-β1 – transforming growth factor beta 1
TNF – Tumornekrosefaktor
TR – repetition time
VCAM-1 – Vascular cell adhesion molecule 1
VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor

1 Einleitung

1.1 Koronare Herzerkrankung

Die koronare Herzerkrankung ist zusammen mit dem akuten Myokardinfarkt an der Spitze der Todesursachen in Deutschland zu sehen (Abbildung 1). Mit einer Lebenszeitprävalenz der KHK von 8,0% und des Myokardinfarkts von 4,7% bei 40-79-Jährigen nimmt sie Einfluss auf einen großen Teil der Bevölkerung.¹

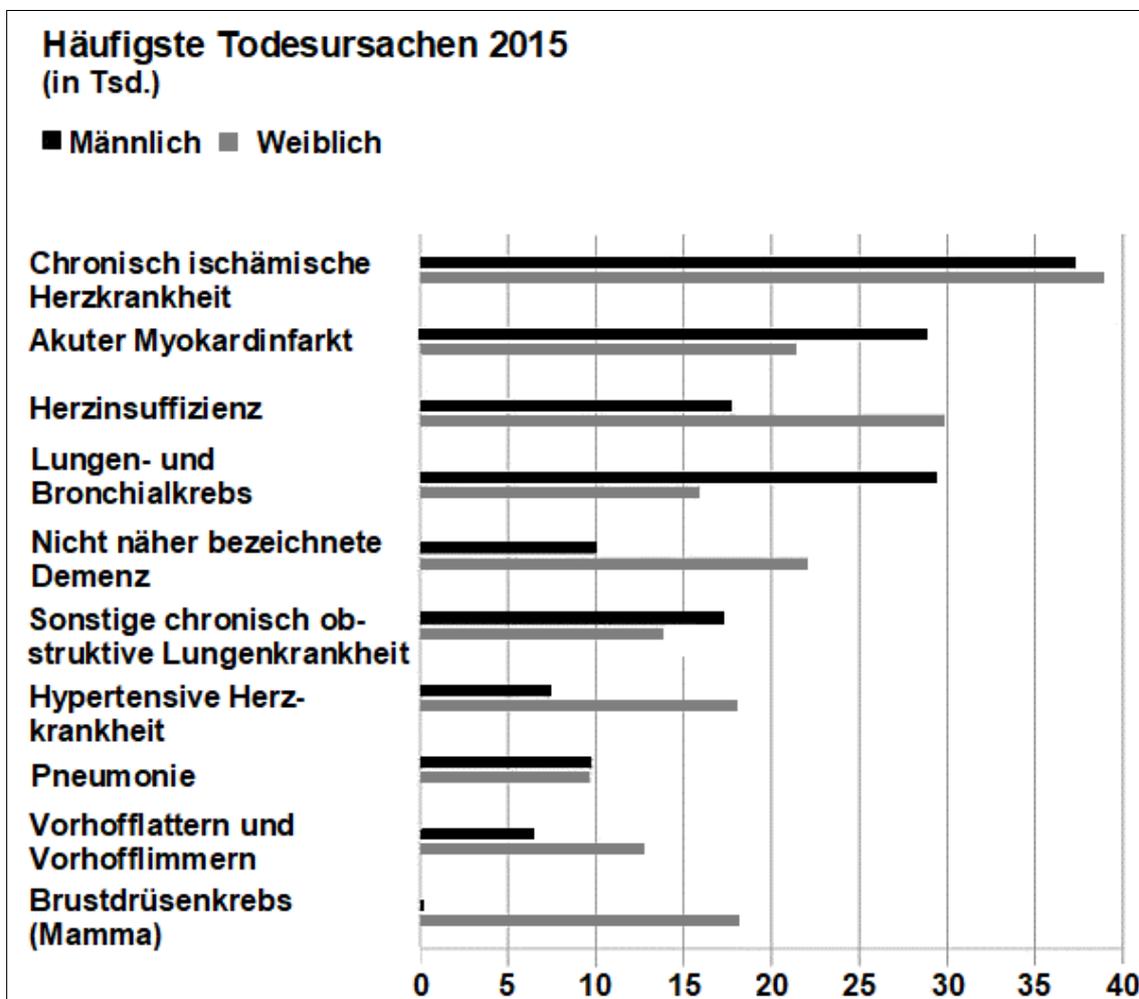


Abbildung 1: Häufigste Todesursachen in Deutschland 2015. Modifiziert nach: Statistisches Bundesamt (Destatis). „Häufigste Todesursachen 2015.“ (2017):

<https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Todesursachen.html>. Zitiert: 02.01.2018

Der Begriff der KHK beschreibt die Manifestation der Atherosklerose an den Koronararterien des Herzens.¹ Die Atherosklerose ist ein chronischer Prozess, bei dem es durch mehrere aufeinanderfolgende, pathologische Prozesse zu einer Endothelschädigung mit prothrombotischem Potential kommt.²

Als ein initialer Schritt, der letztendlich zur Entstehung von Atherosklerose führt, kann die homöostatische Dysregulation des Endothels gesehen werden („Endotheliale Dysfunktion“).^{3,4} Die endotheliale Dysfunktion ist die Folge der Exposition des Endothels gegenüber kardiovaskulären Risikofaktoren, wie Nikotinabusus, Hypercholesterinämie, arterielle Hypertonie und Hyperglykämie.⁵ Das Endothel nimmt nicht nur die Aufgabe als semipermeable Grenzschicht zwischen Blut und Gewebe ein, sondern übernimmt auch wichtige endokrine Funktionen.³ Es moduliert neben der Hämostase und Thrombose auch inflammatorische Prozesse, Vasodilatation (unter anderem über NO), Vasokonstriktion sowie regenerative Vorgänge.⁶ Bei einer chronischen Beanspruchung des Endothels durch beispielsweise arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus oder Hyperlipidämie, kommt es zu einer Dysbalance der endothelialen Homöostase.⁵ Die endotheliale Dysfunktion ist durch verminderte endotheliale Syntheseleistungen und verminderte Freisetzung von NO definiert.⁷ NO ist nicht nur ein potenter Vasodilatator, sondern wirkt auch als Inhibitor der Thrombozytenaggregation, der Inflammation, des oxidativen Stresses sowie der Proliferation und Migration glatter Gefäßmuskulzellen.⁸ Die Bildung von NO durch die eNOS wird durch Sauerstoffradikale, Lipoproteine (z.B. LDL) sowie Glucose beeinträchtigt, was zur Entstehung der endothelialen Dysfunktion beiträgt.^{9,10,11} Folglich kommt es durch NO-Verlust zu erhöhtem proinflammatorischen und prothrombotischen Potential. Zudem ist NO ein Gefäß-protektiver Faktor, der eine Aktivierung des Endothels verhindert.⁶ Die Folge der endothelialen Dysfunktion ist eine Aktivierung des Endothels, die durch die Expression von endothelialen Oberflächenadhäsionsmolekülen und eine erhöhte Permeabilität des Endothels gekennzeichnet ist.^{2,6} Das aktivierte Endothel exprimiert Adhäsionsmoleküle, wie VCAM-1 und ICAM-1, die die Adhäsion von Leukozyten, T-Lymphozyten und Monozyten an das Endothel begünstigen.¹²

Durch die erhöhte Permeabilität des Endothels können Lipoproteine, insbesondere LDL-Cholesterin, durch das Endothel diffundieren.^{2,3} Makrophagen phagozytieren LDL-Cholesterin. Sie werden daraufhin als „Schaumzellen“ bezeichnet, die akkumulieren und so genannte „fatty streaks“ bilden.¹³ Schaumzellen exprimieren inflammatorische Botenstoffe, wie Chemokine und Wachstumsfaktoren.¹⁴

Die chronisch-entzündliche Endothelveränderung führt zur Ausbildung atherosklerotischer Plaques, die, in den Koronararterien lokalisiert, lebensbedrohlich werden können.¹⁵ Es kommt zu Umbauvorgängen der extrazellulären Matrix, die durch MMPs gefördert werden.¹⁶ Es bildet sich eine sogenannte fibröse Kappe aus migrierten glatten Muskelzellen und extrazellulärer Matrix um die Plaque.¹⁷

Die Gefahr der atherosklerotischen Plaques besteht in der Ruptur.¹⁸ Rupturiert die Plaque, das heißt die fibröse Kappe reißt, wird subendotheliale Matrix freigelegt, die unter anderem Kollagen enthält.¹⁹ Kollagen ist ein stark prothrombotisch wirkendes Strukturprotein.²⁰ Es entsteht ein Thrombus, der zum einen zu einer vollständigen Stenose des betroffenen Gefäßes führen kann (Abbildung 2), und zum anderen durch Verschleppung des thrombotischen Materials (Mikro-) Embolien hervorrufen kann. Durch Mikroembolien können Stenosen in der Peripherie entstehen.

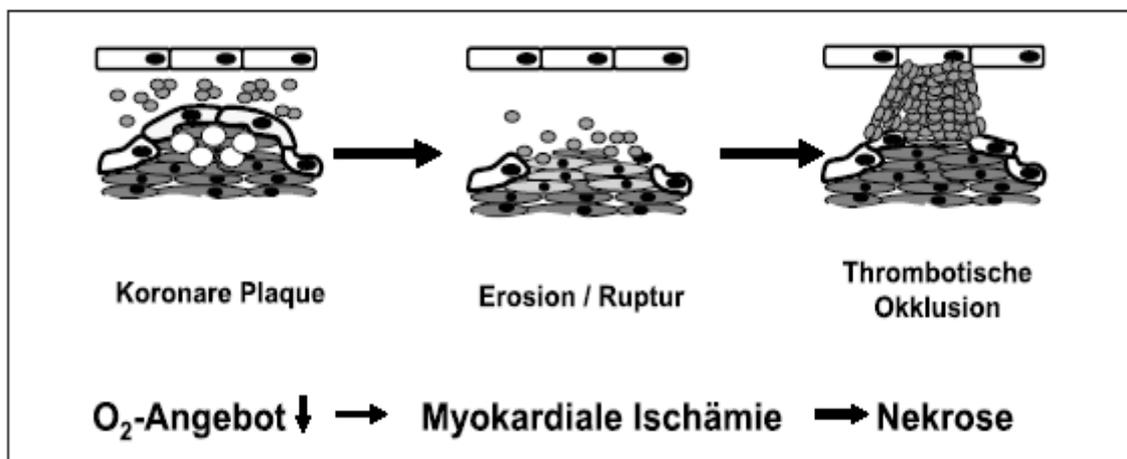


Abbildung 2: Pathophysiologie der Plaqueruptur und der darauffolgenden thrombotischen Okklusion. Modifiziert nach: Langer, H., and M. Gawaz. "[the Role of Platelets for the Pathophysiology of Acute Coronary Syndromes]." Hamostaseologie 26, no. 2 (May 2006): 114-8.

Die Stenose bewirkt ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffverbrauch und Sauerstoffbedarf des Herzens.²¹ Die Regulation der Durchblutung des Herzmuskels, die das Herz normalerweise durch Vasoreaktivität bewirkt, ist nicht mehr möglich. Bei stabilen Plaques kommt es zu reproduzierbaren und belastungsabhängigen Beschwerden.²² Bei instabilen Plaques kann es durch eine Ruptur zu einer so gravierenden Gefäßverengung kommen, dass auch in Ruhe ein Missverhältnis zwischen Sauerstoffaufnahme und Sauerstoffbedarf besteht, sodass die Beschwerden hier belastungsunabhängig auftreten können.^{23,24} Kommt es zu einer vorübergehenden Okklusion, wird dies als instabile Angina pectoris bezeichnet.²⁵ Bei persistierender Okklusion kann es zu transmuraler, ischämischer Myokardschädigung kommen.²⁶

Inzwischen können Stenosen der Koronararterien mithilfe von interventionellen Verfahren therapiert werden. Dazu zählt die Katheterisierung der Koronargefäße mit Stenting des stenosierten Gefäßes, welche zuerst 1986 von Sigwart und seinen Mitarbeitern durchgeführt wurde.²⁷ Zuvor wurden die stenosierten Koronargefäße bereits seit 1979 via transluminaler Ballon-Dilatation wiedereröffnet. Eine häufige Komplikation hierbei sind Restenosen.^{28,29,30}

1999 wurde als weiterer Meilenstein interventioneller Kardiologie der erste DES (drug-eluting-stent) via koronarer Angioplastie implantiert.³⁰ DES weisen ein deutlich niedrigeres Risiko für Restenosen auf.^{31,32}

Der Herzmuskel wird je nach Lokalisation und Dauer der Ischämie in unterschiedlichem Ausmaß geschädigt. Eine Regeneration des Gewebes ist nur in begrenztem Maß möglich.³³ Derzeitige Therapieoptionen verbessern die Rate der Restenosen und verhindern neue Stenosen der Koronargefäße.^{1,34} Auch Herzrhythmusstörungen, die durch das Narbengewebe und die Schädigung des Reizleitungssystems nach Infarkt auftreten können, können therapiert werden.^{35,36,37,38,39} Die Mortalität kann somit gesenkt werden, doch die Regeneration des Myokards, kann bisher therapeutisch nicht gefördert werden.^{40,41,42} Lange ging man davon aus, dass das Herz ein postmitotisches Organ sei und somit nicht mehr regenerationsfähig.⁴³ Diese These wurde jedoch im späten 20. Jahrhundert widerlegt.⁴³

An Tiermodellen wurde bereits mehrfach eine Verbesserung der Myokardfunktion nach Myokardinfarkt durch embryonale und mesenchymale Stammzelltransplantation nachgewiesen.^{44,45,46,47}

Die mesenchymale Stammzelltransplantation weist jedoch Probleme auf, die verhindern, dass diese Option therapeutisch für Patienten nach Myokardinfarkt genutzt werden kann: Mesenchymale Stammzellen (MSC) können sich nicht nur in das gewünschte Gewebe differenzieren, sondern auch in andere Gewebearten. So konnten beispielsweise in einer Tierstudie, bei der allogene mesenchymale Stammzellen in infarziertes Myokard injiziert wurden, Ossifikationen und Kalzifikationen im Infarktareal festgestellt werden.⁴⁸ Hinzu kommt, dass in In-vitro- und Tierstudien ein neoplastisches Potential mesenchymaler Stammzellen nachgewiesen wurde. In einer In-vitro-Studie zeigten mesenchymale Stammzellen ein erhöhtes Risiko zu immortalisieren und spontan zu transformieren.⁴⁹ Bei Mäusen, denen allogene mesenchymale Stammzellen aus ex-vivo MSC-Kulturen injiziert wurden, wurde die Entstehung von Sarkomen beobachtet.⁵⁰

Auch die embryonale Stammzelltransplantation im Rahmen der Herzinfarkttherapie weist Schwierigkeiten auf: In Studien konnte bei der Transplantation embryonaler Stammzellen ebenfalls neoplastisches Potential nachgewiesen werden. In einer Tierstudie wurde nach embryonaler Stammzelltransplantation die Entstehung von Teratomen und Teratokarzinomen beobachtet.^{42,51} Auch weist die Gewinnung embryonaler Stammzellen ethische Schwierigkeiten auf.⁵²

Es konnte nachgewiesen werden, dass Signalwege, wie der CXCR7-CXCR4-SDF-1-Signalweg, die Migration und das Überleben körpereigener mesenchymaler und kardialer Stammzellen beeinflussen.^{53,54,55,56} Der CXCR7-CXCR4-SDF-1-Signalweg könnte daher ein Schlüssel dazu sein, die kardiale Regeneration nach Herzinfarkt durch Stammzellen auf nicht invasive Art und Weise zu fördern.⁴²

1.2 Akutes Koronarsyndrom (ACS)

1.2.1 ACS – Definition und Pathophysiologie

Der Begriff „ACS“ beschreibt die klinische Ausprägung einer akuten Myokardischämie und fasst damit die Krankheitsbilder instabile Angina pectoris, NSTEMI (Non-ST-segment elevation myocardial infarction) und STEMI (ST-segment elevation myocardial infarction) zusammen.⁵⁷ Das Leitsymptom aller Patienten mit ACS ist der akute Thoraxschmerz.⁵⁸

Die European Society of Cardiology unterscheidet zwei Patientengruppen:

1. Patienten mit akutem Thoraxschmerz und > 20 Minuten andauernder ST-Hebung im EKG. Dieser Zustand bezeichnet zunächst das ST-Hebungs-ACS. Die meisten der betroffenen Patienten entwickeln jedoch im Verlauf einen ST-Hebungs-Myokardinfarkt (STEMI).
2. Patienten mit akutem Thoraxschmerz ohne dauerhafte ST-Hebung im EKG. Es kann jedoch zu EKG-Veränderungen, wie vorübergehende ST-Hebung, dauerhafte oder vorübergehende ST-Senkung oder T-Wellen-Veränderungen kommen oder auch ein normales EKG zu sehen sein.

Die zweite Patientengruppe lässt sich nochmals differenzieren:

1. Patienten, die einen zellulären Schaden durch die Myokardischämie erleiden und somit als spezifischer Laborparameter einen Anstieg von kardialem Troponin zeigen (NSTEMI).
2. Patienten, die eine Myokardischämie ohne zelluläre Nekrose erleiden und dementsprechend keinen Anstieg von kardialem Troponin aufweisen (Instabile Angina Pectoris).⁵⁸

Eine schnellstmögliche Wiederherstellung der Perfusion ist essentiell für die Prognose der Patienten.

Jedoch liegt auch nach Wiedereröffnung bei 22-50% der Patienten eine koronare Malperfusion vor, was auf eine Störung in der Mikrozirkulation und systemische Thrombozytenaktivierung zurückzuführen ist.⁵⁹

1.2.2 STEMI als Form des ACS

Der STEMI bezeichnet eine Form des Myokardinfarkts, bei dem es zu einer persistierenden (> 20 Minuten) Hebung der ST-Strecke im EKG kommt.⁵⁸

Der Myokardinfarkt ist nach der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie (DGK) allgemein definiert durch die folgenden diagnostischen Kriterien:

„1. Hauptkriterien:

- a) Troponin-Grenzwertkriterium: Troponinkonzentration bei Aufnahme oder nach 3-6 h >99. Perzentil
- b) Troponin-Deltakriterium: relevanter Anstieg und/oder Abfall der Troponinkonzentration innerhalb von 3-6 h

2. Nebenkriterien:

- a) Klinisches Kriterium: Symptome der Ischämie
- b) EKG-Kriterium: Neue ST-T-Veränderungen, neuer Linksschenkelblock oder Entstehung pathologischer Q-Zacken
- c) Bildgebendes Kriterium: Neuer Verlust von vitalem Myokard, neue Wandbewegungsstörungen, intrakoronarer Thrombus.“⁶⁰

Bei Zutreffen beider Hauptkriterien und mindestens eines Nebenkriterium liegt ein Myokardinfarkt vor.⁶⁰

1,3% der Krankenhausaufenthalte in Deutschland werden durch Myokardinfarkte verursacht.⁶¹ Dabei nimmt der STEMI einen Anteil von 38,5% ein.⁶¹ Ein größerer Teil wird durch den NSTEMI (61,5%) verursacht.⁶¹ Der STEMI ist mit einer höheren kurzfristigen Mortalität (30 Tage nach dem Ereignis) assoziiert als der NSTEMI, hinsichtlich der Langzeitprognose bestehen keine großen Unterschiede.⁶²

Die Krankenhaussterblichkeit des STEMI betrug 2013 noch 7-8%. Dabei wurden Patienten über einen Zeitraum von 3 Monaten verfolgt.⁶³

37% der Patienten >65 Jahre mit Myokardinfarkt entwickeln noch während ihres Krankenhausaufenthaltes eine Herzinsuffizienz.⁶⁴ 71% der Patienten > 65 Jahre mit Myokardinfarkt, die den Krankenhausaufenthalt überleben, entwickeln im Laufe der nächsten 5 Jahre eine Herzinsuffizienz, wovon diese bei 64% im ersten

Jahr auftritt.⁶⁴ Ursache ist der Verlust von Kardiomyozyten infolge inflammatorischer Reaktion nach Myokardinfarkt.⁶⁵

1.3 Thrombozyten

1.3.1 Thrombozyten – Definition und Morphologie

Max Schultze und Giulio Bizzozero beschrieben 1865 und 1882 als erste die Blutplättchen und deren Bedeutung in der zellulären Hämostase.^{66,67}

Thrombozyten sind die kleinsten zellulären Blutbestandteile mit einem Durchmesser von 1,0-3,1 µm, einem Volumen von 4,0-7,6 fl und einer Dicke von 1 µm.⁶⁸ Sie sind kernlos und im Ruhezustand scheibenförmig (diskoide), weshalb ruhende Thrombozyten auch als Discozyten bezeichnet werden.⁶⁸

Thrombozyten entstehen im Knochenmark aus Vorläuferzellen, den Megakaryozyten.⁶⁹ Megakaryozyten entwickeln sich aus pluripotenten Stammzellen im Knochenmark. Thrombopoietin bewirkt die Reifung der pluripotenten Stammzelle zum Megakaryozyten.⁶⁹ Durch Abschnürung von reifen Megakaryozyten, die thrombozytenspezifische Granula und Organellen enthalten, werden Thrombozyten freigesetzt.

Bei gesunden Erwachsenen beträgt die Anzahl an Thrombozyten 150.000 – 400.000 pro µl Blut.⁷⁰ Sie zirkulieren für 5-10 Tage im Blut.⁷¹ Der Abbau erfolgt über die Leber und Milz.⁷²

Treffen Thrombozyten auf Kollagen, das bei einer Endothelverletzung aus der subendothelialen Matrix freigelegt wird, werden diese aktiviert.⁷³ Auch Substanzen wie ADP und Thrombin induzieren eine Aktivierung der Thrombozyten.^{74,75}

Aktivierte Thrombozyten verändern ihre Form und bilden Pseudopodien aus.⁷⁶ Die Formänderung wird als „Shape change“ bezeichnet und führt zu einem Übergang der flachen, scheibenförmigen Form der Thrombozyten in eine rundliche Gestalt (Abbildung 3).⁶⁸

Die Shape change der Thrombozyten bewirkt eine verbesserte Adhäsion der Thrombozyten an zelluläre und extrazelluläre Bestandteile.^{77,78,79}

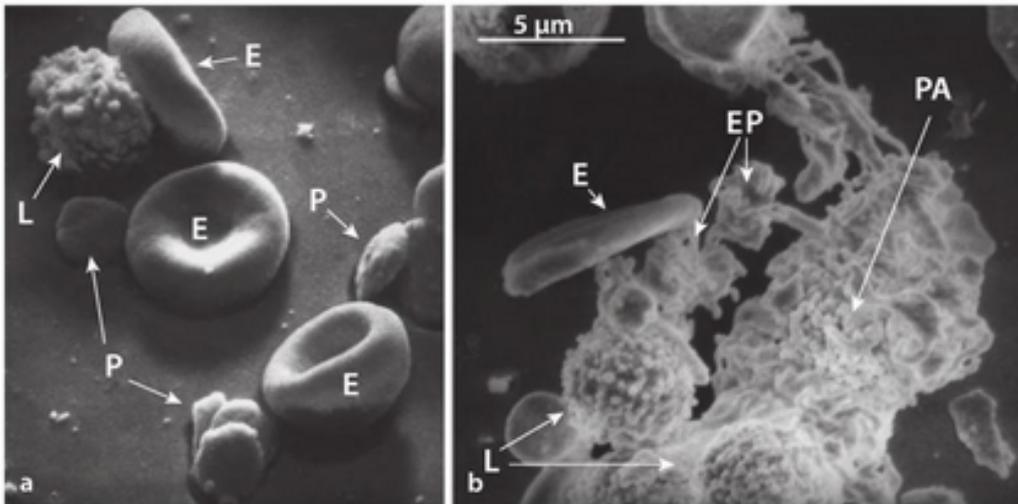


Abbildung 3: Thrombozyten im Rasterelektronenmikroskop im aktivierten und ruhenden Zustand. a): Diskozyten (P), Erythrozyten (E), Leukozyten (L). b): Aktivierte Thrombozyten: Echinosphärozyten (EP) und ein Thrombozytenaggregat (PA) nach ADP-Stimulation. Aus: Pötzsch, B., K. Madlener. Hämostaseologie: Grundlagen, Diagnostik Und Therapie. Vol. 2: 16. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2010.

1.3.2 Sekretorische Granula

Thrombozyten enthalten eine Reihe von sekretorischen Granula. Es werden drei Arten thrombozytärer Granula unterschieden: α -Granula, elektronendichte Granula („dense bodies“) und Lysosomen.⁸⁰

α -Granula

α -Granula machen ca. 10% des Thrombozytenvolumens aus.⁸⁰ Sie enthalten unter anderem hämostatische Faktoren, wie Fibrinogen, Faktor V, von-Willebrand-Faktor, aber auch angiogenetische Faktoren (VEGF, Angiogenin), Wachstumsfaktoren (PDGF, bFGF, SDF-1 α), Proteasen (MMP2, MMP9), nekrotische Faktoren (TNF α , TNF β) und α -Chemokine.^{81,82} Zum Teil werden diese Substanzen schon in den Megakaryozyten produziert und während der Thrombozytopoese in die Granula verpackt.⁸¹ Zum Teil kann der Thrombozyt auch Stoffe, wie zum Beispiel Fibrinogen, aus dem Blutplasma aufnehmen und in den α -Granula speichern.⁸⁰

α -Granula enthalten nicht nur lösliche Proteine, sondern auch membranständige Proteine, wie P-Selektin. Werden die Granula während der Thrombozytenaktivierung ausgeschüttet, so wird die Membran der Granula in die Thrombozytenmembran eingebaut und somit vermehrt P-Selektin exprimiert.^{83,84,85,86}

P-Selektin vermittelt die initiale Adhäsion der Thrombozyten an das Endothel im Rahmen der thrombozytären Hämostase.⁸⁷ Es dient außerdem als Rezeptor für Leukozyten und Monozyten. Es vermittelt die Adhäsion von Leukozyten und Monozyten an aktivierte Thrombozyten und trägt somit zur Thrombusentstehung bei.⁸⁸ Die Stabilität und Größe des thrombotischen Aggregats wird durch P-Selektin maßgeblich beeinflusst.⁸⁹

Weitere Membranbestandteile sind Glykoproteine wie Integrine (z.B. Integrin α IIb β 3, Integrin α 2 β 1), der Glykoprotein-Ib-IX-V-Komplex und GPVI.⁹⁰

Das Glykoprotein IIb/IIIa (Synonym: Integrin α IIb β 3) wird im aktivierten Zustand auf der Zellmembran exprimiert und kann Fibrinogen, von Willebrand Faktor, Fibronectin, Vitronectin und Thrombospondin binden: Glykoproteine, die an der Thrombozytenadhäsion und Thrombozytenaggregation beteiligt sind.^{91,92}

Der Glykoprotein-Ib-IX-V-Komplex, das Integrin α 2 β 1 sowie GPVI sind für die indirekte (über den von Willebrand Faktor) und direkte Bindung an das freigelegte Kollagen der subendothelialen Matrix verantwortlich.^{93,94,95}

Elektronendichte Granula (dense bodies)

Elektronendichte Granula machen nur 0,3-1,2% des thrombozytären Volumens aus. Sie enthalten vor allem Serotonin und Calcium, aber auch ATP, ADP, Magnesium, Epinephrin, Histamine und Polyphosphate.⁹⁶

Bei Thrombozytenaktivierung werden die elektronendichten Granula, wie auch die α -Granula, ausgeschüttet.

Serotonin wirkt vasokonstriktorisch und vermindert so den Blutfluss.⁹⁷ Calcium bindet an Phospholipide, die bei Thrombozytenaktivierung auf der Thrombozytenmembran exprimiert werden, und bewirkt dort eine Oberflächenveränderung, sodass Gerinnungsfaktoren andocken können. Außerdem spielt Calcium als

Kofaktor im Rahmen der plasmatischen Gerinnung eine wichtige Rolle. Beispielsweise benötigt der Prothrombinase-Komplex Calcium, um Thrombin von Prothrombin abzuspalten.^{98,99,100,101}

Lysosomen

Als dritte Form der Granula enthält der Thrombozyt Lysosomen. Die Funktion der thrombozytären Lysosomen ist weniger gut verstanden, als die der α -Granula und der elektronendichten Granula. Vermutet wird eine regulatorische Rolle in der Formung der Thrombozyten und der extrazellulären Matrix.^{102,103}

1.3.3 Thrombozytäre Hämostase

Ein primärer Auslöser für die Thrombozytenaktivierung ist die Freilegung extrazellulärer Matrixproteine durch Endothelschädigung. Im Blut zirkuliert der von Megakaryozyten und Endothelzellen synthetisierte von-Willebrand-Faktor.^{95,104}

Der von-Willebrand-Faktor ist ein multimeres Adhäsivprotein, das an freiliegende Matrixproteine, wie zum Beispiel Kollagen, bindet, und daraufhin die Struktur verändert, sodass Thrombozyten über ihn an die subendotheliale Matrix adhären können. Damit stellt er eine Brücke zwischen freiliegender subendothelialer Matrix und den Thrombozyten her.¹⁰⁵ Thrombozyten binden dabei über den Glykoprotein-Ib-IX-V-Komplex (primärer von-Willebrand-Rezeptor) auf der Thrombozytenmembran an die A1-Domäne des von-Willebrand-Faktors.¹⁰⁶

Diese erste Verbindung der Thrombozyten zum Endothel wird als Rolling bezeichnet. Sie ist noch reversibel und daher kurzweiliger, was zu einem Entlangrollen der Thrombozyten am Endothel führt.^{17,107} Nicht nur der von-Willebrand-Faktor kann diesen ersten Schritt der Thrombozytenadhäsion initiieren, sondern auch das Glykoprotein P-Selektin auf der Thrombozytenoberfläche.⁸⁷

Als nächste stabilisierende Interaktion der Thrombozyten mit dem Endothel dienen die thrombozytären Kollagenrezeptoren $\alpha 2\beta 1$ sowie GPVI. Diese Rezeptoren sorgen durch die direkte Bindung an Kollagen für eine Verfestigung der Bindung der Thrombozyten an die extrazelluläre Matrix.^{59,107,108,109}

Im Rahmen der Thrombozytenadhäsion kommt es zur Thrombozytenaktivierung. Sie wird durch die Bindung der Thrombozyten an das Kollagen über den GPVI-Rezeptor initialisiert.¹¹⁰ Es findet eine Kontraktion des thrombozytären Zytoskeletts statt sowie die Formänderung von Discozyten zu Echinosphärozyten mit Pseudopodienausbildung.^{111,112}

Das über die plasmatische Gerinnung entstehende Thrombin wirkt ebenfalls als starker Aktivator der Thrombozyten.^{74,113,114}

Thrombin hat eine Vielzahl von Substraten. Eines davon ist das, auch von aktivierten Thrombozyten freigesetzte, Fibrinogen. Thrombin spaltet von dem löslichen Fibrinogen die Fibrinopeptide A und B ab, wodurch das Fibrinogen polymerisieren kann und sich Fibrinmonomere bilden.¹¹⁵ Der ebenfalls durch Thrombin aktivierte Faktor XIII bildet kovalente Brücken zwischen den Fibrinmonomeren, Thrombozyten und der extrazellulären Matrix aus.^{116,117} Die aggregierten Thrombozyten werden dadurch verfestigt und es entsteht ein unlöslicher, stabiler Thrombus.¹¹⁸

1.3.4 Thrombozyten und das ACS

Thrombozyten sind dazu in der Lage, trotz der hohen Scherkräfte in arteriellen Gefäßen, an aktiviertes Endothel anzudocken.¹¹⁹ Sie sind daher an der Entstehung des akuten Koronarsyndroms maßgeblich beteiligt. Das Thrombozyten-Rolling entlang des aktivierten Endothels wird durch P-Selektin vermittelt.¹²⁰ Unter hohen Scherkräften spielt insbesondere auch die über den von-Willebrand-Faktor initiierte thrombozytäre Adhäsion eine wichtige Rolle. Auch unter hohen Flussgeschwindigkeiten ist eine Bindung des subendothelialen von-Willebrand-Faktors an das GP Ib α des GP Ib-IX-V-Rezeptorkomplexes der Thrombozyten noch möglich.^{77,103} Bei der Ruptur einer Plaque in den Koronararterien adhären Thrombozyten an die subendotheliale Matrix und führen so zu einer Gefäßokklusion.¹²⁰ Bei der Plaqueruptur werden prothrombotisch wirkende Substrate freigesetzt, die zum einen die Entstehung eines lokalen Thrombus induzieren und zum anderen durch thrombotisches Material Mikroembolien distal der Plaqueruptur hervorrufen können.¹²¹

Bei Beschädigung des Endothels durch inflammatorische Prozesse und Atherosklerose kommt es zu Thrombozytenadhäsion und Thrombozytenaktivierung. Diese Vorgänge finden bereits in früheren Stadien der Atherosklerose statt.¹²⁰ Die Folge davon ist eine systemische Plättchenaktivierung, die auch bei Patienten mit KHK nachgewiesen werden kann.¹²² Systemische Plättchenaktivierung ist wesentlich für die Thrombusentstehung von Bedeutung.¹²³

Systemische Thrombozytenaktivierung findet auch im Rahmen des ACS statt.¹⁷ Ebenso konnte während interventioneller Therapie im ACS mittels PTCA und Stent eine systemische Plättchenaktivierung festgestellt werden.^{124,125}

Systemische Plättchenaktivierung ist mit einer erhöhten Konzentration zirkulierender Mikropartikel im Blut assoziiert.¹²⁶ Aktivierte Thrombozyten schnüren kleine Bestandteile der thrombozytären Membran ab, die als thrombozytäre Mikropartikel bezeichnet werden.¹²⁷ Inzwischen ist bekannt, dass diese thrombozytären Mikropartikel mittels interzellulärer Signalvermittlung eine Interaktion zwischen Thrombozyten, Monozyten, Leukozyten und Endothelzellen bewirken.⁶⁵ Sie fördern deren Migration hin zu geschädigtem Gewebe und damit die inflammatorische Reaktion nach akutem Myokardinfarkt.⁶⁵

Thrombozyten sind jedoch nicht nur pathogenetisch beim ACS bedeutsam, sondern auch maßgeblich an Regenerationsprozessen beteiligt.

Thrombozyten adhärieren an geschädigte Gefäße und Gewebe und tragen zur Reparatur des Gewebsdefektes bei.¹²⁸ Sie regulieren Zellmigration, Proliferation und Angiogenese. Aktivierte Thrombozyten exprimieren eine Vielzahl von Mediatoren.¹²⁸ Dazu zählen Wachstumsfaktoren, wie PDGF A, B und C, IGF-1, VEGF, EGF, TGF β 1 und CTGF, sowie Zytokine und Chemokine. Auch pro-angiogenetische Mediatoren, wie Angiopoietin, SDF-1 und MMP werden von aktivierten Thrombozyten freigesetzt.¹²⁹ Diese Mediatoren induzieren und modulieren die Chemotaxis von Leukozyten und Makrophagen zum Gewebsdefekt hin, die Aktivierung von Fibroblasten sowie die Migration und Proliferation von weiteren Zellen, die an der Geweberegeneration beteiligt sind, wie glatte Muskelzellen und mesenchymale Stammzellen.¹²⁹

Autologes Plättchen-reiches-Plasma (PRP) kann nachweislich die Angiogenese und Regeneration von Gewebe durch zelluläre Signalvermittlung fördern. In Tierversuchen konnte beobachtet werden, dass die Injektion von PRP in ischämisches Myokard zu einer Verbesserung der kardialen Funktion und einer Reduktion der Infarktgröße führt.¹³⁰

Da Thrombozyten in der KHK und dem ACS nicht nur pathogenetisch von Bedeutung sind, sondern auch regenerative Prozesse regulieren, besteht die Hoffnung über diese Mechanismen Heilungsprozesse in kardiovaskulären Erkrankungen zukünftig beeinflussen zu können.

1.3.5 Thrombozytenaggregationhemmer in der Therapie der KHK

Die Thrombozytenaggregation und Thrombozytenaktivierung sind wichtige pathophysiologische Mechanismen des akuten Koronarsyndroms. Durch den Thrombus kann es entweder zu einem vollständigen Verschluss auf Höhe der Plaqueruptur oder aber zu Mikroembolien distal der Plaqueruptur kommen.⁵⁹

Verschiedene medikamentöse Therapien setzen hier an: J. R. Vane beschrieb 1971 als erster die Mechanismen, mit denen Aspirin eine Hemmung der Thrombozytenaggregation bewirkt. Er zeigte, dass Aspirin eine irreversible Enzymhemmung der Cyclooxygenase bewirkt. Es wurden zwei Formen der Cyclooxygenase identifiziert: COX-1 und COX-2. In weiterführenden Experimenten fand man heraus, dass Aspirin eine irreversible Hemmung der COX-1 bewirkt und damit die Thromboxan A₂- Bildung vermindert wird.^{131,132}

Thromboxan A₂ wird im Rahmen der Thrombozytenaktivierung freigesetzt. Durch Thrombozytenaktivierung steigt die intrazelluläre, thrombozytäre Calciumkonzentration.¹³³ Dies führt zu einer vermehrten Bildung von Arachidonsäure in den Thrombozyten.¹³⁴ Arachidonsäure wird über die Cyclooxygenase-1 direkt zu Thromboxan A₂ umgewandelt, welches wiederum durch den aktivierten Thrombozyten an die Umgebung abgegeben wird.¹³⁵ Durch Vasokonstriktion und Aktivierung weiterer Thrombozyten bewirkt Thromboxan A₂ eine Verfestigung des Thrombus.¹⁷

Die Cyclooxygenase ist der Angriffspunkt der zur pharmakologischen Therapie des ACS verwendeten Acetylsalicylsäure (ASS). Durch irreversible Inhibition der Cyclooxygenase wird die Synthese von Thromboxan A₂ verhindert und somit dessen vasokonstriktorische und prothrombotische Wirkung gehemmt.¹³⁶

Einen weiteren medikamentösen Ansatz zur Behandlung des akuten Koronarsyndroms bilden ADP-Rezeptor-Inhibitoren, die zusammen mit ASS zur dualen Plättchenhemmung nach ACS und PTCA mit Stent zum Einsatz kommen.¹³⁷

ADP wird sowohl aus den elektronendichten Granula der Thrombozyten in hoher Konzentration freigesetzt als auch von geschädigten Endothelzellen und Erythrozyten abgegeben.¹³⁸ ADP bindet an den P₂Y₁₂-Rezeptor auf der thrombozytären Membran und fördert dort über G_i-Proteine die Freisetzung sekretorischer Granula, eine weitere Thrombozytenaktivierung sowie die Interaktion der Thrombozyten mit Fibrinogen.¹⁰⁷ Hier greifen ADP-Rezeptor-Inhibitoren, wie Clopidogrel, Ticagrelor und Prasugrel, an. Der P₂Y₁₂-Rezeptor wird blockiert, wodurch sowohl die weitere Thrombozytenaktivierung inhibiert wird als auch die Sekretion der Granula.^{107,139}

Mittels der dualen Plättchenhemmung mit Aspirin und Clopidogrel kann das Risiko rezidivierender Stenosen im Sinne von In-Stent-Stenosen nach perkutaner Koronarangiographie auf unter 1% reduziert werden.^{140,141} Unter anderem wurde nachgewiesen, dass das Risiko einer In-Stent-Stenose innerhalb von 30 Tagen nach koronarer Intervention von 3,4% unter einer Monotherapie mit Aspirin auf 0,5% unter Therapie mit dualer Plättchenhemmung gesenkt werden kann.¹⁴²

Diese medikamentösen Therapieansätze greifen bisher nur in die pathogenetische Funktion der Thrombozyten bezüglich der Thrombusentstehung ein. Die regenerative Funktion der Thrombozyten pharmakologisch beeinflussen zu können, bietet eine weitere vielversprechende Möglichkeit der medikamentösen Therapie nach Myokardinfarkt.

1.4 Die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse

1.4.1 Struktur und allgemeine Funktionen von Chemokinen

Chemokine sind niedermolekulare Proteine, die als Mediatoren die Migration von Zellen steuern.^{143,144} Chemokine bilden die größte Gruppe der Zytokine.¹⁴⁵ Insgesamt wurden bisher 127 verschiedene Chemokine und 70 verschiedene Chemokinrezeptoren anhand der Gene von 7 Spezies identifiziert.¹⁴⁶

Es sind über 40 Chemokine beim Menschen bekannt.¹⁴⁷

Chemokine binden an G-Protein-gekoppelte Rezeptoren (GPCR), die über intrazelluläre Signalwege Zellaktivierung und Zellmigration in Gang setzen.¹⁴⁴ Die meisten Chemokinrezeptoren gehören zur Klasse A der GPCRs und weisen den für G-Proteine typischen Aufbau aus sieben Transmembrandomänen mit α -Helix auf.¹⁴⁸

Es wurde eine weitere Art der Signaltransduktion festgestellt, die auf mit der Zelloberfläche oder extrazellulären Matrix assoziierten Glycosaminoglycanen beruht.¹⁴⁹

Einige Chemokinrezeptoren können mit nur einem Liganden kooperieren, während andere eine Vielzahl von Chemokinliganden binden können.¹⁵⁰

Neben ihrer Rolle in der Zellmigration, spielen Chemokine auch eine Rolle in der Inflammation, Angiogenese, Hämatopoese und Regeneration durch Stammzellmigration.^{151,152}

Aufgrund ihrer biochemischen Struktur werden Chemokine in vier Subfamilien unterteilt: CXC, CC, CX3C und C.¹⁵³ Die Einteilung basiert auf den unterschiedlichen Sequenzen der ersten zwei von vier Cysteinresten.¹⁵³

Die erste Gruppe bilden die α -Chemokine, auch CXC-Chemokine genannt. Hier befindet sich zwischen den ersten beiden Cysteinresten eine beliebige andere Aminosäure.¹⁴⁵

Bei den β -Chemokinen, oder CC-Chemokinen, sind die ersten beiden Cysteinreste direkt nebeneinander gelagert.¹⁴⁵ Bei γ -Chemokinen oder CX3C-Chemokinen sind drei beliebige Aminosäuren zwischen den ersten beiden Cysteinresten

positioniert.¹⁴⁵ Die vierte Subfamilie, die C-Chemokine oder δ -Chemokine, besitzen nur zwei der vier Cysteinreste an der bekannten Stelle.¹⁴⁵ Je nachdem, ob es sich um einen Chemokinliganden oder einen Chemokinrezeptor handelt, wird ein L oder ein R an die Bezeichnung der Subfamilie angehängt (z.B. CXCL, CXCR).¹⁴⁵

Die häufigsten Vertreter der Chemokine sind α - und β -Chemokine.¹⁴³ Die Chemokine, die für diese Arbeit eine Rolle gespielt haben, gehören zur Familie der α -Chemokine.

1.4.2 SDF-1 α

SDF-1 α ist ein hoch konserviertes Chemokin und gehört zur Gruppe der α -Chemokine. Es wird daher auch als „CXCL12“ bezeichnet.^{154,155} Es wurde initial aus der Stromazelllinie des Knochenmarks von Mäusen isoliert und als wachstumsfördernder Faktor von B-Lymphozyten beschrieben.¹⁵⁶ Daher wurde es „stromal-cell-derived-factor“ (SDF) genannt. Es sind 6 verschiedene Isoformen von SDF-1 bekannt: SDF-1 α , SDF-1 β , SDF-1 γ , SDF-1 δ , SDF-1 ϵ und SDF-1 ϕ . SDF-1 α ist die häufigste Isoform.¹⁵⁷ Im fortlaufenden Text ist mit der Bezeichnung SDF-1 stets SDF-1 α gemeint. SDF-1 wird von vielen verschiedenen Zelltypen, wie beispielsweise Knochenmarksstammzellen, Endothelzellen und Hepatozyten, exprimiert.^{45,158,159,160,161,162} Es bindet an die Chemokinrezeptoren CXCR4 und CXCR7.¹⁶³ SDF-1 wird zum einen auf der zellulären Oberfläche exprimiert, kommt aber zum anderen auch in plasmatisch gelöster Form vor.^{164,165}

SDF-1 spielt eine Rolle in der Zellmigration, Proliferation, Neovaskularisation, Apoptose und in organspezifischen Aufgaben, wie der Neuromodulation.^{166,167,168} Die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse ist unter anderem auch für die Stammzellproliferation und das Überleben der Stammzellen wichtig.¹⁶⁹ SDF-1-defiziente Mäuse verstarben durchschnittlich am 15-18 Tag der Schwangerschaft. Sie wiesen Defekte der großen Gefäße, der kardialen Entwicklung, des Nervensystems, der B-Zell-Lymphopoese und der Myelopoese im Knochenmark auf.^{170,171}

Es konnte ein Einfluss von SDF-1 auf die Stammzelladhäsion an das Endothel nachgewiesen werden. Endothelial exprimiertes SDF-1 fördert die integrinvermittelte Zelladhäsion von CD34+-Knochenmarksstammzellen an das Endothel.¹⁷² SDF-1 ist an der Pathogenese von HIV-Infektionen, benignen Neoplasien, der Metastasierung von Tumoren und chronischen Entzündungen beteiligt.¹⁶⁸ Kardiovaskulär konnte festgestellt werden, dass SDF-1 in Zusammenhang mit Regenerationsvorgängen nach akutem Myokardinfarkt steht. Geschädigte Kardiomyozyten exprimieren nach Myokardinfarkt vermehrt den SDF-1-Rezeptor CXCR4 auf ihrer Oberfläche.¹⁷³ Mesenchymale Stammzellen wiederum exprimieren SDF-1 und es besteht daher die Theorie, dass mesenchymale Stammzellen durch Rezeptorbindung an CXCR4 zu dem geschädigten Gewebe migrieren und so dessen Regeneration fördern können.¹⁷³ Es konnte ein protektiver Effekt der SDF-1-CXCR4-Achse auf Kardiomyozyten bei hypoxischer Schädigung nachgewiesen werden. Es zeigte sich in-vitro, dass Kardiomyozyten, die mit SDF-1 vorbehandelt waren, widerstandsfähiger gegenüber Hypoxie waren. In der gleichen Studie konnte in-vivo festgestellt werden, dass die Verabreichung von SDF-1 30 Minuten vor Myokardinfarkt bei Mäusen zu einer Reduktion der Infarktgröße führte.¹⁷⁴ Es ist inzwischen bekannt, dass die SDF-1-Expression in hypoxischen Geweben durch HIF-1 α (hypoxia-induced-factor 1 α) hochreguliert wird.¹⁷⁵ Auch Thrombozyten stehen in Zusammenhang mit der SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse. Thrombozyten exprimieren sowohl SDF-1 als auch dessen Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 auf ihrer Oberfläche.^{176,177} Aktivierte Thrombozyten exprimieren SDF-1 und geben es an ihre Umgebung ab.¹⁷⁸ Es konnte festgestellt werden, dass thrombozytäres SDF-1 eine Rolle in der Mobilisierung endothelialer Progenitorzellen als Reaktion auf Gefäßverletzungen spielt.¹⁷⁸ Die thrombozytäre SDF-1-Expression ist bei Patienten mit ACS erhöht.¹⁶⁵ 2012 konnte in einer Patientenstudie nachgewiesen werden, dass eine erhöhte thrombozytäre SDF-1-Expression nach akutem Myokardinfarkt mit einer Erholung der LV-Funktion und einer Reduktion der Infarktgröße assoziiert ist.¹⁷⁹

1.4.3 CXCR4

CXCR4 zählt ebenfalls zu den α -Chemokinrezeptoren und wurde bereits 1993 von Federspiel et al. als „HUMSTR“ beschrieben.¹⁸⁰ Eine weitere Forschungsgruppe identifizierte den Rezeptor 1994 und bezeichnete ihn als „LESTR“.^{181,182} 1995 wurde CXCR4 im Rahmen der HIV-Forschung beschrieben. Man fand heraus, dass es sich um einen G-Protein gekoppelten Rezeptor mit sieben Transmembrandomänen handelt. Da seine einzige bekannte Funktion darin bestand CD4-exprimierenden Zellen die Erlaubnis für die HIV-1 Fusion zu geben, wurde es „Fusin“ genannt.¹⁸³ 1996 wurde entdeckt, dass SDF-1 (CXCL12) ein natürlicher Ligand des bisher als „Fusin“ bekannten Rezeptors ist, woraufhin der Rezeptor in CXCR4 umbenannt wurde.¹⁸³

Lange wurde vermutet, dass es sich bei der CXCR4-SDF-1-Verbindung um eine monogame Bindung handelt.¹⁶³ Diese These wurde widerlegt und inzwischen ist bekannt, dass CXCR4 mit MIF (Macrophage Migration Inhibition Factor) einen weiteren Liganden, und SDF-1 mit CXCR7 einen weiteren Rezeptor, besitzt.^{184,185} CXCR4 und SDF-1 spielen eine wichtige Rolle in der Embryogenese, Organogenese, Hämatopoese und Vaskularisation.¹⁸⁶ CXCR4-defiziente Mäuse verstarben perinatal und wiesen Defekte der Hämatopoese und des Nervensystems auf.¹⁸⁷ Die B-Zell-Lymphopoese und Myelopoese der fetalen Leber und des fetalen Knochenmarks waren deutlich reduziert.¹⁸⁷

CXCR4 wird von einer Vielzahl von Organen exprimiert. Dazu zählen unter anderem Endothelzellen, Knochenmarkstammzellen, Thrombozyten, Darmepithelzellen, Alveolarepithel, Zellen des Immunsystems und Zellen des zentralen Nervensystems.^{9,188,189,190,191,192}

CXCR4 spielt pathogenetisch eine Rolle in der Entstehung, dem Wachstum und der Migration von Tumoren, wie zum Beispiel dem Mammakarzinom, Magenkarzinom und der myeloischen Leukämie. Es ist essentiell für die Metastasierung von Tumoren in andere Organe.^{193,194,195}

Die zelluläre Oberflächenexpression von CXCR4 ist jedoch auch an regenerativen Regulationsmechanismen beteiligt. Die CXCR4-SDF-1-Achse beeinflusst

das Homing von Stammzellen und Progenitorzellen im Knochenmark und deren Mobilisation ins Blut und Gewebe.¹⁸⁴

Unter hypoxischen Bedingung konnte eine Hochregulation der Oberflächenexpression von CXCR4 in mesenchymalen Stammzellen, Tumorgewebe, Monozyten und Endothelzellen nachgewiesen werden.^{196,197,198,199,200} Es besteht die Vermutung, dass unter ischämischen Bedingung durch HIF-1 α und CXCR4 die Zellmigration in hypoxisches Gewebe reguliert wird.¹⁸⁴

Die Expression von CXCR4 durch c-kit-positive Stammzellen und endotheliale Progenitorzellen fördert die Migration und das Homing dieser Stammzellen zu Gewebsdefekten hin.^{196,201,202} Kardiale Stammzellen sind c-kit-positive Zellen, die sich hauptsächlich im Atrium und der kardialen Apex befinden.²⁰³ Sie können zu Gewebsverletzungen migrieren und sich dort zu Kardiomyozyten, Endothelzellen, Fibroblasten oder glatten Muskelzellen differenzieren.^{168,204}

In Tierexperimenten konnte ein Einfluss der zellulären Oberflächenexpression von CXCR4 auf die kardiale Funktion und Regeneration bei Herzinsuffizienz und Myokardinfarkt nachgewiesen werden. Unter anderem konnte bei Tieren, deren Kardiomyozyten CXCR4 auf der Oberfläche exprimierten, im Vergleich zu Tieren, bei denen eine Deletion von CXCR4 auf Kardiomyozyten durchgeführt wurde, eine Verbesserung der kardialen Funktion nach Myokardinfarkt beobachtet werden.^{205,206}

In einer klinischen Studie mit Patienten mit symptomatischer KHK wiesen diese gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe eine vermehrte thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 auf.¹⁷⁷ Eine reduzierte thrombozytäre CXCR4-Oberflächenexpression bei Patienten mit symptomatischer KHK war in dieser Studie mit einer erhöhten 12-Monats-Mortalität assoziiert.¹⁷⁷

1.4.4 CXCR7

CXCR7 ist ein hoch konservierter Chemokinrezeptor und zählt zur Gruppe der α -Chemokine.²⁰⁷ Identifiziert wurde er, als man bei CXCR4-defizienten Mäusen herausfand, dass SDF-1 trotz fehlendem CXCR4-Rezeptor von den Zellen gebunden wird.^{171,208} Der dafür verantwortliche Rezeptor stellte sich als der zuvor als

„RDC-1“ bekannte Rezeptor heraus und wurde nach dieser Entdeckung in „CXCR7“ umbenannt.^{171,185}

Über RDC-1 war aus vorherigen Studien bereits bekannt, dass dieser Adrenomedullin und andere Calcitonin-gene-related-peptides (CGRP) bindet.²⁰⁹ Adrenomedullin und andere CGRP übernehmen unter anderem vasodilatatorische Funktionen und wirken hypotensiv.^{210,211}

CXCR7 ist kein typischer G-Protein-gekoppelter Rezeptor. Die Ligandenbindung bewirkt keinen Anstieg der intrazellulären Calciumkonzentration.¹⁸⁵ CXCR7 vermittelt seine Funktion über die β -Arrestin-abhängige Aktivierung des Akt- und MAP-Kinase-Signalwegs sowie über JAK/STAT3-Signalkaskaden.^{163,212} CXCR7 bindet SDF-1 mit einer höheren Affinität als CXCR4 und wirkt als Scavenger-Rezeptor mittels Internalisierung von SDF-1 nach Ligandenbindung.^{171,185,213} Die Scavenger-Aktivität von CXCR7 lässt vermuten, dass dieser auch eine modulierende Funktion in der Signalvermittlung durch SDF-1 einnimmt.²¹³

CXCR7 kann die Aktivität von CXCR4 mittels Heterodimerisierung modulieren und regulieren.^{213,214} Die Rezeptorbindung von SDF-1 induziert zum einen die Ausbildung von CXCR4- oder CXCR7-Homodimeren und zum anderen die Bildung von Heterodimeren zwischen CXCR7 und CXCR4.²¹⁵ CXCR4-Homodimere vermitteln ihre Funktion vorwiegend über den GPCR-Signalweg, während CXCR4-CXCR7-Heterodimere über β -Arrestin-abhängige Signalwege wirken.²¹⁶ CXCR7 wird unter anderem auf der Oberfläche von Endothelzellen, glatten Muskelzellen, fetalen Hepatozyten, Thrombozyten, der Plazenta, Gehirn, Herz, Nieren, Milz, Thymus und mehreren Tumorzelllinien exprimiert.^{162,171,185,217,218,219}

CXCR7 beeinflusst die Regulation des Zellüberlebens und der Zelladhäsion.¹⁷¹ Der Rezeptor nimmt eine modulatorische Rolle in Entzündungsprozessen der Gefäße ein und ist an der Regulation von Immunantwort und Gewebsregeneration beteiligt.⁸²

In hypoxischem Tumorgewebe und in mesenchymalen Stammzellen unter hypoxischen Bedingungen konnte eine Hochregulation der zellulären Oberflächenexpression von CXCR7 nachgewiesen werden.^{220,221} Die endotheliale Oberflächenexpression von CXCR7 in hypoxischem Lungengewebe fördert die Endothelzellregeneration und Proliferation.²²²

Im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen konnte nachgewiesen werden, dass die endotheliale Oberflächenexpression von CXCR7 wichtig für die vaskuläre Homöostase und das kardiale Remodeling nach Myokardinfarkt ist.²²³ Die Deletion von endotheliale CXCR7 führte im Tierversuch zu einer Beeinträchtigung der kardialen Funktion und des kardialen Remodelings nach Myokardinfarkt.²²³

Auch Thrombozyten sind an den Regenerationsprozessen mittels der SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse beteiligt. Am Tiermodell konnte nachgewiesen werden, dass aktivierte Thrombozyten nach Pneumektomie vermehrt SDF-1 exprimieren und so die endotheliale Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 stimulieren. In derselben Studie zeigte sich, dass die Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 auf pulmonalen Kapillarendothelzellen die Alveologese und Regeneration des Lungengewebes fördert.²²⁴

Bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom konnte nachgewiesen werden, dass die CXCR7-Oberflächenexpression auf Thrombozyten gegenüber Patienten mit stabiler KHK erhöht ist. Es konnte eine Assoziation zwischen der thrombozytären CXCR7-Oberflächenexpression und der Erholung der LV-Funktion bei Patienten 5 Tage nach sowie 3 Monate nach ACS festgestellt werden.²¹⁷

2 Ziele

Die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse nimmt Einfluss auf die Stammzellmigration, Proliferation und Differenzierung.^{166,167,168,202,225} SDF-1 und dessen Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 beeinflussen Entzündungsreaktionen, Immunreaktionen und Reparaturmechanismen nach Gewebsschädigungen und könnten daher auch eine wichtige Funktion in der kardialen Regeneration nach Myokardinfarkt einnehmen.⁸²

Thrombozyten spielen im Rahmen des akuten Myokardinfarkts eine wichtige Rolle und sind sowohl an Inflammation als auch an Regeneration beteiligt.^{65,130}

Im akuten Myokardinfarkt sammeln Thrombozyten sich am Areal der Läsion und könnten daher über deren regenerative Eigenschaften die LV-Funktion sowie die Infarktgröße signifikant beeinflussen.

Rath et. al haben 2014 gezeigt, dass eine erhöhte thrombozytäre CXCR7-Oberflächenexpression mit einer Erholung der LV-Funktion nach ACS assoziiert ist.²¹⁷

Eine reduzierte thrombozytäre CXCR4-Oberflächenexpression steht in Zusammenhang mit einer erhöhten 12-Monats-Mortalität bei Patienten mit KHK.¹⁷⁷

Die thrombozytäre Oberflächenexpression der beiden SDF-1-Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 nach akutem Myokardinfarkt ist Bestandteil gegenwärtiger Forschungen. Ziel dieser Studie ist es, die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 akut nach STEMI sowie 6 Monate nach STEMI zu untersuchen.

In dieser Arbeit wurde die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 24 Stunden, 48 Stunden und 6 Monate nach STEMI gemessen und analysiert.

Zusätzlich wurde während der Hospitalisierungsphase sowie 6 Monate nach STEMI mittels transthorakaler Echokardiographie sowie Magnetresonanztomographie die LV-Funktion, die Infarktgröße und die Größe des myokardialen Ödems bestimmt.

Die Studie untersucht die folgenden Fragestellungen:

- Einfluss der thrombozytären CXCR4- und CXCR7-Oberflächen-expression auf die Größe der Infarkt Narbe sowie das myokardiale Ödem nach STEMI
- Einfluss der thrombozytären CXCR4- und CXCR7-Oberflächen-expression auf die myokardiale Regeneration anhand der LV-Funktion nach STEMI
- Veränderung der thrombozytären CXCR4- und CXCR7-Oberflächen-expression nach STEMI im 6-monatigen Verlauf und Einfluss der Expressionsveränderung auf LV-Funktion und Größe der Infarkt Narbe

3 Material und Methoden

Patientenkollektiv

Von Februar 2014 bis März 2016 untersuchten wir ein Patientenkollektiv, welches akut mit der Diagnose „STEMI“ in die Medizinische Klinik des Universitätsklinikums Tübingen eingeliefert wurde. Die Diagnosekriterien des STEMI werden in der Einleitung dieser Doktorarbeit erläutert.

Insgesamt konnten 87 Patienten rekrutiert werden. Die Patienten wurden über den wissenschaftlichen Hintergrund der Studie aufgeklärt, es wurde betont, dass die Teilnahme an der Studie freiwillig ist und für den Patienten selbst keine therapeutischen Vorteile mit sich bringt.

Zwecks der Messung der thrombozytären Oberflächenexpression der Chemokinrezeptoren erfolgten Blutentnahmen zu verschiedenen Zeitpunkten nach STEMI. Zur Beurteilung der kardialen Funktion erhielten die Patienten eine Kardio-MRT-Untersuchung während der Hospitalisierungsphase und 6 Monate nach STEMI. Die Patienten wurden über mögliche Risiken der Blutentnahme, die Risiken der Kardio-MRT informiert.

Die Studie wurde durch das klinische Ethikkomitee bewilligt (270/2011BO1) und erfüllt die Prinzipien der Deklaration von Helsinki.²²⁶ Sie wurde nach den Leitlinien für gute klinische Praxis durchgeführt.²²⁷

Messung der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7

Die Messung der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 erfolgte 24 Stunden nach STEMI (folgend auch als „Tag 1“ bezeichnet), 48 Stunden nach STEMI (folgend auch als „Tag 2“ bezeichnet), sowie 6 Monate nach STEMI (folgend als „Follow-up“ bezeichnet). In mehreren Studien konnte bereits nachgewiesen werden, dass es akut nach Myokardinfarkt zu einer Hochregulation der SDF-1-alpha-CXCR4-CXCR7-Achse kommt.^{174,228,229} Um die zeitlichen Verläufe der thrombozytären Oberflächenexpression der beiden

Chemokinrezeptoren zu untersuchen, erfolgten die Messungen zu den drei verschiedenen Messzeitpunkten

Die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 konnte dabei 24 Stunden nach STEMI bei 65 Patienten gemessen werden, 48 Stunden nach STEMI bei 52 Patienten und 6 Monate nach STEMI bei 26 Patienten (CXCR4: 24h = 65, 48h = 52, 6 Monate: 26). Die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR7 konnte 24 Stunden nach STEMI bei 67 Patienten, 48 Stunden nach STEMI bei 53 Patienten und 6 Monate nach STEMI bei 27 Patienten bestimmt werden (CXCR7: 24h = 67, 48h = 53, 6 Monate = 27).

Es wurden die folgenden Arbeitsschritte durchgeführt:

Am ersten Tag nach STEMI wurde den Patienten standardmäßig 60 ml Blut aus der V. mediana cubiti oder der V. cephalica entnommen. Die Blutentnahme erfolgte mittels Butterfly-Kanüle und wurde in drei 20 ml Spritzen abgenommen. Anschließend wurden 8,5 ml des entnommenen Vollblutes vorsichtig in eine Monovette gefüllt, die eine Citrat-Phosphat-Dextrose-Lösung mit Adenin enthielt (CPDA-Monovette). Die verbleibenden 52 ml Vollblut wurden in 5 EDTA-Monovetten (3 große EDTA-Monovetten, 2 kleine EDTA-Monovetten) und 3 Serum-Monovetten gefüllt und zur Aufbewahrung in der Biobank eingefroren.

Am zweiten Tag nach STEMI sowie 6 Monate nach STEMI erfolgte nur noch die Entnahme von 8,5 ml Blut in die CPDA-Monovette.

Das folgende Messprotokoll wurde zu jedem Messzeitpunkt der Studie durchgeführt:

Aus der CPDA-Monovette wurden sofort nach Abnahme vorsichtig 20 µl Vollblut entnommen und in einen Eppendorf-Cup gegeben. Das Vollblut wurde mit 980 µl PBS ohne Ca^{2+} (Hanks' Balanced Salt Solution, Sigma) 1:50 verdünnt. Anschließend wurden je 35 µl des verdünnten Vollblutes in vier FACS-Röhrchen gegeben. Alle Proben wurden zusätzlich mit 5 µl DPBS ohne Ca^{2+} (um eine Aktivierung der Thrombozyten durch Calcium zu verhindern) sowie dem Thrombozytenmarker CD42b FITC (Analyte Specific Reagent, Beckman Coulter) versetzt. CD42b ist ein monoklonaler Antikörper gegen das Glykoprotein Ib (anti-Gp-Ib) auf der Thrombozytenoberfläche. Glykoprotein Ib ist in der Kombination mit

Glykoprotein IX und Glykoprotein V als Glykoprotein-Ib-IX-V Komplex für die Bindung des von-Willebrand-Faktors zuständig. Es wird daher permanent auf der Thrombozytenoberfläche exprimiert und eignet sich zur Identifizierung dieser.^{230,231} Der CD42b-Antikörper ist an einen fluoreszierenden Farbstoff (FITC) gekoppelt, wodurch eine Analyse mittels FACS-Analyse ermöglicht wird.

Um den Messfehler zu minimieren, wurden stets zwei Messungen für die thrombozytäre Oberflächenexpression jedes Chemokinrezeptors durchgeführt und anschließend der Mittelwert beider Messungen zur weiteren Analyse verwendet. Zur Messung der thrombozytären CXCR4-Oberflächenexpression wurden 5 µl anti-hCXCR4 (Phycoerythrin Conjugated, Monoclonal Mouse IgG_{2A}, R&D Systems) zu den beiden Proben hinzugegeben.

Zu den zwei Proben zur Messung der thrombozytären CXCR7-Oberflächenexpression wurden zusätzlich 5 µl anti-hCXCR7/RDC-1 (Phycoerythrin Conjugated, Mouse IgG_{2A}, R&D Systems) addiert.

Anschließend wurden die Proben lichtdicht abgedeckt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

Nach 30-minütiger Inkubation wurden die Proben durch Zugabe von Paraformaldehyd in 0,5-%iger Konzentration (PFA 0,5%) fixiert.

Im Anschluss erfolgte die Analyse der Messungen durch FACS-Messung (Modell: BD FACSCalibur™ Flow Cytometer, Becton-Dickinson and Company, Heidelberg, Deutschland).

FACS (Fluorescence activated cell sorting)-Analyse

Die FACS-Analyse wurde 1960 durch Bonner et al. entwickelt und wird seither genutzt, um lebende Zellen zu sortieren und zu zählen.²³² Dabei werden die benötigten Zellen, in dieser Studie Thrombozyten, mit einem Antikörper markiert, an den ein fluoreszierender Farbstoff gebunden ist (in dieser Studie CD42b FITC, anti-hCXCR4 und anti-hCXCR7/RDC-1).²³² Anschließend können die Zellen anhand der fluoreszierenden Farbstoffe gezählt und sortiert werden.²³³ Dazu werden sie durch hydrodynamische Fokussierung durch eine schmale Messkammer geführt.²³⁴ Dort werden die Zellen mit einem Laser angestrahlt, wobei jeder Zelltyp durch den spezifischen fluoreszierenden Farbstoff, der durch den Antikörper an die Zelle gebunden ist, charakteristisches Streulicht abgibt (Abbildung 4).^{234,235} Das abgegebene Licht wird von einem Detektor gemessen.²³⁴ Innerhalb kurzer Zeit (wenige Sekunden) können so mehrere Tausend Zellen gemessen werden.²³⁶

In dieser Studie konnte anhand der oben genannten Antikörper mittels FACS-Analyse die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 als mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) bestimmt werden. Es wurden 10.000 Events pro Sekunde gemessen. Vor jeder Messung wurde eine Kalibrierung des Geräts durchgeführt.

Übersicht über die Durchflusszytometrie

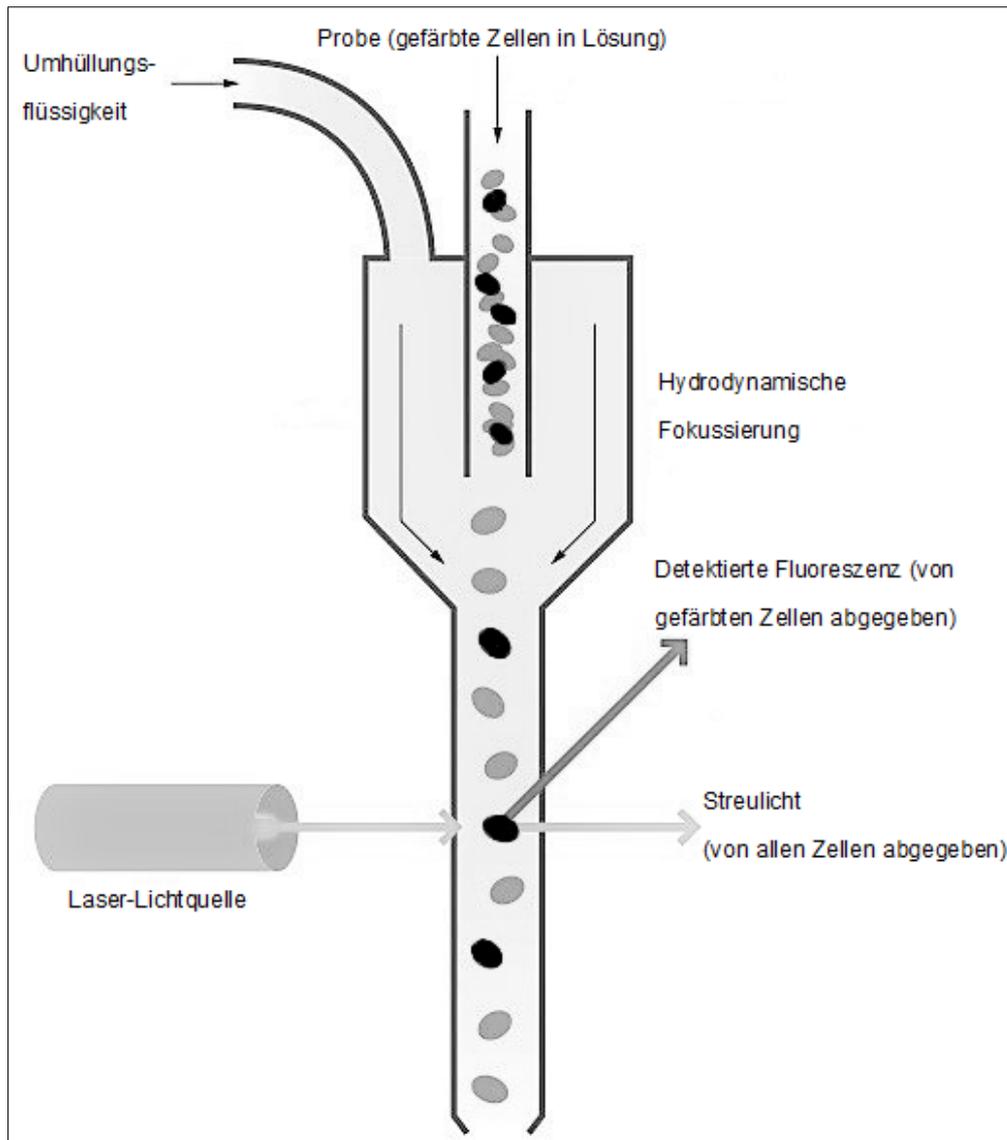


Abbildung 4: Übersicht über die Durchflusszytometrie. Modifiziert nach: „Introduction to flow cytometry.“ Figure 1. “Overview of the flow cytometer.” <http://abcam.com/protocols/introduction-to-flow-cytometry>. Zitiert: 04.01.2017.

Kardio-MRT zur Beurteilung der LV-Funktion, des myokardialen Ödems sowie der Infarktgröße

Mithilfe der Kardio-MRT bestimmten wir die LV-Funktion, das myokardiale Ödem sowie die Infarktgröße nach STEMI. In der Hospitalisierungsphase konnten an 55 Patienten eine Kardio-MRT durchgeführt werden und 6 Monate nach STEMI an 34 Patienten (Hospitalisierungsphase = 55, 6 Monate = 34). Ergänzend zu den magnetresonanztomographischen Daten wurden echokardiographisch und laevokardiographisch erhobene Daten zur Bestimmung der LV-Funktion hinzugezogen.

Als MRT-Gerät wurde ein 1.5 T Magnetom Avanto benutzt. Zur Patientenvorbereitung und Feststellung etwaiger Kontraindikationen erfolgte ein ausführliches Aufklärungsgespräch mit dem zuständigen Radiologen. Die durchschnittliche Untersuchungszeit betrug 30-45 Minuten.

Während der MR-Messungen erfolgte ein Monitoring mittels EKG.

LV-Funktion:

Zur Bestimmung der LV-Funktion wurde die dynamische cine-Technik mit Steady-State-Free-Precession-Sequenz und elektrokardiographischer Triggerrung verwendet. Die Bestimmung der LV-Funktion mittels MRT ist aktuell eine sehr genaue Methode zur Messung der LV-Funktion.²³⁷ Der Herzzyklus wurde abhängig von Rhythmus und Frequenz in durchschnittlich 25 Phasen gesplittet. Um die Bildqualität zu verbessern, wurden die Patienten gebeten am Ende der Expiration den Atem anzuhalten. Die Bilder wurden als Längsachsen- und Kurzachsenschnitt aufgenommen.

Tabelle 1 *Typische Bildparameter bei der Bestimmung der LV-Funktion im CMR*

Wiederholungszeit (TR)	32 ms
Schichtdicke	5 mm
Echozeit (TE)	1,2 ms
Gap	5 mm
Matrix	144 x 192
Phasen pro Herzzyklus	25
Zeitliche Auflösung	260-485 ms, abhängig von der Herzfrequenz

Zur Auswertung der MR-Bilder wurde als Programm die CVI42 Version 5 (Circle Cardiovascular Imaging, Calgary AB, Canada) benutzt. Im kardialen Längsschnitt bestimmten wir die basalste Schicht als die Schicht, die apikal der Mitralklappe auftrat. Im Kurzachsenschnitt wurde die Enddiastole definiert als Phase nach der R-Triggerung (Abbildung 5).

Die Endsystole wurde als erste Phase vor Beginn der erneuten Relaxation bestimmt. Anschließend wurden die Konturen unter Inklusion der Papillarmuskeln nachgezeichnet und die linksventrikulären diastolischen und systolischen Volumina in ml bestimmt (Abbildung 5).

Die EF und das SV wurden in Folge mit der folgenden Formel berechnet:

$$SV = EDV - ESV \text{ (ml)}$$

$$EF = (SV/EDV) \times 100\%.^{238}$$

Durch die oben genannte Formel wird dabei zunächst das Schlagvolumen (SV) aus der Differenz zwischen enddiastolischem (EDV) und endsystolischem Volumen (ESV) errechnet. Die Ejektionsfraktion (EF) wird anschließend aus dem Quotienten Schlagvolumen/ Enddiastolisches Volumen (SV/EDV) in Prozent bestimmt.

Die Bestimmung der LV-Funktion mittels kardialer MRT liefert ebenso genaue und reproduzierbare Werte wie die Laevokardiographie und ist Goldstandard der nicht-invasiven Messung der LV-Funktion.^{238,239,240,241}

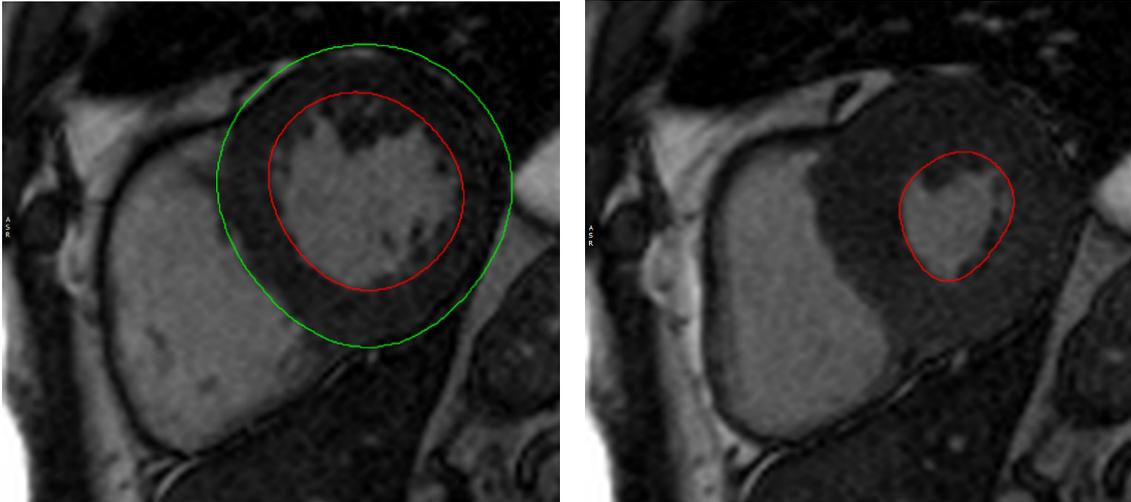


Abbildung 5: Kurzachsenschnitt (CMR) des linken Ventrikels in Enddiastole und Endsystole zur Bestimmung des SV und der LVEF. Links: KA in Enddiastole. Grün umrandet: Epikard zur Bestimmung der Myokardmasse, rot umrandet: Endokard zur Bestimmung des linksventrikulären, enddiastolischen Volumens. Rechts: KA in Endsystole. Rot umrandet: Endokard zur Bestimmung des linksventrikulären, endsystolischen Volumens.

Late Gadolinium enhancement:

Mittels Late Gadolinium enhancement (LGE) lässt sich nach Myokardinfarkt eine kardiale Gewebsdifferenzierung durchführen. Myokardareale, die sich funktionell unterscheiden (z.B. Nekrose, Ödem, gesundes Myokard), reichern in unterschiedlichem Maße vermehrt gadoliniumhaltiges Kontrastmittel an.²⁴²

Nekrotische und geschädigte Zellen nehmen im Gegensatz zu gesunden Zellen Gadolinium intrazellulär auf.²⁴³ Auch im Extrazellulärraum wird Gadolinium angereichert: Akut nach Myokardinfarkt kommt es zu extrazellulärer und intrazellulärer Flüssigkeitsansammlung (myokardiales Ödem). Diese Vergrößerung des Extrazellulärraums und mikrovaskuläre Schädigungen führen zu einer Minderdurchblutung des betroffenen Areals.²⁴⁴ Eine vermehrte Anreicherung von Gadolinium sowie eine verzögerte An- und Abflutung von Gadolinium ist die Folge (Abbildung 6).²⁴³

Langfristig wird das Infarktareal fibrotisch umgebaut und es entsteht eine Infarkt- narbe. Diese zeichnet sich ebenfalls durch einen vergrößerten Extrazellulärraum

und verminderte Durchblutung aus, weshalb auch hier eine vermehrte Anreicherung und eine verlangsamte An- und Abflutung sichtbar wird.²⁴⁴

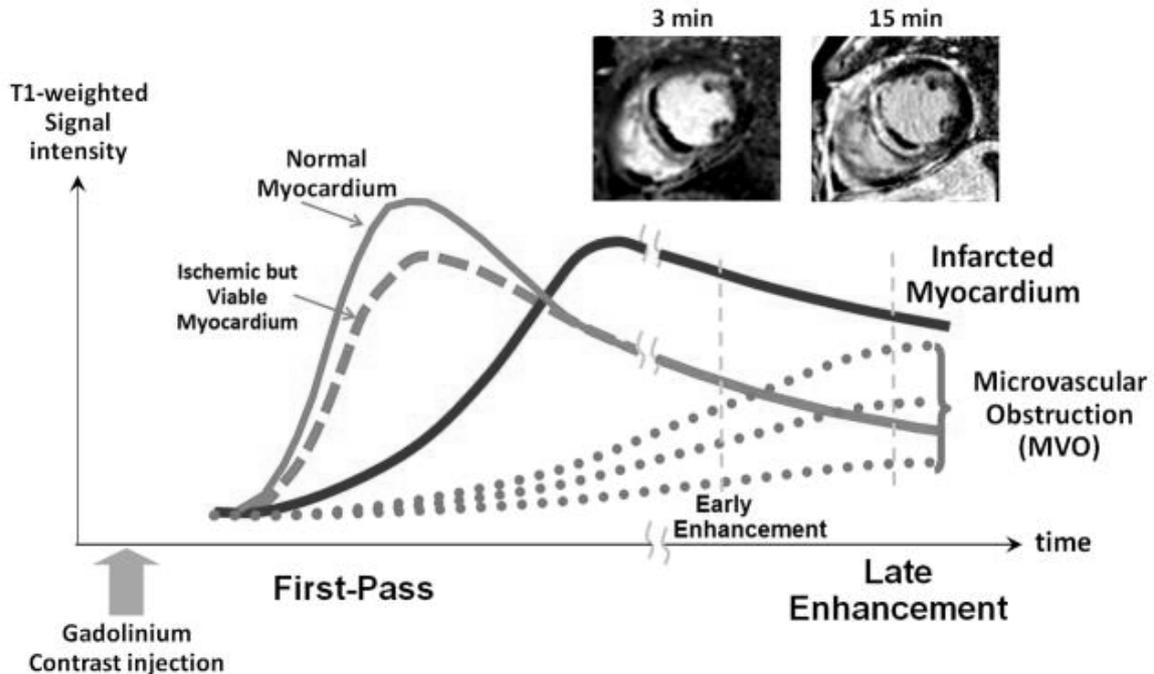


Abbildung 6: Signalintensität in gesundem und infarziertem Myokard nach Gadoliniuminjektion im CMR.

Aus: Kellman, P., and A. E. Arai. "Cardiac Imaging Techniques for Physicians: Late Enhancement." *J Magn Reson Imaging* 36, no. 3 (Sep 2012): 529-42. Figure 2.

Zur Bestimmung der Infarktgröße mittels LGE wurde den Patienten 0,15 mmol/kg KG gadoliniumhaltiges Kontrastmittel (Gadovist) über einen peripheren venösen Katheter injiziert. Die MR-Bilder wurden in Atemhaltetechnik und durch Anwendung einer segmentierten Inversion-Recovery-Gradientenecho-Pulssequenz 10 Minuten nach Kontrastmittelgabe aufgenommen.

Bei Patienten, die aufgrund von Dyspnoe nicht in der Lage waren, eine ausreichende Atemhaltepause einzulegen oder bei denen Arrhythmien zu Bewegungsartefakten führten, verwendeten wir die Single-shot-Pulssequenz. Alle Bilder wurden in T1-Wichtung aufgenommen.²⁴³

Zur Bestimmung der Infarktgröße wurden die Areale markiert, die eine Abweichung in der mittleren Signalintensität aufwiesen, die mehr als 5 Standardabweichungen betrug (Abbildung 7).²⁴⁵

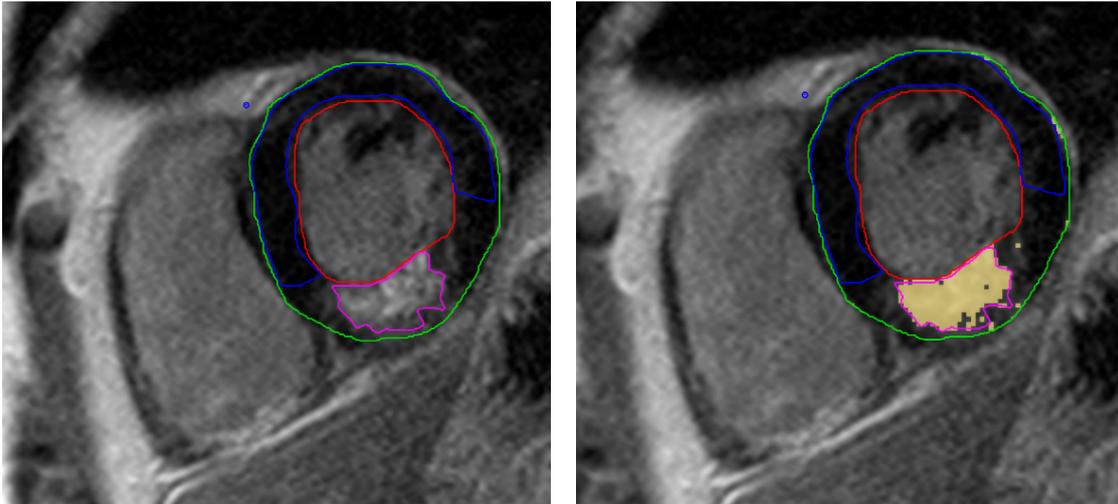


Abbildung 7: Kurzachsenschnitt (CMR) in LGE Bildgebung. Grün umrandet: Epikard, rot umrandet: Endokard, rosa umrandet: KM-anreicherndes Infarktareal, blau umrandet: gesundes Myokard ohne Gadolinium-Enhancement. Links: Konturen des Gadolinium-anreichernden Infarktareals. Rechts: Myokardareale mit Signalerhöhung > 5 SD in der mittleren Signalintensität des restlichen Myokardgewebes.

Bestimmung des myokardialen Ödems:

Im Rahmen des STEMI kommt es durch ischämische Zellschädigung und Zellzerfall auch zum Untergang der ATP-abhängigen Na^+/K^+ -Pumpen. Daraus resultiert, dass Natrium nicht mehr aus den Zellen herausgepumpt werden kann und sich somit intrazellulär Flüssigkeit ansammelt.²⁴⁶ Infolge von Azidose durch Ischämie, sowie Vasodilatation und erhöhter Kapillarpermeabilität kommt es zudem zur Ansammlung interstitieller Flüssigkeit.²⁴⁷ Das daraus resultierende myokardiale Ödem lässt sich mittels quantitativem T2-Mapping im CMR darstellen.²⁴⁸ T2-Mapping generiert Bilder, die auf der transversalen Relaxation der Spins (Protonen) basiert. Im Fall eines myokardialen Ödems, ist die transversale Relaxationszeit durch die erhöhte Menge an Wasser im Gewebe verlängert. Dies lässt sich im MRT darstellen.²⁴⁷

In dieser Studie wurde nur in den Untersuchungen während der Hospitalisierungsphase die Ödemquantifizierung durchgeführt. Für das T2-Mapping wurde eine dual-contrast Fast-Spin-Echo (dcFSE) MRT Sequenz mit zwei Echozeiten verwendet, welche ebenfalls in kurzer Achse aufgenommen wurde.²⁴⁹ Aus den zwei resultierenden Bildern wurden mit einem eigens programmierten Skript für

MatLab R2014b (MathWorks, Natick, MA) nach Rauschkorrektur (Abzug des Rauschens in der Luft am Bildrand) Pixelwertkarten, so genannte Maps, errechnet. Der darin abgebildete Wert entspricht der Signalzerfallszeit (Signal decay time, SDT). Diese wurde mit der Formel folgenden Formel berechnet:

$$SDT = \Delta TE / (\ln S_{TE1} - \ln S_{TE2}).$$

Die verwendete Anpassungsformel errechnet die Signalzerfallszeit dabei aus der Differenz der Echozeiten (ΔTE) sowie der logarithmierten Signalintensitäten aus den dcFSE-Bildern zu den Echozeitpunkten (time echo, TE) eins und zwei ($\ln S_{TE1} - \ln S_{TE2}$).²⁴⁹

Für jedes Myokardsegment wurde manuell eine „region of interest“ (ROI) eingezeichnet und die daraus ermittelte Signalzerfallszeit für die Differenzierung des Ödems verwendet. Als Grenzwert für ein pathologisches Ödem wurden für diese Sequenz in einer bereits veröffentlichten Probandenstudie 65 ms (97.5% oberes Quantil gesunder Probanden) ermittelt.²⁴⁹ Aus den quantitativen Daten wurden die Segmente über den pathologischen Schwellenwert in binärem Modus als Ödem positiv (≥ 65 ms) oder negativ (< 65 ms) gewertet. Die Masse der vom Ödem betroffenen Segmente in Prozent der gesamten Myokardmasse wurde in dieser Studie errechnet und ausgewertet.

Folgemessungen

Ein Hauptaspekt unserer Studie war es, den klinischen Verlauf der Patienten beurteilen zu können und in Zusammenhang mit den erhobenen laborchemischen Messdaten zu bringen. Die Folgemessungen erfolgten 6 Monate nach STEMI. Die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 sowie CXCR7 wurde erneut im Blut der Patienten bestimmt. Dabei wurden 8,5 ml Blut aus der V. mediana cubiti oder der V. cephalica entnommen und in eine CPDA-Monovette gegeben. Es wurde das gleiche Messprotokoll verwendet, wie es für die Messungen während der Hospitalisierungsphase der Patienten verwendet wurde.

Die Patienten erhielten außerdem 6 Monate nach STEMI eine erneute Kardio-MRT. In der Kardio-MRT wurde die LV-Funktion sowie die Größe der Infarkt Narbe mittels Late Gadolinium Enhancement bestimmt. Das myokardiale Ödem lässt

sich nur im Akutstadium nach STEMI nachweisen, weshalb dies nach 6 Monaten nicht erneut bestimmt wurde.²⁵⁰

Für die laborchemischen Follow-up-Messungen konnten 26 (CXCR4) und 27 (CXCR7) der ursprünglichen Patienten erneut rekrutiert werden.

Die Kardio-MRT 6 Monate nach Infarkt war nur bei 34 Patienten erneut durchführbar.

Ein Teil der Patienten konnte 6 Monate nach STEMI nicht mehr erreicht werden. Aufgrund weiter Anfahrtswege, da die Patienten zum Teil nicht direkt in Tübingen wohnhaft waren, und gesundheitliche Einschränkung durch die Erkrankung war vielen Patienten eine erneute Anreise zu Studienzwecken nicht möglich. Zusätzlich lagen medizinische Gründe, wie eine ICD- oder Schrittmacherimplantation vor, die dazu führten, dass eine erneute Teilnahme an der Kardio-MRT nicht möglich war.

Statistische Analyse

Zur statistischen Analyse der erhobenen Daten, wurde die SPSS Version 23.0. (Released 2015. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0. Armonk, NY: IBM Corp.) verwendet. Mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests wurde ermittelt, ob es sich um eine Normalverteilung der Werte handelt. Normal verteilte Daten wurden mit dem T-Test für unabhängige Stichproben verglichen.

Nicht-parametrische Daten wurden mittels des Mann-Whitney U-Testes verglichen und die Ergebnisse als Balkendiagramme mit Fehlerbalken dargestellt.

Normalverteilte Daten sind als Mittelwert \pm SD angegeben, während nicht normalverteilte Daten als Median + Q_{25} / Q_{75} angegeben sind.

Korrelationen wurden mit dem Spearman Korrelationskoeffizienten analysiert und durch Streudiagramme dargestellt.

4 Ergebnisse

Basischarakteristika des Patientenkollektivs

In diese Studie wurden nur Patienten mit der Diagnose „STEMI“ (Diagnosekriterien nach ESC 2015) eingeschlossen.⁵⁸ Dabei handelte es sich in 72,4% um männliche Studienteilnehmer.

Alle Patienten erhielten im Rahmen ihrer Aufnahmediagnose eine Herzkatheteruntersuchung, bei der mittels Laevokardiographie auch die linksventrikuläre Ejektionsfraktion bestimmt wurde. Im Mittel betrug die LV-Funktion bei Aufnahme 44,8%. Das Alter der Patienten betrug im Mittel 60,8 Jahre (Tabelle 2).

Tabelle 2 *Basischarakteristika des Patientenkollektivs*

Alter (Jahre) (Mittel ± SD)	60,8 (±12,1)
Anzahl Männer	63 (72,4%)
Klinische Daten	
LVEF in der Laevokardiographie bei Aufnahme (Mittel ± SD)	44,8% (± 7,7)
KVRF	
Arterielle Hypertonie	56 (64,4%)
Hyperlipidämie	23 (26,4%)
Diabetes mellitus Typ II	20 (23,0%)
Raucher	41 (47,1%)
Positive Familienanamnese	17 (20,2%)

Dauermedikation bei Aufnahme	
ASS	14 (16,1%)
Clopidogrel	2 (2,3%)
Prasugrel	1 (1,1%)
Ticagrelor	3 (3,4%)
Orale Antikoagulantien	2 (2,3%)
ACE-Hemmer	13 (14,9%)
AT1-Antagonisten	8 (9,2%)
Calcium-Kanal-Blocker	9 (10,3%)
Beta-Blocker	20 (23,0%)
Diuretika (Thiazide, Schleifendiuretika)	9 (10,3%)
Kaliumsparende Diuretika	4 (4,6%)
Statine	12 (13,8%)

Werte Verteilung der thrombozytären CXCR4- und CXCR7-Oberflächenexpression (MFI) nach STEMI

Tabelle 3 gibt einen Überblick über die mittels Durchflusszytometrie (FACS) gemessene mittlere Fluoreszenzintensität (MFI) der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 zu den Messzeitpunkten 24 Stunden, 48 Stunden und 6 Monate nach STEMI. Die Messwerte sind nicht normal verteilt und daher zu allen Messzeitpunkten als Median sowie dem 25. und 75. Quartil angegeben.

Tabelle 3 **Werte Verteilung der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 24h, 48h und 6 Monate nach STEMI (mean fluorescence intensity, MFI)**

	CXCR4 24h	CXCR4 48h	CXCR4 6 Monate	CXCR7 24h	CXCR7 48h	CXCR7 6 Monate
Median	66,89	64,50	68,36	57,58	53,35	35,23
Q_{0,25}	58,66	51,10	54,31	42,00	36,94	28,94
Q_{0,75}	90,01	73,77	112,30	75,74	64,27	58,40

Die thrombozytäre Oberflächenexpression von sowohl CXCR4 als auch von CXCR7 ist mit einer Veränderung der LV-Funktion im 6-monatigen Verlauf nach STEMI assoziiert.

In dieser Studie konnte festgestellt werden, dass eine thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 größer des Medians mit einer Veränderung der LV-Funktion in der kardialen MRT im 6-monatigen Verlauf assoziiert ist (CXCR4 > Median: LVEF% 51.0 ± 12.9 vs. 60.9 ± 10.8 , $p=0.043$). Thrombozytäre Expressionslevel von CXCR4, die unterhalb des Medians liegen, sind nicht mit einer Veränderung der LV-Funktion 6 Monate nach STEMI assoziiert (CXCR4 \leq Median (LVEF% 54.1 ± 8.8 vs. 59.2 ± 13.2 , $p=0.213$. Abbildung 8).

Ebenso konnte für die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR7 eine Assoziation zu der Entwicklung der LV-Funktion 6 Monate nach STEMI gezeigt

werden, wenn die Expressionsrate oberhalb des Medians lag (CXCR7 > Median: LVEF% 44.3 ± 9.4 vs. 60.0 ± 11.7 , $p < 0.001$).

Bei Patienten, bei denen die Expressionsrate von CXCR7 unterhalb des Medians lag, konnte keine signifikante Assoziation zum 6-monatigen Verlauf der LV-Funktion gezeigt werden (CXCR7 \leq Median: LVEF% 54.8 ± 9.2 vs. 55.0 ± 9.4 , $p = 0.947$. Abbildung 8).

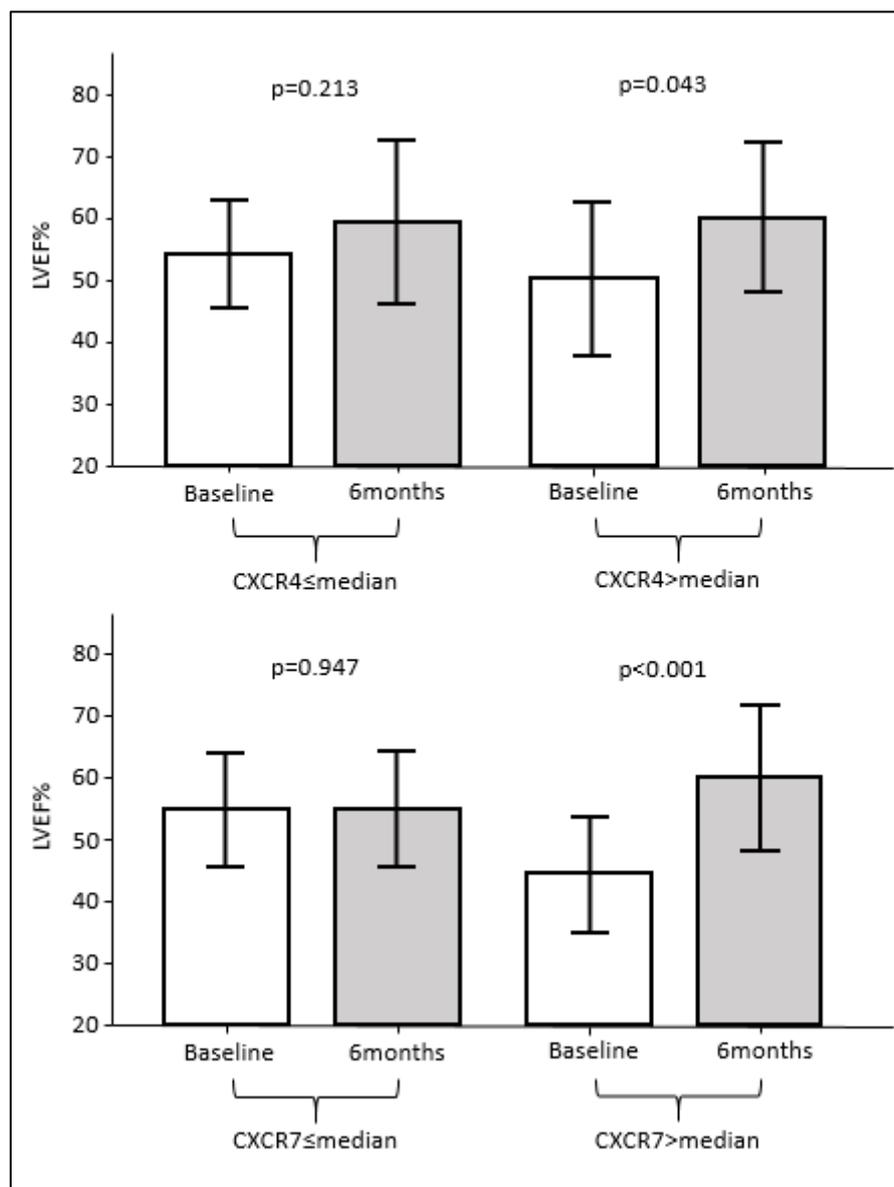


Abbildung 8: Vergleich der LV-Funktion (LVEF%) zur Hospitalisierungsphase sowie 6 Monate nach STEMI bei einer thrombozytären Oberflächenexpressionsrate von CXCR4 und CXCR7 > des Medians sowie \leq des Medians. Aus: Rath et al., eingereicht 01/2018.

Die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 nach STEMI ist nicht mit der Infarktgröße akut nach STEMI sowie der Größe der Infarktnarbe 6 Monate nach STEMI assoziiert.

Um zu ermitteln, ob potentielle Zusammenhänge zwischen der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 oder CXCR7 mit der Infarktgröße und der Entwicklung der Infarktnarbe bestehen, wurden die Werte der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 24 Stunden, 48 Stunden und 6 Monate nach STEMI in Bezug auf die Infarktgröße während der Hospitalisierungsphase nach STEMI sowie 6 Monate nach STEMI untersucht.

Die Infarktgröße sowie die Infarktnarbe wurden mittels Late Gadolinium Enhancements in der kardialen MRT während der Hospitalisierungsphase und 6 Monate nach STEMI bestimmt. In Tabelle 4 werden die Korrelationskoeffizienten und das Signifikanzniveau der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 in Zusammenhang mit der Infarktgröße dargestellt. In der Analyse dieser Werte zeigte sich in unserer Studie keine signifikante Assoziation zwischen der Oberflächenexpression der beiden Chemokinrezeptoren auf Thrombozyten und der Größe des Infarktes während der Hospitalisierungsphase oder der Infarktnarbe 6 Monate nach STEMI.

Tabelle 4 **Korrelation und Signifikanz der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 (MFI) in Bezug zum LGE im CMR.**
(r = Korrelationskoeffizient, p= Signifikanzniveau)

	LGE (ml) zu Studieneinschluss	LGE (ml) zum Follow-up
CXCR4 24h nach STEMI	r = 0,156 p = 0,344	r = -0,006 p = 0,978
CXCR4 48h nach STEMI	r = 0,194 p = 0,313	r = 0,010 p = 0,970
CXCR4 6 Monate nach STEMI		r = -0,331 p = 0,248
CXCR7 24h nach STEMI	r = 0,075 p = 0,644	r = -0,067 p = 0,763
CXCR7 48h nach STEMI	r = -0,047 p = 0,803	r = -0,024 p = 0,927
CXCR7 6 Monate nach STEMI		r = -0,160 p = 0,568

Die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 korreliert hoch signifikant zu allen Messzeitpunkten mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7.

Unsere Daten zeigen, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 hochsignifikant mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 korreliert. Dies gilt sowohl für die thrombozytäre Oberflächenexpression der beiden Rezeptoren akut nach STEMI (24h: $r=0,909$, $p<0,001$; 48h: $r=0,779$, $p<0,001$) als auch für deren Oberflächenexpression auf Thrombozyten 6 Monate nach STEMI ($r=0,855$, $p<0,001$. Abbildung 9).

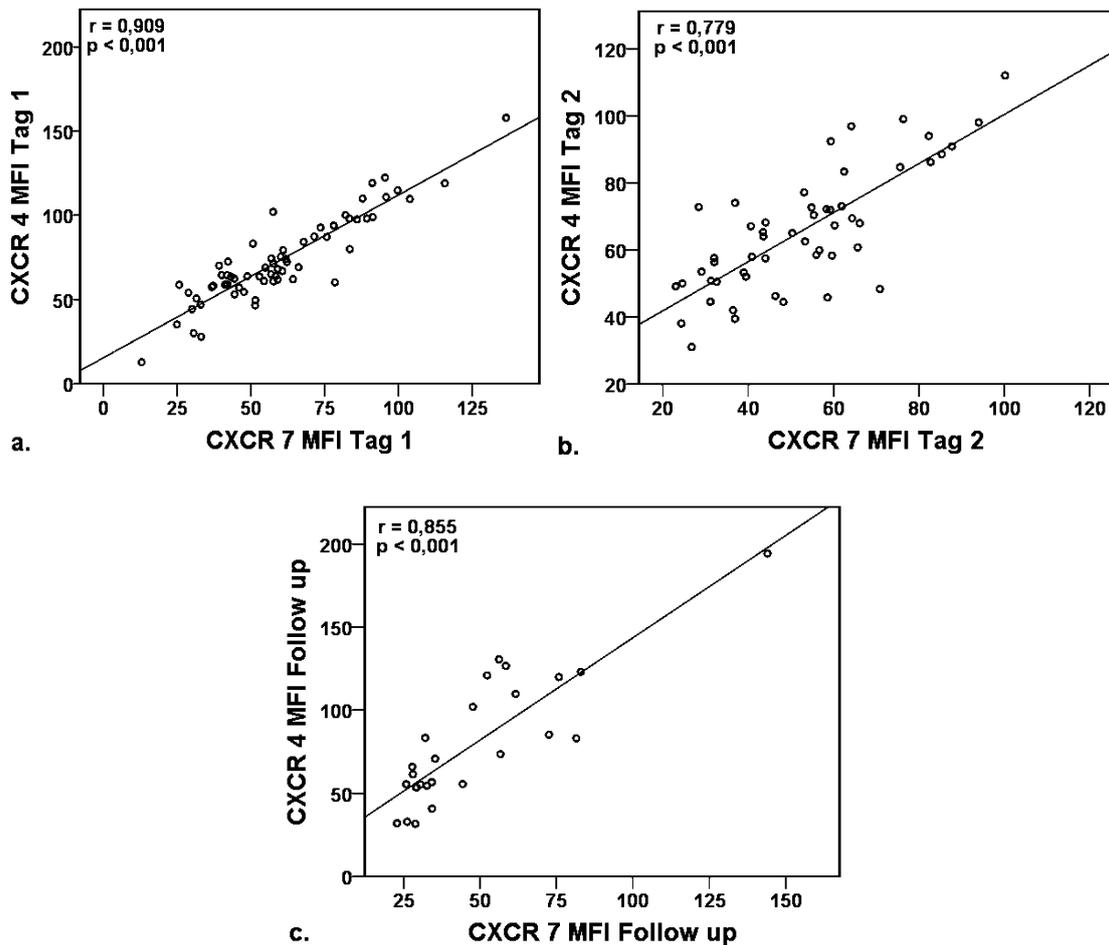


Abbildung 9: Korrelation der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 (MFI in FACS-Analyse) am 1. Tag nach STEMI (a.), am 2. Tag nach STEMI (b.) sowie 6 Monate nach STEMI (c.). r = Korrelationskoeffizient, p = Signifikanzniveau.

Die thrombozytäre Oberflächenexpression sowohl von CXCR4 als auch von CXCR7 48 Stunden nach STEMI korreliert positiv mit der thrombozytären Oberflächenexpression derselben Chemokine im Follow-up.

Um den zeitlichen Verlauf der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 zu untersuchen, verglichen wir die Expressionswerte beider Rezeptoren zu den verschiedenen Messzeitpunkten.

Wir konnten feststellen, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 24 Stunden nach STEMI hochsignifikant mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 48 Stunden nach STEMI korreliert ($r=0,680$, $p<0,001$. Abbildung 10.a.). Auch für die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR7 24 Stunden nach STEMI mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 48 Stunden nach STEMI konnte eine hochsignifikante, positive Korrelation nachgewiesen werden ($r=0,579$, $p<0,001$. Abbildung 10.b.).

Bezüglich des langfristigen Verlaufs zeigte sich, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 48 Stunden nach STEMI mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 6 Monate nach STEMI positiv korreliert ($r=0,624$, $p=0,023$. Abbildung 10.e). Auch für die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR7 48 Stunden nach STEMI mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 6 Monate nach STEMI ergibt sich hier eine positive Korrelation ($r=0,597$, $p=0,019$. Abbildung 10.f.).

Die Korrelation zwischen der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und auch CXCR7 24 Stunden nach STEMI mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 6 Monate nach STEMI ist hingegen nicht signifikant (CXCR4 Tag 1/Follow-up: $r=0,309$, $p=0,227$; CXCR7 Tag 1/Follow-up: $r=0,324$, $p=0,136$. Abbildung 10.c. und 10.d.).

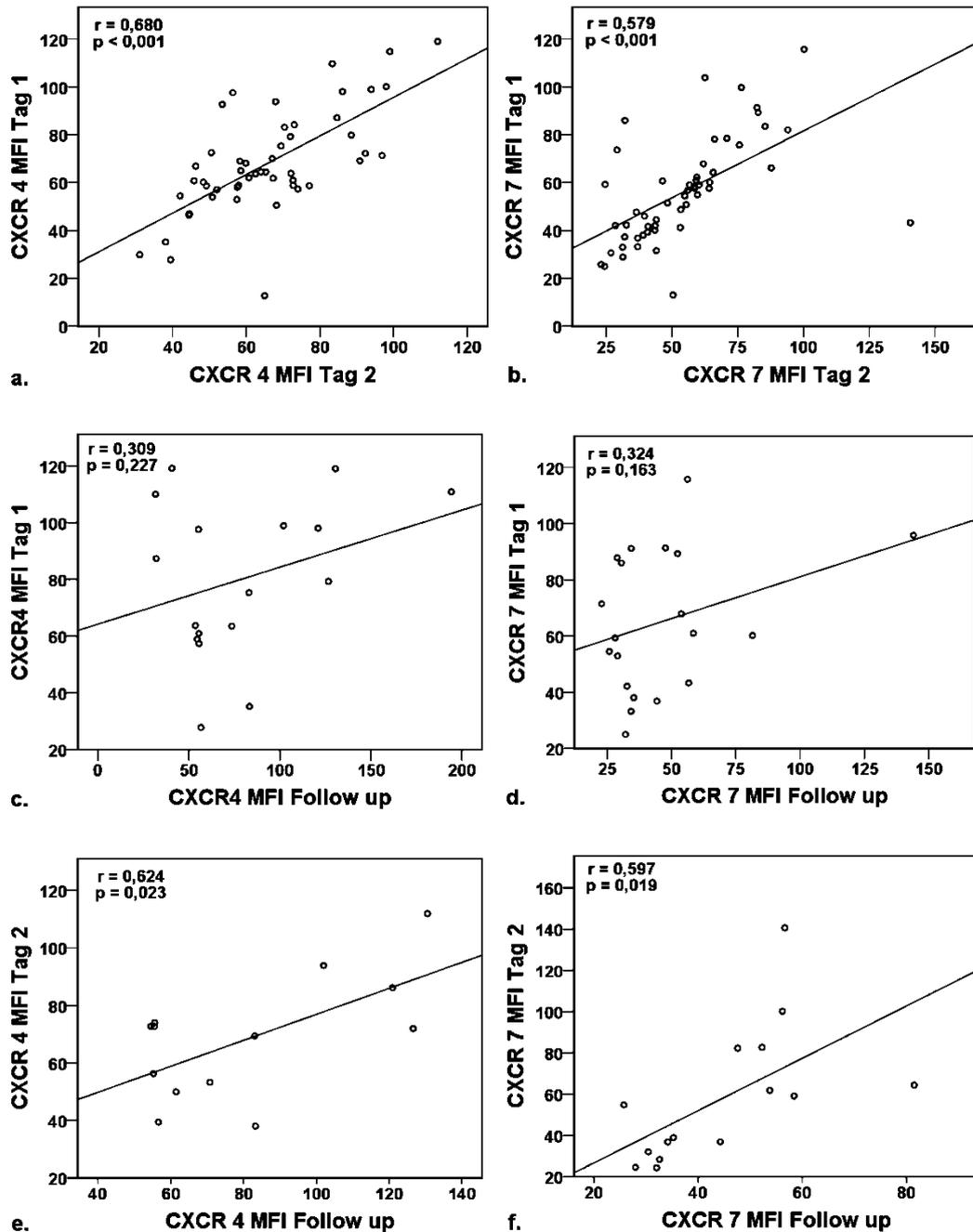


Abbildung 10: a. (b.): Korrelation der thrombozytären Oberflächenexpression (MFI in FACS-Analyse) von CXCR4 (CXCR7) am 1. Tag nach STEMI mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 (CXCR7) am 2. Tag nach STEMI. c. (d.): Korrelation der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 (CXCR7) am 1. Tag nach STEMI mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 (CXCR7) 6 Monate nach STEMI. e. (f.): Korrelation der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 (CXCR7) am 2. Tag nach STEMI mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 (CXCR7) 6 Monate nach STEMI.

Der Anstieg der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4, nicht aber CXCR7, in den ersten 48 Stunden nach STEMI korreliert mit der Größe des myokardialen Ödems (%) nach STEMI.

Um den zeitlichen Verlauf der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 zu verdeutlichen, wurde der Quotient zwischen der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 beziehungsweise CXCR7 48 Stunden nach STEMI und der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 beziehungsweise CXCR7 24 Stunden nach STEMI gebildet (Δ CXCR4 Tag 2/ CXCR4 Tag 1 sowie Δ CXCR7 Tag 2/ CXCR7 Tag 1).

Es zeigte sich eine negative Korrelation zwischen dem Quotienten der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 Tag 2/CXCR4 Tag 1 zu der Größe des myokardialen Ödems ($r = -0,402$, $p = 0,038$. Abbildung 11.a.).

Die Werte, die größer des Medians Δ CXCR4 Tag 2/ CXCR4 Tag 1 waren, waren mit einem signifikant kleineren myokardialen Ödem assoziiert (Δ CXCR4 Tag 2/CXCR4 Tag 1 > Median vs. Δ CXCR4 Tag 2/CXCR4 Tag 1 < Median: 22,22% ($\pm 16,72$) vs. 28,44% ($\pm 10,85$)). Für die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR7 konnte dies nicht nachgewiesen werden (Δ CXCR7 Tag 2/ CXCR7 Tag 1 > Median vs. Δ CXCR7 Tag 2/CXCR7 Tag 1 < Median: 26,73% ($\pm 12,59$) vs. 28,67% ($\pm 15,01$)). Die zeitliche Entwicklung der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 in den ersten 48 Stunden nach STEMI korreliert nicht mit der Größe des myokardialen Ödems ($r = 0,097$, $p = 0,616$. Abbildung 11.b.).

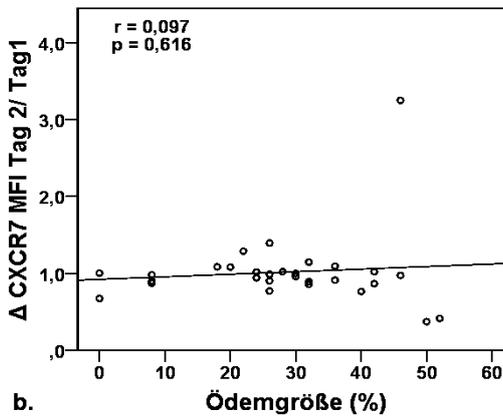
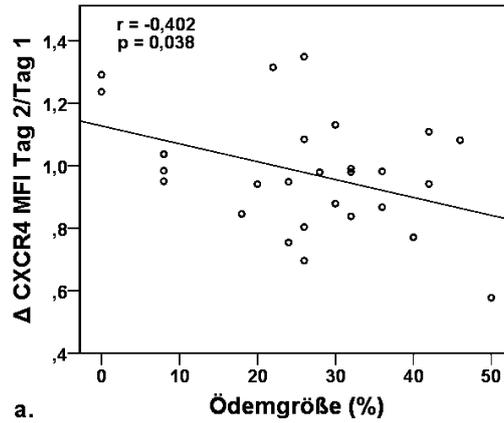


Abbildung 11: Korrelation der myokardialen Ödemgröße (%) bei Studieneinschluss mit dem Quotienten der thrombozytären Oberflächenexpression (MFI in FACS-Analyse) von CXCR4 an Tag2/Tag1 (a.) und von CXCR7 an Tag2/Tag1 (b.)

5 Diskussion

Die wesentlichen Ergebnisse dieser Studie sind: (1) Die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 korreliert zu allen Messzeitpunkten hochsignifikant mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 nach STEMI. (2) Die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 48 Stunden nach STEMI korreliert mit der thrombozytären Oberflächenexpression derselben Chemokinrezeptoren 6 Monate nach STEMI. (3) In dieser Studie konnte nachgewiesen werden, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von sowohl CXCR4 als auch von CXCR7 mit einer Veränderung der LV-Funktion 6 Monate nach STEMI assoziiert ist. (4) Der Anstieg der thrombozytären CXCR4-Oberflächenexpression zwischen den ersten 24 und 48 Stunden nach STEMI ist mit einer reduzierten Größe des myokardialen Ödems assoziiert.

Die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse beeinflusst Stammzellmigration, Proliferation und Differenzierung.^{167,225,251} Sie spielt eine Rolle in Regenerationsprozessen und Neovaskularisation.^{224,252,253,254}

SDF-1 wird auf der Oberfläche verschiedener Zellen exprimiert, wie beispielsweise Stammzellen, Endothelzellen und Thrombozyten.^{82,158,161}

In Tierstudien konnte mehrfach nachgewiesen werden, dass eine Überexpression von SDF-1 in ischämischem Myokard zu einer Verbesserung der kardialen Funktion führt.^{173,255,256} Knochenmarksstammzellen besitzen das Potential die kardiale Funktion nach Myokardinfarkt zu verbessern. In Tierexperimenten verbesserte die autologe Implantation mesenchymaler Stammzellen in das Infarktareal sowie der intrakoronare Transfer von autologen Knochenmarksstammzellen nach akutem Myokardinfarkt die kardiale Funktion.^{257,258,259}

Es wird vermutet, dass SDF-1 ist ein wichtiger Induktor der mesenchymalen Stammzellmigration zu beschädigtem Gewebe hin ist und so zur Erholung der kardialen Funktion nach Myokardinfarkt beiträgt.^{173,260}

SDF-1 wird unter anderem auch von aktivierten oder adhätierenden Thrombozyten exprimiert.⁸² Thrombozyten sind maßgeblich an Reparaturmechanismen bei (vaskulären) Gewebsschädigungen beteiligt. Sie adhätieren an geschädigtes Gewebe und exprimieren neben einer Reihe von Wachstumsfaktoren und pro-

angiogenetischen Mediatoren auch die SDF-1-Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 auf ihrer Oberfläche.^{129,217,261,262}

Es konnte nachgewiesen werden, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von SDF-1 bei Patienten mit KHK und ACS gesteigert ist.¹⁷⁶

Eine Erhöhung der thrombozytären SDF-1-Oberflächenexpression ist mit der Mobilisierung von CD34+-Stammzellen aus dem Knochenmark assoziiert.²⁶³

CD34+-Progenitorzellen besitzen das Potential die kardiale Regeneration, das bedeutet die LV-Funktion, das kardiale Remodeling und die myokardiale Durchblutung, nach Myokardinfarkt positiv zu beeinflussen.^{42,264,265} Geisler et al. wiesen 2012 bei Patienten nach akutem Myokardinfarkt eine Assoziation zwischen der thrombozytären Oberflächenexpression von SDF-1 und der Infarktgröße sowie der Entwicklung der LV-Funktion nach. Patienten mit einer erhöhten thrombozytären Oberflächenexpression von SDF-1 nach Myokardinfarkt zeigten eine reduzierte Infarktgröße sowie eine verbesserte LV-Funktion 3 Monate nach Myokardinfarkt im Gegensatz zu Patienten, die eine niedrige thrombozytäre SDF-1-Oberflächenexpression aufwiesen.¹⁷⁹

CXCR4 ist schon lange als Rezeptor von SDF-1 bekannt.¹⁸³ CXCR4 wurde initial für den einzigen Rezeptor von SDF-1 gehalten.¹⁶³ Erst 2005 entstand die Vermutung, dass CXCR7, zuvor als RDC-1 bekannt, einen weiteren Rezeptor für SDF-1 (CXCL12) bildet.¹⁸⁵

CXCR4 wird auf einer Vielzahl von Zelloberflächen unterschiedlicher Organe exprimiert, wie beispielsweise auch Endothelzellen und Knochenmarksstammzellen.^{188,189,266}

Auch Thrombozyten exprimieren CXCR4 und CXCR7 kontinuierlich auf ihrer Oberfläche.²¹⁷ Die Oberflächenexpression der beiden Rezeptoren ist dynamisch. SDF-1 beeinflusst die thrombozytäre Oberflächenexpression beider Rezeptoren.⁸² Während CXCR4 durch den Einfluss von SDF-1 internalisiert wird, wird CXCR7 externalisiert.⁸² CXCR4 wirkt bei Ligandenbindung als G_i-Protein-gekoppelter Rezeptor über eine intrazelluläre Signalkaskade.²⁶⁷

CXCR7 ist im Gegensatz zu CXCR4 kein typischer G-Protein-gekoppelter Rezeptor.²¹³ CXCR7 kann die G-Protein-Aktivität von CXCR4 durch Heterodimerisierung mit CXCR4 modulieren.²¹⁴ Beispielsweise ist CXCR7 entscheidend für

die SDF-1-abhängige Integrinaktivierung in Lymphozyten und CD34+-Zellen durch CXCR4.²⁶⁸ CXCR7 scheint sowohl als Homodimer SDF-1-vermittelt zu wirken als auch als Heterodimer die Funktion von CXCR4 beeinflussen zu können.²¹⁴ Dabei vermittelt CXCR7 seine Funktion β -Arrestin-abhängig über die Aktivierung des Akt- und MAP-Kinase-Signalwegs sowie über JAK/STAT3-Signalkaskaden.^{163,212} Der Einfluss von CXCR4 auf die kardiale Funktion und Regeneration ist bisher nicht ausreichend geklärt. In Tierstudien wurde unter anderem der Einfluss der Oberflächenexpression von CXCR4 auf Kardiomyozyten auf die kardiale Regeneration nach Myokardinfarkt erforscht.

Es wurde dabei festgestellt, dass die frühe Hochregulation der Oberflächenexpression von CXCR4 auf Kardiomyozyten nach Myokardinfarkt die kardiale Regeneration verbessert.²⁰⁶

In Bezug auf die Oberflächenexpression von CXCR4 auf Thrombozyten konnte nachgewiesen werden, dass eine niedrige thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 mit einer erhöhten Mortalität im 12-Monats-Follow-up bei Patienten mit symptomatischer KHK in Zusammenhang steht.¹⁷⁷

CXCR7 wird ebenfalls auf der Zelloberfläche verschiedener Organe exprimiert. Dazu zählen beispielsweise Endothelzellen, Thrombozyten und Lymphozyten.^{177,185,219} Im Tiermodell geht das Fehlen der endothelialen CXCR7-Oberflächenexpression mit einer erhöhten Beeinträchtigung der kardialen Funktion nach Myokardinfarkt einher.²²³

Bei Patienten nach ACS konnte eine Assoziation zwischen einer erhöhten thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 und der Erholung der LV-Funktion 5 Tage nach sowie 3 Monate nach ACS nachgewiesen werden.²¹⁷

Auch in dieser Studie konnte ein Zusammenhang zwischen der Erholung der LV-Funktion und der SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse festgestellt werden. Es zeigte sich, dass eine erhöhte thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 schwach und von CXCR7 stark mit einer Verbesserung der LV-Funktion 6 Monate nach STEMI korreliert (3).

Dies lässt annehmen, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR7 also nicht nur im Rahmen des ACS von Bedeutung für kardiale Regene-

rationsprozesse ist, sondern auch nach STEMI eine wichtige Rolle spielt und damit auch therapeutisch einen Ansatzpunkt bieten könnte, kardiale Regenerationsmechanismen nach akutem Myokardinfarkt positiv zu beeinflussen.

In Bezug auf die Infarktgröße konnten wir in unserer Studie keine signifikanten Assoziationen zu der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 feststellen.

Die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 in Bezug auf die Infarktgröße wurde bisher noch nicht am Patienten untersucht. In einer Studie zur thrombozytären SDF-1-Expression bei Patienten nach Myokardinfarkt konnte jedoch eine Reduktion der Infarktgröße bei erhöhter thrombozytärer SDF-1-Expression nachgewiesen werden.¹⁷⁹

Ergebnisse unserer Studie legen nahe, dass eine Interaktion zwischen der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 nach STEMI stattfindet (1).

Wir konnten nachweisen, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 zu allen Messzeitpunkten hochsignifikant mit der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 korreliert. Es findet sich sowohl akut nach STEMI (24 Stunden und 48 Stunden nach STEMI) als auch 6 Monate nach STEMI eine starke, positive Korrelation zwischen der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7.

In Studien konnte bereits nachgewiesen werden, dass CXCR7 die SDF-1-induzierte Signalvermittlung durch CXCR4 modulieren kann.^{213,214}

Bei der Untersuchung des Einflusses der Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 auf CD34+-Stammzellen stellte sich heraus, dass CXCR7 die SDF-1-vermittelte CXCR4-Wirkung auf die Integrinaktivierung in CD34+-Zellen beeinflusst. Es zeigte sich, dass CXCR7 im Gegensatz zu CXCR4 alleine keine Wirkung auf die Integrinaktivierung oder Mobilisierung von CD34+-Zellen hat. Eine Blockade von CXCR7 führte jedoch dazu, dass auch die CXCR4-vermittelte Integrinaktivierung und Mobilisierung der Zellen nicht mehr möglich war.²⁶⁸ CXCR7 scheint also essentiell für die durch SDF-1 vermittelte CXCR4-Wirkung auf CD34+-Zellen zu sein.²⁶⁸

CXCR7 kann SDF-1-vermittelt mit CXCR4 Heterodimere ausbilden und dessen Funktion beeinflussen.²¹⁴

Es wäre möglich, dass derartige Interaktionsvorgänge nach STEMI auch auf Thrombozyten zum Tragen kommen und zu einer Koexpression der Rezeptoren führen.

Ein weiteres Ergebnis unserer Studie betrifft den zeitlichen Verlauf der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 (2).

Wir konnten zeigen, dass die thrombozytäre CXCR4-Oberflächenexpression 24 Stunden nach STEMI hochsignifikant mit der thrombozytären CXCR4-Oberflächenexpression 48 Stunden nach STEMI korreliert ($p < 0,001$, $r = 0,680$). Dasselbe gilt für die Werte der thrombozytären CXCR7-Oberflächenexpression 24 und 48 Stunden nach STEMI ($p < 0,001$, $r = 0,579$).

Die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR7 ist bei Patienten mit ACS gegenüber Patienten mit KHK erhöht. Für die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 konnte dies nicht nachgewiesen werden.²¹⁷ Jedoch war die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 bei Patienten mit symptomatischer KHK gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe erhöht.²¹⁷

Es ist wäre möglich, dass es nach STEMI ebenfalls zu einer Hochregulation der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 und CXCR4 kommt. In dem Fall scheint diese für mindestens 48 Stunden nach STEMI aufrechterhalten zu bleiben. Da keine Ausgangswerte vor STEMI bestimmt werden konnten und in dieser Studie auch kein Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe erfolgte, ist eine genaue Aussage über eine mögliche Hochregulation nicht möglich.

In Hinblick auf die langfristige thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 korrelieren die am zweiten Tag nach STEMI gemessenen Werte mit den in den Folgemessungen, 6 Monate nach STEMI, gemessenen Werten (CXCR4: $p = 0,023$, $r = 0,624$; CXCR7: $p = 0,019$, $r = 0,597$).

Die thrombozytäre Oberflächenexpression beider Rezeptoren bleibt demnach für mindestens 6 Monate nach STEMI bestehen.

In unseren Messungen ergab sich keine signifikante Korrelation für die Werte der thrombozytären Oberflächenexpression beider Rezeptoren am ersten Tag nach STEMI mit den Werten der Folgemessungen nach 6 Monaten. Es besteht jedoch

dennoch eine positive Korrelation (CXCR4: $p=0,227$, $r=0,309$; CXCR7: $p=0,163$, $r=0,324$).

Bei diesen Ergebnissen sind die Limitationen der Studie zu beachten, die aus der geringen Fallzahl im Follow-up hervorgehen und die Validität der Ergebnisse mindern.

Als weiteres Ergebnis mit potentieller klinischer Relevanz, konnten wir eine Assoziation der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 mit dem myokardialen Ödem akut nach STEMI feststellen (4). Der Anstieg der thrombozytären CXCR4-Oberflächenexpression zwischen 24 und 48 Stunden nach STEMI ist in dieser Studie mit einer reduzierten Größe des myokardialen Ödems assoziiert ($p = 0,038$).

Das myokardiale Ödem kann genutzt werden, um den Risikobereich („Area at risk“, AAR) des Myokards darzustellen.²⁴⁶ Die AAR stellt den Bereich des Myokards dar, der peripher der Gefäßokklusion liegt und in dem das Myokard potentiell noch durch Reperfusion gerettet werden kann oder in Nekrose übergeht.²⁶⁹ Dieser Bereich bestimmt maßgeblich die potentielle Infarktgröße und hat daher auch prognostischen Wert.^{270,271} Es wurde nachgewiesen, dass eine niedrige thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 bei Patienten mit symptomatischer KHK mit einer erhöhten 12-Monats-Mortalität einhergeht und damit ein prognostischer Faktor sein könnte.¹⁷⁷ Da das myokardiale Ödem die Infarktgröße und damit ebenfalls die Prognose bestimmt, könnte dieses Ergebnis ein Hinweis dafür sein, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 nach akutem Myokardinfarkt ebenfalls von prognostischer Bedeutung ist.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Studie, dass die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse möglicherweise auch im Rahmen des STEMI von Bedeutung ist. Wir konnten zeigen, dass CXCR4 und CXCR7 sowohl kurzfristig, am ersten und zweiten Tag nach STEMI, als auch langfristig, 6 Monate nach STEMI, auf der Thrombozytenoberfläche exprimiert werden. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression beider Rezeptoren für 6 Monate nach STEMI bestehen bleibt.

Es konnte ein starker Zusammenhang zwischen der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 zu jedem Zeitpunkt der Messung festgestellt werden, der auf eine Koexpression mit möglicher Interaktion zwischen CXCR4 und CXCR7 hindeutet.

Wir konnten zeigen, dass eine erhöhte thrombozytäre Expressionsrate von CXCR4 schwach und von CXCR7 hoch signifikant mit einer Erholung der LV-Funktion 6 Monate nach STEMI assoziiert ist. Dies könnte prognostisch und therapeutisch eine wichtige Rolle einnehmen und Ansatzpunkt medikamentöser Therapien sein, um die kardiale Regeneration nach akutem Myokardinfarkt zu verbessern.

Der Anstieg der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 in der Akutphase nach STEMI ist zudem in unserer Studie mit einer reduzierten Größe des myokardialen Ödems assoziiert und könnte damit ebenfalls prognostisch eine Rolle spielen.

Limitationen

Die Studie weist einige Limitationen auf. Dabei ist der bedeutendste Faktor die geringe Fallzahl. Einige Patienten verweigerten zudem die Teilnahme an der kardialen MRT. Durch das Studienkonzept als prospektive Studie mit Follow-up konnte ein Großteil der Patienten nach 6 Monaten nicht erneut rekrutiert werden. Hindernisse waren zum einen die fehlende Erreichbarkeit der Patienten, zum anderen aber auch Umstände, die mit der schweren Erkrankung der Patienten verbunden waren. Durch weite Anfahrtswege und gesundheitliche Einschränkungen war vielen Patienten die erneute Anreise zu Studienzwecken nicht möglich. Zusätzlich kamen medizinische Gründe, wie die Implantation von Herzschrittmachern oder Kardioverter-Defibrillatoren, hinzu, die eine Kontraindikation für das Kardio-MRT stellten.

Eine weitere Limitation dieser Studie ist die zeitliche Begrenzung. Insbesondere die langfristige Entwicklung (> 6 Monate) nach akutem Myokardinfarkt konnte nicht beurteilt werden.

Um die genaue Bedeutung der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 im Rahmen des Myokardinfarkts besser zu verstehen und

prognostische und therapeutische Potentiale zu evaluieren, werden daher Langzeitstudien mit einem größeren Patientenkollektiv benötigt.

6 Zusammenfassung

Die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse nimmt Einfluss auf Stammzellmigration, Proliferation und Differenzierung. SDF-1 und dessen Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 beeinflussen Entzündungsreaktionen, Immunreaktionen und Reparaturmechanismen nach Gewebeschädigungen und könnten daher auch eine wichtige Funktion in der kardialen Regeneration nach Myokardinfarkt einnehmen.

Thrombozyten exprimieren die SDF-1-Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 auf ihrer Oberfläche und spielen im akuten Myokardinfarkt nicht nur pathogenetisch eine Rolle, sondern sind auch maßgeblich an Regenerationsvorgängen beteiligt.

Die Ergebnisse früherer Studien deuten an, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 bei Patienten mit symptomatischer KHK und bei Patienten nach ACS eine Rolle spielt und möglicherweise kardiale Regenerationsmechanismen beeinflusst.

Aufbauend auf den bisherigen Studien, wurde in dieser Studie die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 bei Patienten nach akutem Myokardinfarkt gemessen und analysiert. Dabei wurden ausschließlich Patienten, die mit der Diagnose „STEMI“ in das Universitätsklinikum Tübingen eingeliefert wurden, in die Studie eingeschlossen. Insgesamt konnten 87 Patienten in die Studie eingeschlossen werden (n=87). Die Messungen der thrombozytären Oberflächenexpression erfolgten mittels Durchflusszytometrie (FACS) am ersten Tag, am zweiten Tag sowie 6 Monate nach STEMI.

Zusätzlich erhielten die Patienten während der Hospitalisierungsperiode sowie 6 Monate nach STEMI eine Kardio-MRT, bei der die LV-Funktion, die Infarktgröße und die Größe des myokardialen Ödems ermittelt wurden. Echokardiographische Daten sowie die Ergebnisse der Laevokardiographie während der Hospitalisierungsphase der Patienten wurden zur Beurteilung der kardialen Funktion miteinbezogen.

Wir konnten bei allen Patienten sowohl während der Hospitalisierungsperiode als auch 6 Monate nach STEMI eine thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7 nachweisen.

Es konnte eine hochsignifikante Korrelation zwischen der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR7 zu allen Messzeitpunkten nach STEMI festgestellt werden, die auf eine Koexpression mit möglicher Interaktion zwischen beiden Rezeptoren nach akutem Myokardinfarkt hindeutet.

Wir konnten zeigen, dass eine erhöhte thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 schwach und von CXCR7 stark mit einer Erholung der LV-Funktion in der Kardio-MR 6 Monate nach STEMI assoziiert ist.

Weiterhin konnten wir feststellen, dass ein Anstieg der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 zwischen den ersten 24 und 48 Stunden nach STEMI mit einer reduzierten Größe des myokardialen Ödems einhergeht. Das myokardiale Ödem bestimmt die Area at risk (AAR) nach Myokardinfarkt und damit die potentielle Infarktgröße. Es hat prognostischen Wert und es besteht die Möglichkeit, dass die thrombozytäre Oberflächenexpression von CXCR4 in der Akutphase nach Myokardinfarkt ebenfalls prognostisch von Bedeutung ist.

Die Studie weist Limitationen auf, deren bedeutendster Faktor die geringe Fallzahl ist. Die zeitliche Begrenzung der Studie sowie das Studienkonzept als prospektive Studie mit erforderlicher Teilnahme an einer kardialen MRT stellten weitere Limitationen dar.

Zur besseren Beurteilung des Einflusses der thrombozytären CXCR4/CXCR7-Expression auf die kardiale Funktion nach akutem Myokardinfarkt werden daher Langzeitstudien mit einem größeren Patientenkollektiv benötigt.

7 Literaturverzeichnis

- ¹ Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF). "Nationale Versorgungsleitlinie Chronische Khk –Langfassung." www.khk.versorgungsleitlinien.de.
- ² Lusis, A. J. "Atherosclerosis." *Nature* 407, no. 6801 (Sep 14 2000): 233-41.
- ³ P, Rösen. "Endotheliale Dysfunktion: Ein Synonym Für Funktionelle Atherosklerose." *Austrian Journal of Cardiology* 9, no. 12 (2002): 556-62.
- ⁴ Mudau, M., A. Genis, A. Lochner, and H. Strijdom. "Endothelial Dysfunction: The Early Predictor of Atherosclerosis." *Cardiovasc J Afr* 23, no. 4 (May 2012): 222-31.
- ⁵ Hadi, H. A., C. S. Carr, and J. Al Suwaidi. "Endothelial Dysfunction: Cardiovascular Risk Factors, Therapy, and Outcome." *Vasc Health Risk Manag* 1, no. 3 (2005): 183-98.
- ⁶ Michiels, C. "Endothelial Cell Functions." *J Cell Physiol* 196, no. 3 (Sep 2003): 430-43
- ⁷ Liao, J. K. "Linking Endothelial Dysfunction with Endothelial Cell Activation." *J Clin Invest* 123, no. 2 (Feb 2013): 540-1.
- ⁸ Park, K. H., and W. J. Park. "Endothelial Dysfunction: Clinical Implications in Cardiovascular Disease and Therapeutic Approaches." *J Korean Med Sci* 30, no. 9 (Sep 2015): 1213-25.
- ⁹ Zhou, J., M. D. Abid, Y. Xiong, Q. Chen, and J. Chen. "Ox-Ldl Downregulates Enos Activity Via Lox-1-Mediated Endoplasmic Reticulum Stress." *Int J Mol Med* 32, no. 6 (Dec 2013): 1442-50.
- ¹⁰ Hoshiyama, M., B. Li, J. Yao, T. Harada, T. Morioka, and T. Oite. "Effect of High Glucose on Nitric Oxide Production and Endothelial Nitric Oxide Synthase Protein Expression in Human Glomerular Endothelial Cells." *Nephron Exp Nephrol* 95, no. 2 (2003): e62-8.
- ¹¹ Merten, M. "[Role of the Vascular Wall in the Pathophysiology of the Acute Coronary Syndrome]." *Hamostaseologie* 26, no. 2 (May 2006): 123-30.
- ¹² De Caterina, R., J. K. Liao, and P. Libby. "Fatty Acid Modulation of Endothelial Activation." *Am J Clin Nutr* 71, no. 1 Suppl (Jan 2000): 213S-23S.
- ¹³ Moore, K. J., F. J. Sheedy, and E. A. Fisher. "Macrophages in Atherosclerosis: A Dynamic Balance." *Nat Rev Immunol* 13, no. 10 (Oct 2013): 709-21.
- ¹⁴ Linton, M. F., P. G. Yancey, S. S. Davies, W. G. J. Jerome, E. F. Linton, and K. C. Vickers. "The Role of Lipids and Lipoproteins in Atherosclerosis." In *Endotext*, edited by L. J. De Groot, G. Chrousos, K. Dungan, K. R. Feingold, A. Grossman, J. M. Hershman, C. Koch, *et al.* South Dartmouth (MA), 2000.
- ¹⁵ van der Wal, A. C. "Coronary Artery Pathology." *Heart* 93, no. 11 (Nov 2007): 1484-9.
- ¹⁶ Katsuda, S., and T. Kaji. "Atherosclerosis and Extracellular Matrix." *J Atheroscler Thromb* 10, no. 5 (2003): 267-74.

-
- ¹⁷ Bigalke, B., S. Lindemann, and M. Gawaz. "[Platelet Activation in Acute Coronary Syndrome and Interventional Therapy]." *Hamostaseologie* 27, no. 5 (Dec 2007): 338-43.
- ¹⁸ Rognoni, A., C. Cavallino, A. Veia, S. Bacchini, R. Rosso, M. Facchini, G. G. Secco, *et al.* "Pathophysiology of Atherosclerotic Plaque Development." [In eng]. *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem* 13, no. 1 (2015): 10-3.
- ¹⁹ Boomgaard, M. N., C. W. Gouwerok, C. H. Homburg, G. de Groot, I. Jsseldijk MJ, and D. de Korte. "The Platelet Adhesion Capacity to Subendothelial Matrix and Collagen in a Flow Model During Storage of Platelet Concentrates for 7 Days." *Thromb Haemost* 72, no. 4 (Oct 1994): 611-6.
- ²⁰ Nuytens, B. P., T. Thijs, H. Deckmyn, and K. Broos. "Platelet Adhesion to Collagen." *Thromb Res* 127 Suppl 2 (Jan 2011): S26-9.
- ²¹ Cohn, P. F. "Treatment of Chronic Myocardial Ischemia: Rationale and Treatment Options." *Cardiovasc Drugs Ther* 12 Suppl 3 (Oct 1998): 217-23.
- ²² Task Force, Members, G. Montalescot, U. Sechtem, S. Achenbach, F. Andreotti, C. Arden, A. Budaj, *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, no. 38 (Oct 2013): 2949-3003.
- ²³ Fuster, V., B. Stein, J. A. Ambrose, L. Badimon, J. J. Badimon, and J. H. Chesebro. "Atherosclerotic Plaque Rupture and Thrombosis. Evolving Concepts." *Circulation* 82, no. 3 Suppl (Sep 1990): II47-59.
- ²⁴ Hamm, C. W., J. P. Bassand, S. Agewall, J. Bax, E. Boersma, H. Bueno, P. Caso, *et al.* "[Esc Guidelines for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent St-Segment Elevation. The Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes (Acs) in Patients Presenting without Persistent St-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (Esc)]." *G Ital Cardiol (Rome)* 13, no. 3 (Mar 2012): 171-228.
- ²⁵ Bleifeld, W. "Unstable Angina: Pathophysiology and Drug Therapy." *Eur J Clin Pharmacol* 38 Suppl 1 (1990): S73-6.
- ²⁶ Ashley, E. A., and J. Niebauer. In *Cardiology Explained*. London, 2004.
- ²⁷ Sigwart, U., J. Puel, V. Mirkovitch, F. Joffre, and L. Kappenberger. "Intravascular Stents to Prevent Occlusion and Restenosis after Transluminal Angioplasty." *N Engl J Med* 316, no. 12 (Mar 19 1987): 701-6.
- ²⁸ Gruntzig, A. R., A. Senning, and W. E. Siegenthaler. "Nonoperative Dilatation of Coronary-Artery Stenosis: Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty." *N Engl J Med* 301, no. 2 (Jul 12 1979): 61-8.
- ²⁹ Fischman, D. L., M. B. Leon, D. S. Baim, R. A. Schatz, M. P. Savage, I. Penn, K. Detre, *et al.* "A Randomized Comparison of Coronary-Stent Placement and Balloon Angioplasty in the Treatment of Coronary Artery Disease. Stent Restenosis Study Investigators." *N Engl J Med* 331, no. 8 (Aug 25 1994): 496-501.
- ³⁰ Iqbal, J., J. Gunn, and P. W. Serruys. "Coronary Stents: Historical Development, Current Status and Future Directions." *Br Med Bull* 106 (2013): 193-211.

-
- ³¹ Byrne, R. A., N. Sarafoff, A. Kastrati, and A. Schomig. "Drug-Eluting Stents in Percutaneous Coronary Intervention: A Benefit-Risk Assessment." *Drug Saf* 32, no. 9 (2009): 749-70.
- ³² Hamid, H., and J. Coltart. "Miracle Stents--a Future without Restenosis." *Mcgill J Med* 10, no. 2 (Jul 2007): 105-11.
- ³³ Liu, Z., J. Zhou, H. Wang, M. Zhao, and C. Wang. "Current Status of Induced Pluripotent Stem Cells in Cardiac Tissue Regeneration and Engineering." *Regen Med Res* 1, no. 1 (Dec 2013): 6.
- ³⁴ Miyazaki, Y., P. Suwannasom, Y. Sotomi, M. Abdelghani, K. Tummala, Y. Katagiri, T. Asano, *et al.* "Single or Dual Antiplatelet Therapy after Pci." *Nat Rev Cardiol* 14, no. 5 (May 2017): 294-303.
- ³⁵ Granrud, G. A., and P. J. Vatterott. "Arrhythmias and Acute Myocardial Infarction." *Postgrad Med* 90, no. 6 (Nov 01 1991): 85-8, 93-6.
- ³⁶ Fu, D. G. "Cardiac Arrhythmias: Diagnosis, Symptoms, and Treatments." *Cell Biochem Biophys* 73, no. 2 (Nov 2015): 291-96.
- ³⁷ Aufderheide, T. P. "Arrhythmias Associated with Acute Myocardial Infarction and Thrombolysis." *Emerg Med Clin North Am* 16, no. 3 (Aug 1998): 583-600, viii.
- ³⁸ Stevenson, W. G. "Ventricular Scars and Ventricular Tachycardia." *Trans Am Clin Climatol Assoc* 120 (2009): 403-12.
- ³⁹ Koplan, B. A., and W. G. Stevenson. "Ventricular Tachycardia and Sudden Cardiac Death." *Mayo Clin Proc* 84, no. 3 (Mar 2009): 289-97.
- ⁴⁰ Chen, Z. M., L. X. Jiang, Y. P. Chen, J. X. Xie, H. C. Pan, R. Peto, R. Collins, L. S. Liu, and Commit collaborative group. "Addition of Clopidogrel to Aspirin in 45,852 Patients with Acute Myocardial Infarction: Randomised Placebo-Controlled Trial." *Lancet* 366, no. 9497 (Nov 05 2005): 1607-21.
- ⁴¹ Jones, J. B., and A. Docherty. "Non-Invasive Treatment of St Elevation Myocardial Infarction." *Postgrad Med J* 83, no. 986 (Dec 2007): 725-30.
- ⁴² Krishna, K. A., K. S. Krishna, R. Berrocal, K. S. Rao, and K. R. Sambasiva Rao. "Myocardial Infarction and Stem Cells." *J Pharm Bioallied Sci* 3, no. 2 (Apr 2011): 182-8.
- ⁴³ Carvalho, A. B., and A. C. de Carvalho. "Heart Regeneration: Past, Present and Future." *World J Cardiol* 2, no. 5 (May 26 2010): 107-11.
- ⁴⁴ Singla, D. K., T. A. Hacker, L. Ma, P. S. Douglas, R. Sullivan, G. E. Lyons, and T. J. Kamp. "Transplantation of Embryonic Stem Cells into the Infarcted Mouse Heart: Formation of Multiple Cell Types." *J Mol Cell Cardiol* 40, no. 1 (Jan 2006): 195-200.
- ⁴⁵ Jiang, C. Y., C. Gui, A. N. He, X. Y. Hu, J. Chen, Y. Jiang, and J. A. Wang. "Optimal Time for Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Rats with Myocardial Infarction." *J Zhejiang Univ Sci B* 9, no. 8 (Aug 2008): 630-7.
- ⁴⁶ Ko, I. K., and B. S. Kim. "Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Myocardial Infarction." *Int J Stem Cells* 1, no. 1 (Nov 2008): 49-54.
- ⁴⁷ Imanishi, Y., A. Saito, H. Komoda, S. Kitagawa-Sakakida, S. Miyagawa, H. Kondoh, H. Ichikawa, and Y. Sawa. "Allogenic Mesenchymal Stem Cell Transplantation Has a Therapeutic Effect in Acute Myocardial Infarction in Rats." *J Mol Cell Cardiol* 44, no. 4 (Apr 2008): 662-71.

-
- ⁴⁸ Breitbart, M., T. Bostani, W. Roell, Y. Xia, O. Dewald, J. M. Nygren, J. W. Fries, *et al.* "Potential Risks of Bone Marrow Cell Transplantation into Infarcted Hearts." *Blood* 110, no. 4 (Aug 15 2007): 1362-9.
- ⁴⁹ Rubio, D., J. Garcia-Castro, M. C. Martin, R. de la Fuente, J. C. Cigudosa, A. C. Lloyd, and A. Bernad. "Spontaneous Human Adult Stem Cell Transformation." *Cancer Res* 65, no. 8 (Apr 15 2005): 3035-9.
- ⁵⁰ Tolar, J., A. J. Nauta, M. J. Osborn, A. Panoskaltsis Mortari, R. T. McElmurry, S. Bell, L. Xia, *et al.* "Sarcoma Derived from Cultured Mesenchymal Stem Cells." *Stem Cells* 25, no. 2 (Feb 2007): 371-9.
- ⁵¹ Nussbaum, J., E. Minami, M. A. Laflamme, J. A. Virag, C. B. Ware, A. Masino, V. Muskheli, *et al.* "Transplantation of Undifferentiated Murine Embryonic Stem Cells in the Heart: Teratoma Formation and Immune Response." *FASEB J* 21, no. 7 (May 2007): 1345-57.
- ⁵² McLaren, A. "Stem Cells: Golden Opportunities with Ethical Baggage." *Science* 288, no. 5472 (Jun 09 2000): 1778.
- ⁵³ Hatzistergos, K. E., D. Saur, B. Seidler, W. Balkan, M. Breton, K. Valasaki, L. M. Takeuchi, *et al.* "Stimulatory Effects of Mesenchymal Stem Cells on Ckit+ Cardiac Stem Cells Are Mediated by Sdf1/Cxcr4 and Scf/Ckit Signaling Pathways." *Circ Res* 119, no. 8 (Sep 30 2016): 921-30.
- ⁵⁴ Yu, J., M. Li, Z. Qu, D. Yan, D. Li, and Q. Ruan. "Sdf-1/Cxcr4-Mediated Migration of Transplanted Bone Marrow Stromal Cells toward Areas of Heart Myocardial Infarction through Activation of Pi3k/Akt." *J Cardiovasc Pharmacol* 55, no. 5 (May 2010): 496-505.
- ⁵⁵ Liu, H., W. Xue, G. Ge, X. Luo, Y. Li, H. Xiang, X. Ding, P. Tian, and X. Tian. "Hypoxic Preconditioning Advances Cxcr4 and Cxcr7 Expression by Activating Hif-1alpha in Mscs." *Biochem Biophys Res Commun* 401, no. 4 (Oct 29 2010): 509-15.
- ⁵⁶ De Becker, A., and I. V. Riet. "Homing and Migration of Mesenchymal Stromal Cells: How to Improve the Efficacy of Cell Therapy?". *World J Stem Cells* 8, no. 3 (Mar 26 2016): 73-87.
- ⁵⁷ Kumar, A., and C. P. Cannon. "Acute Coronary Syndromes: Diagnosis and Management, Part I." *Mayo Clin Proc* 84, no. 10 (Oct 2009): 917-38.
- ⁵⁸ Roffi, M., C. Patrono, J. P. Collet, C. Mueller, M. Valgimigli, F. Andreotti, J. J. Bax, *et al.* "2015 Esc Guidelines for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent St-Segment Elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent St-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (Esc)." *Eur Heart J* 37, no. 3 (Jan 14 2016): 267-315.
- ⁵⁹ Langer, H., and M. Gawaz. "[the Role of Platelets for the Pathophysiology of Acute Coronary Syndromes]." *Hamostaseologie* 26, no. 2 (May 2006): 114-8.
- ⁶⁰ Schofer, N., C. Hamm, H.A. Kelm, S. Blankenberg. "Kommentar Zur Dritten Allgemeinen Definition Des Myokardinfarktes Der Gemeinschaftlichen Esc/Accf/Aha/Whf Task Force." *Der Kardiologe*, no. 8 (2014): 65-71.
- ⁶¹ Freisinger, E., T. Fuerstenberg, N. M. Malyar, J. Wellmann, U. Keil, G. Breithardt, and H. Reinecke. "German Nationwide Data on Current

-
- Trends and Management of Acute Myocardial Infarction: Discrepancies between Trials and Real-Life." *Eur Heart J* 35, no. 15 (Apr 2014): 979-88.
- ⁶² Marceau A., J.M. Samson, N. Laflamme, S. Rinfret. "Short and Long-Term Mortality after Stemi Versus Non-Stemi: A Systematic Review and Meta-Analysis." *J Am Coll Cardiol* 61, no. 10 (2013): E96.
- ⁶³ Zeymer, U., R. Hambrecht, H. Theres, R. Birkemeyer, A. Gitt, S. Schneider, J. Senges, and R. Zahn. "[Treatment of St-Segment Elevation Acute Myocardial Infarction in Hospitals with and without Cardiac Catheterization Laboratory]." *Dtsch Med Wochenschr* 138, no. 39 (Sep 2013): 1935-40.
- ⁶⁴ Ezekowitz, J. A., P. Kaul, J. A. Bakal, P. W. Armstrong, R. C. Welsh, and F. A. McAlister. "Declining in-Hospital Mortality and Increasing Heart Failure Incidence in Elderly Patients with First Myocardial Infarction." *J Am Coll Cardiol* 53, no. 1 (Jan 06 2009): 13-20.
- ⁶⁵ Fang, L., X. L. Moore, A. M. Dart, and L. M. Wang. "Systemic Inflammatory Response Following Acute Myocardial Infarction." *J Geriatr Cardiol* 12, no. 3 (May 2015): 305-12.
- ⁶⁶ Ribatti, D., and E. Crivellato. "Giulio Bizzozero and the Discovery of Platelets." *Leuk Res* 31, no. 10 (Oct 2007): 1339-41.
- ⁶⁷ Brewer, D. B. "Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the Discovery of the Platelet." *Br J Haematol* 133, no. 3 (May 2006): 251-8.
- ⁶⁸ Pötzsch, B., G. Müller-Berghaus. *Hämostasologie. Molekulare Und Zelluläre Mechanismen, Pathophysiologie Und Klinik*. Vol. 1: 3-13. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1999. doi:10.1007/978-3-662-07673-6.
- ⁶⁹ Patel, S. R., J. H. Hartwig, and J. E. Italiano, Jr. "The Biogenesis of Platelets from Megakaryocyte Proplatelets." *J Clin Invest* 115, no. 12 (Dec 2005): 3348-54.
- ⁷⁰ Giles, C. "The Platelet Count and Mean Platelet Volume." *Br J Haematol* 48, no. 1 (May 1981): 31-7.
- ⁷¹ Najean, Y., N. Ardaillou, and C. Dresch. "Platelet Lifespan." *Annu Rev Med* 20 (1969): 47-62.
- ⁷² Kemkes-Matthes, B. G. Oehler. *Blutgerinnung Und Thrombose*. Vol. 3, Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 2001.
- ⁷³ Roberts, D. E., A. McNicol, and R. Bose. "Mechanism of Collagen Activation in Human Platelets." *J Biol Chem* 279, no. 19 (May 7 2004): 19421-30.
- ⁷⁴ De Candia, E. "Mechanisms of Platelet Activation by Thrombin: A Short History." *Thromb Res* 129, no. 3 (Mar 2012): 250-6.
- ⁷⁵ Rotman, A., N. Makov, and E. F. Luscher. "Isolation and Partial Characterization of Proteins from Platelet Pseudopods." *Proc Natl Acad Sci U S A* 79, no. 14 (Jul 1982): 4357-61.
- ⁷⁶ Wilner, G. D., H. L. Nossel, and E. C. LeRoy. "Aggregation of Platelets by Collagen." *J Clin Invest* 47, no. 12 (Dec 1968): 2616-21.
- ⁷⁷ Ruggeri, Z. M., and G. L. Mendolicchio. "Adhesion Mechanisms in Platelet Function." *Circ Res* 100, no. 12 (Jun 22 2007): 1673-85.
- ⁷⁸ Bergmeier, W., and R. O. Hynes. "Extracellular Matrix Proteins in Hemostasis and Thrombosis." *Cold Spring Harb Perspect Biol* 4, no. 2 (Feb 01 2012).

-
- ⁷⁹ Andrews, R. K., and M. C. Berndt. "Adhesion-Dependent Signalling and the Initiation of Haemostasis and Thrombosis." *Histol Histopathol* 13, no. 3 (Jul 1998): 837-44.
- ⁸⁰ Blair, P., and R. Flaumenhaft. "Platelet Alpha-Granules: Basic Biology and Clinical Correlates." *Blood Rev* 23, no. 4 (Jul 2009): 177-89.
- ⁸¹ Whiteheart, S. W. "Platelet Granules: Surprise Packages." *Blood* 118, no. 5 (Aug 04 2011): 1190-1.
- ⁸² Chatterjee, M., D. Rath, and M. Gawaz. "Role of Chemokine Receptors Cxcr4 and Cxcr7 for Platelet Function." *Biochem Soc Trans* 43, no. 4 (Aug 2015): 720-6.
- ⁸³ Youssefian, T., J. M. Masse, F. Rendu, J. Guichard, and E. M. Cramer. "Platelet and Megakaryocyte Dense Granules Contain Glycoproteins Ib and lib-liia." *Blood* 89, no. 11 (Jun 01 1997): 4047-57.
- ⁸⁴ Lages, B., Sussman, Il, S. P. Levine, D. Coletti, and H. J. Weiss. "Platelet Alpha Granule Deficiency Associated with Decreased P-Selectin and Selective Impairment of Thrombin-Induced Activation in a New Patient with Gray Platelet Syndrome (Alpha-Storage Pool Deficiency)." *J Lab Clin Med* 129, no. 3 (Mar 1997): 364-75.
- ⁸⁵ Berman, C. L., E. L. Yeo, J. D. Wencel-Drake, B. C. Furie, M. H. Ginsberg, and B. Furie. "A Platelet Alpha Granule Membrane Protein That Is Associated with the Plasma Membrane after Activation. Characterization and Subcellular Localization of Platelet Activation-Dependent Granule-External Membrane Protein." *J Clin Invest* 78, no. 1 (Jul 1986): 130-7.
- ⁸⁶ Yun, S. H., E. H. Sim, R. Y. Goh, J. I. Park, and J. Y. Han. "Platelet Activation: The Mechanisms and Potential Biomarkers." *Biomed Res Int* 2016 (2016): 9060143.
- ⁸⁷ Frenette, P.S. . "P-Selectin and Vwf Tie the Knot." *Blood* 103, no. 6 (2004): 1979-80.
- ⁸⁸ Moore, K. L. "Structure and Function of P-Selectin Glycoprotein Ligand-1." *Leuk Lymphoma* 29, no. 1-2 (Mar 1998): 1-15.
- ⁸⁹ Merten, M., and P. Thiagarajan. "P-Selectin Expression on Platelets Determines Size and Stability of Platelet Aggregates." *Circulation* 102, no. 16 (Oct 17 2000): 1931-6.
- ⁹⁰ Reininger, A. J. "Koagulatorische Aktivität Der Thrombozyten." [In De]. *Hämostaseologie* 27, no. 4 (2007): 247-50.
- ⁹¹ Suzuki, H., T. Kaneko, T. Sakamoto, M. Nakagawa, T. Miyamoto, M. Yamada, and K. Tanoue. "Redistribution of Alpha-Granule Membrane Glycoprotein lib/liia (Integrin Alpha lib Beta 3) to the Surface Membrane of Human Platelets During the Release Reaction." *J Electron Microsc (Tokyo)* 43, no. 5 (Oct 1994): 282-9.
- ⁹² Perutelli, P., and P. G. Mori. "The Human Platelet Membrane Glycoprotein lib/liia Complex: A Multi Functional Adhesion Receptor." *Haematologica* 77, no. 2 (Mar-Apr 1992): 162-8.
- ⁹³ Berger, G., J. M. Masse, and E. M. Cramer. "Alpha-Granule Membrane Mirrors the Platelet Plasma Membrane and Contains the Glycoproteins Ib, Ix, and V." *Blood* 87, no. 4 (Feb 15 1996): 1385-95.
- ⁹⁴ Suzuki, H., K. Murasaki, K. Kodama, and H. Takayama. "Intracellular Localization of Glycoprotein Vi in Human Platelets and Its Surface

-
- Expression Upon Activation." *Br J Haematol* 121, no. 6 (Jun 2003): 904-12.
- ⁹⁵ Jaffe, E. A., L. W. Hoyer, and R. L. Nachman. "Synthesis of Von Willebrand Factor by Cultured Human Endothelial Cells." *Proc Natl Acad Sci U S A* 71, no. 5 (May 1974): 1906-9.
- ⁹⁶ Palta, S., R. Saroa, and A. Palta. "Overview of the Coagulation System." *Indian J Anaesth* 58, no. 5 (Sep 2014): 515-23.
- ⁹⁷ Vanhoutte, P. M. "Serotonin and the Vascular Wall." *Int J Cardiol* 14, no. 2 (Feb 1987): 189-203.
- ⁹⁸ Heijnen, H., and P. van der Sluijs. "Platelet Secretory Behaviour: As Diverse as the Granules ... Or Not?". *J Thromb Haemost* 13, no. 12 (Dec 2015): 2141-51.
- ⁹⁹ Weiss, H. J., and B. Lages. "Platelet Prothrombinase Activity and Intracellular Calcium Responses in Patients with Storage Pool Deficiency, Glycoprotein IIB/IIIa Deficiency, or Impaired Platelet Coagulant Activity--a Comparison with Scott Syndrome." *Blood* 89, no. 5 (Mar 01 1997): 1599-611.
- ¹⁰⁰ Walker, R. K., and S. Krishnaswamy. "The Activation of Prothrombin by the Prothrombinase Complex. The Contribution of the Substrate-Membrane Interaction to Catalysis." *J Biol Chem* 269, no. 44 (Nov 04 1994): 27441-50.
- ¹⁰¹ Lhermusier, T., H. Chap, and B. Payrastre. "Platelet Membrane Phospholipid Asymmetry: From the Characterization of a Scramblase Activity to the Identification of an Essential Protein Mutated in Scott Syndrome." *J Thromb Haemost* 9, no. 10 (Oct 2011): 1883-91.
- ¹⁰² Ciferri, S., C. Emiliani, G. Guglielmini, A. Orlacchio, G. G. Nenci, and P. Gresele. "Platelets Release Their Lysosomal Content in Vivo in Humans Upon Activation." [In eng]. *Thromb Haemost* 83, no. 1 (Jan 2000): 157-64.
- ¹⁰³ Rumbaut, R. E., and P. Thiagarajan. In *Platelet-Vessel Wall Interactions in Hemostasis and Thrombosis*. Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function to Disease. San Rafael (CA), 2010.
- ¹⁰⁴ Schick, P. K., J. Walker, B. Profeta, L. Denisova, and V. Bennett. "Synthesis and Secretion of Von Willebrand Factor and Fibronectin in Megakaryocytes at Different Phases of Maturation." *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17, no. 4 (Apr 1997): 797-801.
- ¹⁰⁵ Lenting, P. J., J. N. Pegon, E. Groot, and P. G. de Groot. "Regulation of Von Willebrand Factor-Platelet Interactions." *Thromb Haemost* 104, no. 3 (Sep 2010): 449-55.
- ¹⁰⁶ De Luca, M., D. A. Facey, E. J. Favaloro, M. S. Hertzberg, J. C. Whisstock, T. McNally, R. K. Andrews, and M. C. Berndt. "Structure and Function of the Von Willebrand Factor A1 Domain: Analysis with Monoclonal Antibodies Reveals Distinct Binding Sites Involved in Recognition of the Platelet Membrane Glycoprotein IIB/IIIa-V Complex and Ristocetin-Dependent Activation." *Blood* 95, no. 1 (Jan 01 2000): 164-72.
- ¹⁰⁷ Dorsam, R. T., and S. P. Kunapuli. "Central Role of the P2y12 Receptor in Platelet Activation." *J Clin Invest* 113, no. 3 (Feb 2004): 340-5.

-
- ¹⁰⁸ Chen, H., D. Locke, Y. Liu, C. Liu, and M. L. Kahn. "The Platelet Receptor Gpvi Mediates Both Adhesion and Signaling Responses to Collagen in a Receptor Density-Dependent Fashion." *J Biol Chem* 277, no. 4 (Jan 25 2002): 3011-9.
- ¹⁰⁹ Sarratt, K. L., H. Chen, M. M. Zutter, S. A. Santoro, D. A. Hammer, and M. L. Kahn. "Gpvi and Alpha2beta1 Play Independent Critical Roles During Platelet Adhesion and Aggregate Formation to Collagen under Flow." *Blood* 106, no. 4 (Aug 15 2005): 1268-77.
- ¹¹⁰ Jung, S. M., and M. Moroi. "Platelet Glycoprotein Vi." *Adv Exp Med Biol* 640 (2008): 53-63.
- ¹¹¹ Pötzsch, B., K. Madlener. *Hämostaseologie: Grundlagen, Diagnostik Und Therapie*. Vol. 2: 16-20. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 2010.
- ¹¹² Aslan, J. E., A. Itakura, J. M. Gertz, and O. J. McCarty. "Platelet Shape Change and Spreading." *Methods Mol Biol* 788 (2012): 91-100.
- ¹¹³ Kahn, M. L., Y. W. Zheng, W. Huang, V. Bigornia, D. Zeng, S. Moff, R. V. Farese, Jr., C. Tam, and S. R. Coughlin. "A Dual Thrombin Receptor System for Platelet Activation." *Nature* 394, no. 6694 (Aug 13 1998): 690-4.
- ¹¹⁴ Brass, L. F. "Thrombin and Platelet Activation." *Chest* 124, no. 3 Suppl (Sep 2003): 18S-25S.
- ¹¹⁵ Greenberg, C. S., C. C. Miraglia, F. R. Rickles, and M. A. Shuman. "Cleavage of Blood Coagulation Factor Xiii and Fibrinogen by Thrombin During in Vitro Clotting." *J Clin Invest* 75, no. 5 (May 1985): 1463-70.
- ¹¹⁶ Kitchens, C. S., and T. F. Newcomb. "Factor Xiii." *Medicine (Baltimore)* 58, no. 6 (Nov 1979): 413-29.
- ¹¹⁷ Lorand, L., and J. T. Radek. "Activation of Human Plasma Factor Xiii by Thrombin." In *Thrombin: Structure and Function*, edited by Lawrence J. Berliner, 257-71. Boston, MA: Springer US, 1992.
- ¹¹⁸ Lisman, T., C. Weeterings, and P. G. de Groot. "Platelet Aggregation: Involvement of Thrombin and Fibrin(Ogen)." *Front Biosci* 10 (Sep 01 2005): 2504-17.
- ¹¹⁹ Ruggeri, Z. M. "Platelet Adhesion under Flow." *Microcirculation* 16, no. 1 (Jan 2009): 58-83.
- ¹²⁰ Badimon, L., T. Padro, and G. Vilahur. "Atherosclerosis, Platelets and Thrombosis in Acute Ischaemic Heart Disease." *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care* 1, no. 1 (Apr 2012): 60-74.
- ¹²¹ Hu, S., Y. Zhu, Y. Zhang, J. Dai, L. Li, H. Dauerman, T. Soeda, *et al.* "Management and Outcome of Patients with Acute Coronary Syndrome Caused by Plaque Rupture Versus Plaque Erosion: An Intravascular Optical Coherence Tomography Study." *J Am Heart Assoc* 6, no. 3 (Feb 24 2017).
- ¹²² Rubenstein, M. D., R. T. Wall, D. S. Baim, and D. C. Harrison. "Platelet Activation in Clinical Coronary Artery Disease and Spasm." *Am Heart J* 102, no. 3 Pt 1 (Sep 1981): 363-7.
- ¹²³ Zhang, S. Z., Y. P. Jin, G. M. Qin, and J. H. Wang. "Association of Platelet-Monocyte Aggregates with Platelet Activation, Systemic Inflammation, and Myocardial Injury in Patients with Non-St Elevation Acute Coronary Syndromes." *Clin Cardiol* 30, no. 1 (Jan 2007): 26-31.

-
- ¹²⁴ Fitzgerald, D. J., L. Roy, F. Catella, and G. A. FitzGerald. "Platelet Activation in Unstable Coronary Disease." *N Engl J Med* 315, no. 16 (Oct 16 1986): 983-9.
- ¹²⁵ Gasperetti, C. M., S. L. Gonias, L. W. Gimple, and E. R. Powers. "Platelet Activation During Coronary Angioplasty in Humans." *Circulation* 88, no. 6 (Dec 1993): 2728-34.
- ¹²⁶ Stepien, E., E. Stankiewicz, J. Zalewski, J. Godlewski, K. Zmudka, and I. Wybranska. "Number of Microparticles Generated During Acute Myocardial Infarction and Stable Angina Correlates with Platelet Activation." *Arch Med Res* 43, no. 1 (Jan 2012): 31-5.
- ¹²⁷ Italiano, J. E., Jr., A. T. Mairuhu, and R. Flaumenhaft. "Clinical Relevance of Microparticles from Platelets and Megakaryocytes." *Curr Opin Hematol* 17, no. 6 (Nov 2010): 578-84.
- ¹²⁸ Vogel, S., M. Chatterjee, K. Metzger, O. Borst, T. Geisler, P. Seizer, I. Muller, et al. "Activated Platelets Interfere with Recruitment of Mesenchymal Stem Cells to Apoptotic Cardiac Cells Via High Mobility Group Box 1/Toll-Like Receptor 4-Mediated Down-Regulation of Hepatocyte Growth Factor Receptor Met." *J Biol Chem* 289, no. 16 (Apr 18 2014): 11068-82.
- ¹²⁹ Nurden, A. T. "Platelets, Inflammation and Tissue Regeneration." *Thromb Haemost* 105 Suppl 1 (May 2011): S13-33.
- ¹³⁰ Spartalis, E., P. Tomos, D. Moris, A. Athanasiou, C. Markakis, M. D. Spartalis, T. Troupis, D. Dimitroulis, and D. Perrea. "Role of Platelet-Rich Plasma in Ischemic Heart Disease: An Update on the Latest Evidence." *World J Cardiol* 7, no. 10 (Oct 26 2015): 665-70.
- ¹³¹ Vane, J. R., R. J. Flower, and R. M. Botting. "History of Aspirin and Its Mechanism of Action." *Stroke* 21, no. 12 Suppl (Dec 1990): IV12-23.
- ¹³² Dai, Y., and J. Ge. "Clinical Use of Aspirin in Treatment and Prevention of Cardiovascular Disease." *Thrombosis* 2012 (2012): 245037.
- ¹³³ Wu, H. "[Calcium Signaling in Platelet Activation]." *Sheng Li Ke Xue Jin Zhan* 43, no. 6 (Dec 2012): 417-21.
- ¹³⁴ Mehta, J. L. "Influence of Calcium-Channel Blockers on Platelet Function and Arachidonic Acid Metabolism." *Am J Cardiol* 55, no. 3 (Jan 25 1985): 158B-64B.
- ¹³⁵ Freissmuth, M., S. Offermanns, S. Böhm. *Pharmakologie Und Toxikologie: Von Den Molekularen Grundlagen Zur Pharmakotherapie*. Vol. 1, Heidelberg: Springer-Verlag, 2012.
- ¹³⁶ Schror, K. "Aspirin and Platelets: The Antiplatelet Action of Aspirin and Its Role in Thrombosis Treatment and Prophylaxis." *Semin Thromb Hemost* 23, no. 4 (1997): 349-56.
- ¹³⁷ Keaney, J. F., Jr. "Balancing the Risks and Benefits of Dual Platelet Inhibition." *N Engl J Med* 372, no. 19 (May 7 2015): 1854-6.
- ¹³⁸ Woulfe, D., J. Yang, and L. Brass. "Adp and Platelets: The End of the Beginning." *J Clin Invest* 107, no. 12 (Jun 2001): 1503-5.
- ¹³⁹ Bednar, F., J. Kroupa, M. Ondrakova, P. Osmancik, M. Kopa, and Z. Motovska. "Antiplatelet Efficacy of P2y12 Inhibitors (Prasugrel, Ticagrelor, Clopidogrel) in Patients Treated with Mild Therapeutic Hypothermia after Cardiac Arrest Due to Acute Myocardial Infarction." *J Thromb Thrombolysis* 41, no. 4 (May 2016): 549-55.

-
- ¹⁴⁰ Benezet-Mazuecos, J., B. Ibanez, and J. J. Badimon. "Dual Antiplatelet Therapy and Drug Eluting Stents: A Marriage of Convenience." *Thromb J* 5 (Oct 01 2007): 15.
- ¹⁴¹ Mauri, L., D. J. Kereiakes, R. W. Yeh, P. Driscoll-Shempp, D. E. Cutlip, P. G. Steg, S. L. Normand, *et al.* "Twelve or 30 Months of Dual Antiplatelet Therapy after Drug-Eluting Stents." *N Engl J Med* 371, no. 23 (Dec 4 2014): 2155-66.
- ¹⁴² Leon, M. B., D. S. Baim, J. J. Popma, P. C. Gordon, D. E. Cutlip, K. K. Ho, A. Giambartolomei, *et al.* "A Clinical Trial Comparing Three Antithrombotic-Drug Regimens after Coronary-Artery Stenting. Stent Anticoagulation Restenosis Study Investigators." *N Engl J Med* 339, no. 23 (Dec 3 1998): 1665-71.
- ¹⁴³ Graves, D. T., and Y. Jiang. "Chemokines, a Family of Chemotactic Cytokines." *Crit Rev Oral Biol Med* 6, no. 2 (1995): 109-18.
- ¹⁴⁴ Allen, S. J., S. E. Crown, and T. M. Handel. "Chemokine: Receptor Structure, Interactions, and Antagonism." *Annu Rev Immunol* 25 (2007): 787-820.
- ¹⁴⁵ Fernandez, E. J., and E. Lolis. "Structure, Function, and Inhibition of Chemokines." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 42 (2002): 469-99.
- ¹⁴⁶ DeVries, M. E., A. A. Kelvin, L. Xu, L. Ran, J. Robinson, and D. J. Kelvin. "Defining the Origins and Evolution of the Chemokine/Chemokine Receptor System." *J Immunol* 176, no. 1 (Jan 01 2006): 401-15.
- ¹⁴⁷ Mahalingam, S., and G. Karupiah. "Chemokines and Chemokine Receptors in Infectious Diseases." *Immunol Cell Biol* 77, no. 6 (Dec 1999): 469-75.
- ¹⁴⁸ Lodowski, D. T., and K. Palczewski. "Chemokine Receptors and Other G Protein-Coupled Receptors." *Curr Opin HIV AIDS* 4, no. 2 (Mar 2009): 88-95.
- ¹⁴⁹ Kufareva, I., C. L. Salanga, and T. M. Handel. "Chemokine and Chemokine Receptor Structure and Interactions: Implications for Therapeutic Strategies." *Immunol Cell Biol* 93, no. 4 (Apr 2015): 372-83.
- ¹⁵⁰ Cavallaro, S. "Cxcr4/Cxcl12 in Non-Small-Cell Lung Cancer Metastasis to the Brain." *Int J Mol Sci* 14, no. 1 (Jan 15 2013): 1713-27.
- ¹⁵¹ Xu, F., J. Shi, B. Yu, W. Ni, X. Wu, and Z. Gu. "Chemokines Mediate Mesenchymal Stem Cell Migration toward Gliomas in Vitro." *Oncol Rep* 23, no. 6 (Jun 2010): 1561-7.
- ¹⁵² Buc, M., and M. Bucova. "[Chemokines]." *Bratisl Lek Listy* 101, no. 9 (2000): 507-11.
- ¹⁵³ Nomiyama, H., A. Mera, O. Ohneda, R. Miura, T. Suda, and O. Yoshie. "Organization of the Chemokine Genes in the Human and Mouse Major Clusters of Cc and Cxc Chemokines: Diversification between the Two Species." *Genes Immun* 2, no. 2 (Apr 2001): 110-3.
- ¹⁵⁴ Shirozu, M., T. Nakano, J. Inazawa, K. Tashiro, H. Tada, T. Shinohara, and T. Honjo. "Structure and Chromosomal Localization of the Human Stromal Cell-Derived Factor 1 (Sdf1) Gene." *Genomics* 28, no. 3 (Aug 10 1995): 495-500.
- ¹⁵⁵ Nagasawa, T., K. Tachibana, and T. Kishimoto. "A Novel Cxc Chemokine Pbsf/Sdf-1 and Its Receptor Cxcr4: Their Functions in Development, Hematopoiesis and Hiv Infection." *Semin Immunol* 10, no. 3 (Jun 1998): 179-85.

-
- ¹⁵⁶ Nagasawa, T., H. Kikutani, and T. Kishimoto. "Molecular Cloning and Structure of a Pre-B-Cell Growth-Stimulating Factor." *Proc Natl Acad Sci U S A* 91, no. 6 (Mar 15 1994): 2305-9.
- ¹⁵⁷ Allami, R. H., C. Graf, K. Martchenko, B. Voss, M. Becker, M. R. Berger, P. R. Galle, *et al.* "Analysis of the Expression of Sdf-1 Splicing Variants in Human Colorectal Cancer and Normal Mucosa Tissues." *Oncol Lett* 11, no. 3 (Mar 2016): 1873-78.
- ¹⁵⁸ Yun, H. J., and D. Y. Jo. "Production of Stromal Cell-Derived Factor-1 (Sdf-1) and Expression of Cxcr4 in Human Bone Marrow Endothelial Cells." *J Korean Med Sci* 18, no. 5 (Oct 2003): 679-85.
- ¹⁵⁹ Lau, T. T., and D. A. Wang. "Stromal Cell-Derived Factor-1 (Sdf-1): Homing Factor for Engineered Regenerative Medicine." *Expert Opin Biol Ther* 11, no. 2 (Feb 2011): 189-97.
- ¹⁶⁰ Liepelt, A., and F. Tacke. "Stromal Cell-Derived Factor-1 (Sdf-1) as a Target in Liver Diseases." *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 311, no. 2 (Aug 1 2016): G203-9.
- ¹⁶¹ Cipriani, P., A. Franca Milia, V. Liakouli, A. Pacini, M. Manetti, A. Marrelli, A. Toscano, *et al.* "Differential Expression of Stromal Cell-Derived Factor 1 and Its Receptor Cxcr4 in the Skin and Endothelial Cells of Systemic Sclerosis Patients: Pathogenetic Implications." *Arthritis Rheum* 54, no. 9 (Sep 2006): 3022-33.
- ¹⁶² Yu, L., J. Cecil, S. B. Peng, J. Schrementi, S. Kovacevic, D. Paul, E. W. Su, and J. Wang. "Identification and Expression of Novel Isoforms of Human Stromal Cell-Derived Factor 1." *Gene* 374 (Jun 7 2006): 174-9.
- ¹⁶³ Chen, D., Y. Xia, K. Zuo, Y. Wang, S. Zhang, D. Kuang, Y. Duan, X. Zhao, and G. Wang. "Crosstalk between Sdf-1/Cxcr4 and Sdf-1/Cxcr7 in Cardiac Stem Cell Migration." *Sci Rep* 5 (Nov 18 2015): 16813.
- ¹⁶⁴ Gazitt, Y., and Q. Liu. "Plasma Levels of Sdf-1 and Expression of Sdf-1 Receptor on Cd34+ Cells in Mobilized Peripheral Blood of Non-Hodgkin's Lymphoma Patients." *Stem Cells* 19, no. 1 (2001): 37-45.
- ¹⁶⁵ Wurster, T., K. Stellos, M. Haap, P. Seizer, T. Geisler, J. Otton, A. Indermuehle, *et al.* "Platelet Expression of Stromal-Cell-Derived Factor-1 (Sdf-1): An Indicator for Acs?". *Int J Cardiol* 164, no. 1 (Mar 20 2013): 111-5.
- ¹⁶⁶ Deshane, J., S. Chen, S. Caballero, A. Grochot-Przeczek, H. Was, S. Li Calzi, R. Lach, *et al.* "Stromal Cell-Derived Factor 1 Promotes Angiogenesis Via a Heme Oxygenase 1-Dependent Mechanism." *J Exp Med* 204, no. 3 (Mar 19 2007): 605-18.
- ¹⁶⁷ Liu, X., B. Duan, Z. Cheng, X. Jia, L. Mao, H. Fu, Y. Che, *et al.* "Sdf-1/Cxcr4 Axis Modulates Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Apoptosis, Migration and Cytokine Secretion." *Protein Cell* 2, no. 10 (Oct 2011): 845-54.
- ¹⁶⁸ Janowski, M. "Functional Diversity of Sdf-1 Splicing Variants." *Cell Adh Migr* 3, no. 3 (Jul-Sep 2009): 243-9.
- ¹⁶⁹ Vagima, Y., K. Lapid, O. Kollet, P. Goichberg, R. Alon, and T. Lapidot. "Pathways Implicated in Stem Cell Migration: The Sdf-1/Cxcr4 Axis." *Methods Mol Biol* 750 (2011): 277-89.

-
- ¹⁷⁰ Nagasawa, T., S. Hirota, K. Tachibana, N. Takakura, S. Nishikawa, Y. Kitamura, N. Yoshida, H. Kikutani, and T. Kishimoto. "Defects of B-Cell Lymphopoiesis and Bone-Marrow Myelopoiesis in Mice Lacking the Cxc Chemokine Pbsf/Sdf-1." *Nature* 382, no. 6592 (Aug 15 1996): 635-8.
- ¹⁷¹ Burns, J. M., B. C. Summers, Y. Wang, A. Melikian, R. Berahovich, Z. Miao, M. E. Penfold, *et al.* "A Novel Chemokine Receptor for Sdf-1 and I-Tac Involved in Cell Survival, Cell Adhesion, and Tumor Development." *J Exp Med* 203, no. 9 (Sep 04 2006): 2201-13.
- ¹⁷² Peled, A., V. Grabovsky, L. Habler, J. Sandbank, F. Arenzana-Seisdedos, I. Petit, H. Ben-Hur, T. Lapidot, and R. Alon. "The Chemokine Sdf-1 Stimulates Integrin-Mediated Arrest of Cd34(+) Cells on Vascular Endothelium under Shear Flow." *J Clin Invest* 104, no. 9 (Nov 1999): 1199-211.
- ¹⁷³ Penn, M. S. "Importance of the Sdf-1:Cxcr4 Axis in Myocardial Repair." *Circ Res* 104, no. 10 (May 22 2009): 1133-5.
- ¹⁷⁴ Hu, X., S. Dai, W. J. Wu, W. Tan, X. Zhu, J. Mu, Y. Guo, R. Bolli, and G. Rokosh. "Stromal Cell Derived Factor-1 Alpha Confers Protection against Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury: Role of the Cardiac Stromal Cell Derived Factor-1 Alpha Cxcr4 Axis." *Circulation* 116, no. 6 (Aug 07 2007): 654-63.
- ¹⁷⁵ Ceradini, D. J., A. R. Kulkarni, M. J. Callaghan, O. M. Tepper, N. Bastidas, M. E. Kleinman, J. M. Capla, *et al.* "Progenitor Cell Trafficking Is Regulated by Hypoxic Gradients through Hif-1 Induction of Sdf-1." *Nat Med* 10, no. 8 (Aug 2004): 858-64.
- ¹⁷⁶ Rath, D., M. Chatterjee, A. Bongartz, K. Muller, M. Droppa, F. Stimpfle, O. Borst, *et al.* "Platelet Surface Expression of Sdf-1 Is Associated with Clinical Outcomes in the Patients with Cardiovascular Disease." *Platelets* 28, no. 1 (Jan 2017): 34-39.
- ¹⁷⁷ Rath, D., M. Chatterjee, O. Borst, K. Muller, H. Langer, A. F. Mack, M. Schwab, *et al.* "Platelet Surface Expression of Stromal Cell-Derived Factor-1 Receptors Cxcr4 and Cxcr7 Is Associated with Clinical Outcomes in Patients with Coronary Artery Disease." *J Thromb Haemost* 13, no. 5 (May 2015): 719-28.
- ¹⁷⁸ Stellos, K., and M. Gawaz. "Platelets and Stromal Cell-Derived Factor-1 in Progenitor Cell Recruitment." *Semin Thromb Hemost* 33, no. 2 (Mar 2007): 159-64.
- ¹⁷⁹ Geisler, T., L. Fekecs, T. Wurster, A. Chiribiri, A. Schuster, E. Nagel, S. Miller, *et al.* "Association of Platelet-Sdf-1 with Hemodynamic Function and Infarct Size Using Cardiac Mr in Patients with Ami." *Eur J Radiol* 81, no. 4 (Apr 2012): e486-90.
- ¹⁸⁰ Federspiel, B., I. G. Melhado, A. M. Duncan, A. Delaney, K. Schappert, I. Clark-Lewis, and F. R. Jirik. "Molecular Cloning of the Cdna and Chromosomal Localization of the Gene for a Putative Seven-Transmembrane Segment (7-Tms) Receptor Isolated from Human Spleen." *Genomics* 16, no. 3 (Jun 1993): 707-12.
- ¹⁸¹ Loetscher, M., T. Geiser, T. O'Reilly, R. Zwahlen, M. Baggiolini, and B. Moser. "Cloning of a Human Seven-Transmembrane Domain Receptor,

-
- Lestr, That Is Highly Expressed in Leukocytes." *J Biol Chem* 269, no. 1 (Jan 07 1994): 232-7.
- ¹⁸² Crump, M. P., J. H. Gong, P. Loetscher, K. Rajarathnam, A. Amara, F. Arenzana-Seisdedos, J. L. Virelizier, *et al.* "Solution Structure and Basis for Functional Activity of Stromal Cell-Derived Factor-1; Dissociation of Cxcr4 Activation from Binding and Inhibition of Hiv-1." *EMBO J* 16, no. 23 (Dec 01 1997): 6996-7007.
- ¹⁸³ Berger, E. A. "Finding Fusin/Cxcr4, the First "2nd Receptor" for Hiv Entry." *Front Immunol* 6 (2015): 283.
- ¹⁸⁴ Doring, Y., L. Pawig, C. Weber, and H. Noels. "The Cxcl12/Cxcr4 Chemokine Ligand/Receptor Axis in Cardiovascular Disease." *Front Physiol* 5 (2014): 212.
- ¹⁸⁵ Balabanian, K., B. Lagane, S. Infantino, K. Y. Chow, J. Harriague, B. Moepps, F. Arenzana-Seisdedos, M. Thelen, and F. Bachelierie. "The Chemokine Sdf-1/Cxcl12 Binds to and Signals through the Orphan Receptor Rdc1 in T Lymphocytes." *J Biol Chem* 280, no. 42 (Oct 21 2005): 35760-6.
- ¹⁸⁶ Murdoch, C. "Cxcr4: Chemokine Receptor Extraordinaire." *Immunol Rev* 177 (Oct 2000): 175-84.
- ¹⁸⁷ Ma, Q., D. Jones, P. R. Borghesani, R. A. Segal, T. Nagasawa, T. Kishimoto, R. T. Bronson, and T. A. Springer. "Impaired B-Lymphopoiesis, Myelopoiesis, and Derailed Cerebellar Neuron Migration in Cxcr4- and Sdf-1-Deficient Mice." *Proc Natl Acad Sci U S A* 95, no. 16 (Aug 04 1998): 9448-53.
- ¹⁸⁸ Molino, M., M. J. Woolkalis, N. Prevost, D. Pratico, E. S. Barnathan, G. Taraboletti, B. S. Haggarty, *et al.* "Cxcr4 on Human Endothelial Cells Can Serve as Both a Mediator of Biological Responses and as a Receptor for Hiv-2." *Biochim Biophys Acta* 1500, no. 2 (Feb 21 2000): 227-40.
- ¹⁸⁹ Ratajczak, M. Z., M. Kucia, R. Reca, M. Majka, A. Janowska-Wieczorek, and J. Ratajczak. "Stem Cell Plasticity Revisited: Cxcr4-Positive Cells Expressing Mrna for Early Muscle, Liver and Neural Cells 'Hide out' in the Bone Marrow." *Leukemia* 18, no. 1 (Jan 2004): 29-40.
- ¹⁹⁰ Wang, J. F., Z. Y. Liu, and J. E. Gropman. "The Alpha-Chemokine Receptor Cxcr4 Is Expressed on the Megakaryocytic Lineage from Progenitor to Platelets and Modulates Migration and Adhesion." [In eng]. *Blood* 92, no. 3 (Aug 01 1998): 756-64.
- ¹⁹¹ Jordan, N. J., G. Kolios, S. E. Abbot, M. A. Sinai, D. A. Thompson, K. Petraki, and J. Westwick. "Expression of Functional Cxcr4 Chemokine Receptors on Human Colonic Epithelial Cells." *J Clin Invest* 104, no. 8 (Oct 1999): 1061-9.
- ¹⁹² Murdoch, C., P. N. Monk, and A. Finn. "Functional Expression of Chemokine Receptor Cxcr4 on Human Epithelial Cells." *Immunology* 98, no. 1 (Sep 1999): 36-41.
- ¹⁹³ Burger, J. A., and T. J. Kipps. "Cxcr4: A Key Receptor in the Crosstalk between Tumor Cells and Their Microenvironment." *Blood* 107, no. 5 (Mar 01 2006): 1761-7.

-
- ¹⁹⁴ Lee, H. J., S. W. Kim, H. Y. Kim, S. Li, H. J. Yun, K. S. Song, S. Kim, and D. Y. Jo. "Chemokine Receptor Cxcr4 Expression, Function, and Clinical Implications in Gastric Cancer." *Int J Oncol* 34, no. 2 (Feb 2009): 473-80.
- ¹⁹⁵ Domanska, U. M., R. C. Kruizinga, W. B. Nagengast, H. Timmer-Bosscha, G. Huls, E. G. de Vries, and A. M. Walenkamp. "A Review on Cxcr4/Cxcl12 Axis in Oncology: No Place to Hide." *Eur J Cancer* 49, no. 1 (Jan 2013): 219-30.
- ¹⁹⁶ Tu, T. C., M. Nagano, T. Yamashita, H. Hamada, K. Ohneda, K. Kimura, and O. Ohneda. "A Chemokine Receptor, Cxcr4, Which Is Regulated by Hypoxia-Inducible Factor 2alpha, Is Crucial for Functional Endothelial Progenitor Cells Migration to Ischemic Tissue and Wound Repair." *Stem Cells Dev* 25, no. 3 (Feb 1 2016): 266-76.
- ¹⁹⁷ Schioppa, T., B. Uranchimeg, A. Sacconi, S. K. Biswas, A. Doni, A. Rapisarda, S. Bernasconi, *et al.* "Regulation of the Chemokine Receptor Cxcr4 by Hypoxia." *J Exp Med* 198, no. 9 (Nov 3 2003): 1391-402.
- ¹⁹⁸ Yu, Q., L. Liu, J. Lin, Y. Wang, X. Xuan, Y. Guo, and S. Hu. "Sdf-1alpha/Cxcr4 Axis Mediates the Migration of Mesenchymal Stem Cells to the Hypoxic-Ischemic Brain Lesion in a Rat Model." *Cell J* 16, no. 4 (Winter 2015): 440-7.
- ¹⁹⁹ Guo, M., C. Cai, G. Zhao, X. Qiu, H. Zhao, Q. Ma, L. Tian, *et al.* "Hypoxia Promotes Migration and Induces Cxcr4 Expression Via Hif-1alpha Activation in Human Osteosarcoma." *PLoS One* 9, no. 3 (2014): e90518.
- ²⁰⁰ Romain, B., M. Hachet-Haas, S. Rohr, C. Brigand, J. L. Galzi, M. P. Gaub, E. Pencreach, and D. Guenot. "Hypoxia Differentially Regulated Cxcr4 and Cxcr7 Signaling in Colon Cancer." *Mol Cancer* 13 (Mar 14 2014): 58.
- ²⁰¹ Penn, M. S., J. Pastore, T. Miller, and R. Aras. "Sdf-1 in Myocardial Repair." *Gene Ther* 19, no. 6 (Jun 2012): 583-7.
- ²⁰² Cheng, M., and G. Qin. "Progenitor Cell Mobilization and Recruitment: Sdf-1, Cxcr4, Alpha4-Integrin, and C-Kit." *Prog Mol Biol Transl Sci* 111 (2012): 243-64.
- ²⁰³ Beltrami, A. P., L. Barlucchi, D. Torella, M. Baker, F. Limana, S. Chimenti, H. Kasahara, *et al.* "Adult Cardiac Stem Cells Are Multipotent and Support Myocardial Regeneration." *Cell* 114, no. 6 (Sep 19 2003): 763-76.
- ²⁰⁴ Kajstura, J., K. Urbanek, M. Rota, C. Bearzi, T. Hosoda, R. Bolli, P. Anversa, and A. Leri. "Cardiac Stem Cells and Myocardial Disease." *J Mol Cell Cardiol* 45, no. 4 (Oct 2008): 505-13.
- ²⁰⁵ Wang, E. R., A. A. Jarrah, L. Benard, J. Chen, M. Schwarzkopf, L. Hadri, and S. T. Tarzami. "Deletion of Cxcr4 in Cardiomyocytes Exacerbates Cardiac Dysfunction Following Isoproterenol Administration." *Gene Ther* 21, no. 5 (May 2014): 496-506.
- ²⁰⁶ Mayorga, M., M. Kiedrowski, P. Shamhart, F. Forudi, K. Weber, W. M. Chilian, M. S. Penn, and F. Dong. "Early Upregulation of Myocardial Cxcr4 Expression Is Critical for Dimethylxylglycine-Induced Cardiac Improvement in Acute Myocardial Infarction." *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 310, no. 1 (Jan 01 2016): H20-8.
- ²⁰⁷ Singh, A. K., R. K. Arya, A. K. Trivedi, S. Sanyal, R. Baral, O. Dormond, D. M. Briscoe, and D. Datta. "Chemokine Receptor Trio: Cxcr3, Cxcr4 and

-
- Cxcr7 Crosstalk Via Cxcl11 and Cxcl12." *Cytokine Growth Factor Rev* 24, no. 1 (Feb 2013): 41-9.
- ²⁰⁸ Sun, X., G. Cheng, M. Hao, J. Zheng, X. Zhou, J. Zhang, R. S. Taichman, K. J. Pienta, and J. Wang. "Cxcl12 / Cxcr4 / Cxcr7 Chemokine Axis and Cancer Progression." *Cancer Metastasis Rev* 29, no. 4 (Dec 2010): 709-22.
- ²⁰⁹ Jones, S. W., S. M. Brockbank, M. L. Mobbs, N. J. Le Good, S. Soma-Haddrick, A. J. Heuze, C. J. Langham, *et al.* "The Orphan G-Protein Coupled Receptor Rdc1: Evidence for a Role in Chondrocyte Hypertrophy and Articular Cartilage Matrix Turnover." *Osteoarthritis Cartilage* 14, no. 6 (Jun 2006): 597-608.
- ²¹⁰ Russell, F. A., R. King, S. J. Smillie, X. Kodji, and S. D. Brain. "Calcitonin Gene-Related Peptide: Physiology and Pathophysiology." *Physiol Rev* 94, no. 4 (Oct 2014): 1099-142.
- ²¹¹ Hinson, J. P., S. Kapas, and D. M. Smith. "Adrenomedullin, a Multifunctional Regulatory Peptide." *Endocr Rev* 21, no. 2 (Apr 2000): 138-67.
- ²¹² Rajagopal, S., J. Kim, S. Ahn, S. Craig, C. M. Lam, N. P. Gerard, C. Gerard, and R. J. Lefkowitz. "Beta-Arrestin- but Not G Protein-Mediated Signaling by the "Decoy" Receptor Cxcr7." *Proc Natl Acad Sci U S A* 107, no. 2 (Jan 12 2010): 628-32.
- ²¹³ Naumann, U., E. Cameroni, M. Pruenster, H. Mahabaleshwar, E. Raz, H. G. Zerwes, A. Rot, and M. Thelen. "Cxcr7 Functions as a Scavenger for Cxcl12 and Cxcl11." *PLoS One* 5, no. 2 (Feb 11 2010): e9175.
- ²¹⁴ Levoye, A., K. Balabanian, F. Baleux, F. Bachelierie, and B. Lagane. "Cxcr7 Heterodimerizes with Cxcr4 and Regulates Cxcl12-Mediated G Protein Signaling." *Blood* 113, no. 24 (Jun 11 2009): 6085-93.
- ²¹⁵ Jiang, D., T. Xie, J. Liang, and P. W. Noble. "Beta-Arrestins in the Immune System." *Prog Mol Biol Transl Sci* 118 (2013): 359-93.
- ²¹⁶ Decailot, F. M., M. A. Kazmi, Y. Lin, S. Ray-Saha, T. P. Sakmar, and P. Sachdev. "Cxcr7/Cxcr4 Heterodimer Constitutively Recruits Beta-Arrestin to Enhance Cell Migration." *J Biol Chem* 286, no. 37 (Sep 16 2011): 32188-97.
- ²¹⁷ Rath, D., M. Chatterjee, O. Borst, K. Muller, K. Stellos, A. F. Mack, A. Bongartz, *et al.* "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, no. 6 (Feb 2014): 386-94.
- ²¹⁸ Tripathi, V., R. Verma, A. Dinda, N. Malhotra, J. Kaur, and K. Luthra. "Differential Expression of Rdc1/Cxcr7 in the Human Placenta." *J Clin Immunol* 29, no. 3 (May 2009): 379-86.
- ²¹⁹ Berahovich, R. D., B. A. Zabel, S. Lewen, M. J. Walters, K. Ebsworth, Y. Wang, J. C. Jaen, and T. J. Schall. "Endothelial Expression of Cxcr7 and the Regulation of Systemic Cxcl12 Levels." *Immunology* 141, no. 1 (Jan 2014): 111-22.
- ²²⁰ Esencay, M., Y. Sarfraz, and D. Zagzag. "Cxcr7 Is Induced by Hypoxia and Mediates Glioma Cell Migration Towards Sdf-1alpha." *BMC Cancer* 13 (Jul 17 2013): 347.

-
- ²²¹ Liu, H., S. Liu, Y. Li, X. Wang, W. Xue, G. Ge, and X. Luo. "The Role of Sdf-1-Cxcr4/Cxcr7 Axis in the Therapeutic Effects of Hypoxia-Preconditioned Mesenchymal Stem Cells for Renal Ischemia/Reperfusion Injury." *PLoS One* 7, no. 4 (2012): e34608.
- ²²² Costello, C. M., B. McCullagh, K. Howell, M. Sands, J. A. Belperio, M. P. Keane, S. Gaine, and P. McLoughlin. "A Role for the Cxcl12 Receptor, Cxcr7, in the Pathogenesis of Human Pulmonary Vascular Disease." *Eur Respir J* 39, no. 6 (Jun 2012): 1415-24.
- ²²³ Hao, H., S. Hu, H. Chen, D. Bu, L. Zhu, C. Xu, F. Chu, *et al.* "Loss of Endothelial Cxcr7 Impairs Vascular Homeostasis and Cardiac Remodeling after Myocardial Infarction: Implications for Cardiovascular Drug Discovery." *Circulation* 135, no. 13 (Mar 28 2017): 1253-64.
- ²²⁴ Rafii, S., Z. Cao, R. Lis, Siempos, II, D. Chavez, K. Shido, S. Y. Rabbany, and B. S. Ding. "Platelet-Derived Sdf-1 Primes the Pulmonary Capillary Vascular Niche to Drive Lung Alveolar Regeneration." *Nat Cell Biol* 17, no. 2 (Feb 2015): 123-36.
- ²²⁵ Cencioni, C., M. C. Capogrossi, and M. Napolitano. "The Sdf-1/Cxcr4 Axis in Stem Cell Preconditioning." *Cardiovasc Res* 94, no. 3 (Jun 1 2012): 400-7.
- ²²⁶ "World Medical Association Declaration of Helsinki. Recommendations Guiding Physicians in Biomedical Research Involving Human Subjects." *JAMA* 277, no. 11 (Mar 19 1997): 925-6.
- ²²⁷ "Ich Harmonised Tripartite Guideline: Guideline for Good Clinical Practice." *J Postgrad Med* 47, no. 3 (Jul-Sep 2001): 199-203.
- ²²⁸ Pillarisetti, K., and S. K. Gupta. "Cloning and Relative Expression Analysis of Rat Stromal Cell Derived Factor-1 (Sdf-1)1: Sdf-1 Alpha Mrna Is Selectively Induced in Rat Model of Myocardial Infarction." *Inflammation* 25, no. 5 (Oct 2001): 293-300.
- ²²⁹ Yamani, M. H., N. B. Ratliff, D. J. Cook, E. M. Tuzcu, Y. Yu, R. Hobbs, G. Rincon, *et al.* "Peritransplant Ischemic Injury Is Associated with up-Regulation of Stromal Cell-Derived Factor-1." *J Am Coll Cardiol* 46, no. 6 (Sep 20 2005): 1029-35.
- ²³⁰ "Gp1ba Glycoprotein Ib Platelet Alpha Subunit [Homo Sapiens (Human)] ". <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene?Db=gene&Cmd=DetailsSearch&Term=2811>
- ²³¹ Sloand, J. A., and E. M. Sloand. "Studies on Platelet Membrane Glycoproteins and Platelet Function During Hemodialysis." *J Am Soc Nephrol* 8, no. 5 (May 1997): 799-803.
- ²³² Herzenberg, L. A., D. Parks, B. Sahaf, O. Perez, M. Roederer, and L. A. Herzenberg. "The History and Future of the Fluorescence Activated Cell Sorter and Flow Cytometry: A View from Stanford." *Clin Chem* 48, no. 10 (Oct 2002): 1819-27.
- ²³³ Basu, S., H. M. Campbell, B. N. Dittel, and A. Ray. "Purification of Specific Cell Population by Fluorescence Activated Cell Sorting (Facs)." *J Vis Exp*, no. 41 (Jul 10 2010).
- ²³⁴ Osborne, Geoffrey W. "Chapter 2 - a Brief Introduction to Neural Flow Cytometry from a Practical Perspective A2 - Pruszek, Jan." In *Neural Surface Antigens*, 15-26. Boston: Academic Press, 2015.

-
- ²³⁵ Shapiro, H. M. "Lasers for Flow Cytometry." *Curr Protoc Cytom* Chapter 1 (Feb 2004): Unit 1 9.
- ²³⁶ Picot, J., C. L. Guerin, C. Le Van Kim, and C. M. Boulanger. "Flow Cytometry: Retrospective, Fundamentals and Recent Instrumentation." *Cytotechnology* 64, no. 2 (Mar 2012): 109-30.
- ²³⁷ Suinesiaputra, A., D. A. Bluemke, B. R. Cowan, M. G. Friedrich, C. M. Kramer, R. Kwong, S. Plein, *et al.* "Quantification of Lv Function and Mass by Cardiovascular Magnetic Resonance: Multi-Center Variability and Consensus Contours." *J Cardiovasc Magn Reson* 17 (Jul 28 2015): 63.
- ²³⁸ Grebe, O., H. A. Kestler, N. Merkle, J. Wohrle, M. Kochs, M. Hoher, and V. Hombach. "Assessment of Left Ventricular Function with Steady-State-Free-Precession Magnetic Resonance Imaging. Reference Values and a Comparison to Left Ventriculography." *Z Kardiol* 93, no. 9 (Sep 2004): 686-95.
- ²³⁹ Danilouchkine, M. G., J. J. Westenber, A. de Roos, J. H. Reiber, and B. P. Lelieveldt. "Operator Induced Variability in Cardiovascular Mr: Left Ventricular Measurements and Their Reproducibility." *J Cardiovasc Magn Reson* 7, no. 2 (2005): 447-57.
- ²⁴⁰ Hudsmith, L. E., S. E. Petersen, J. M. Francis, M. D. Robson, and S. Neubauer. "Normal Human Left and Right Ventricular and Left Atrial Dimensions Using Steady State Free Precession Magnetic Resonance Imaging." *J Cardiovasc Magn Reson* 7, no. 5 (2005): 775-82.
- ²⁴¹ Kara, B., A. Nayman, I. Guler, E. E. Gul, M. Koplay, and Y. Paksoy. "Quantitative Assessment of Left Ventricular Function and Myocardial Mass: A Comparison of Coronary Ct Angiography with Cardiac Mri and Echocardiography." *Pol J Radiol* 81 (2016): 95-102.
- ²⁴² Mahrholdt, H., A. Wagner, R. M. Judd, and U. Sechtem. "Assessment of Myocardial Viability by Cardiovascular Magnetic Resonance Imaging." *Eur Heart J* 23, no. 8 (Apr 2002): 602-19.
- ²⁴³ Kellman, P., and A. E. Arai. "Cardiac Imaging Techniques for Physicians: Late Enhancement." *J Magn Reson Imaging* 36, no. 3 (Sep 2012): 529-42.
- ²⁴⁴ Doltra, A., B. H. Amundsen, R. Gebker, E. Fleck, and S. Kelle. "Emerging Concepts for Myocardial Late Gadolinium Enhancement Mri." *Curr Cardiol Rev* 9, no. 3 (Aug 2013): 185-90.
- ²⁴⁵ Corcoran, D. "How to Measure Myocardial Infarct Size by Cardiac Magnetic Resonance Imaging ". *Heart Metab* 70 (2016): 14-18.
- ²⁴⁶ Walls, M. C., D. Verhaert, J. K. Min, and S. V. Raman. "Myocardial Edema Imaging in Acute Coronary Syndromes." *J Magn Reson Imaging* 34, no. 6 (Dec 2011): 1243-50.
- ²⁴⁷ Montant, P., M. Sigovan, D. Revel, and P. Douek. "Mr Imaging Assessment of Myocardial Edema with T2 Mapping." *Diagn Interv Imaging* 96, no. 9 (Sep 2015): 885-90.
- ²⁴⁸ Verhaert, D., P. Thavendiranathan, S. Giri, G. Mihai, S. Rajagopalan, O. P. Simonetti, and S. V. Raman. "Direct T2 Quantification of Myocardial Edema in Acute Ischemic Injury." *JACC Cardiovasc Imaging* 4, no. 3 (Mar 2011): 269-78.

-
- ²⁴⁹ Krumm, P., P. Martirosian, D. Rath, T. Zitzelsberger, C. A. Ruff, B. D. Klumpp, K. Nikolaou, *et al.* "Signal Decay Mapping of Myocardial Edema Using Dual-Contrast Fast Spin-Echo Mri." *J Magn Reson Imaging* 44, no. 1 (Jul 2016): 186-93.
- ²⁵⁰ Kumar, A., N. Beohar, J. M. Arumana, E. Larose, D. Li, M. G. Friedrich, and R. Dharmakumar. "Cmr Imaging of Edema in Myocardial Infarction Using Cine Balanced Steady-State Free Precession." *JACC Cardiovasc Imaging* 4, no. 12 (Dec 2011): 1265-73.
- ²⁵¹ Dai, X., Y. Tan, S. Cai, X. Xiong, L. Wang, Q. Ye, X. Yan, K. Ma, and L. Cai. "The Role of Cxcr7 on the Adhesion, Proliferation and Angiogenesis of Endothelial Progenitor Cells." *J Cell Mol Med* 15, no. 6 (Jun 2011): 1299-309.
- ²⁵² Schuh, A., A. Kroh, S. Korschalla, E. A. Liehn, R. M. Sobota, E. A. Biessen, I. Bot, *et al.* "Myocardial Regeneration by Transplantation of Modified Endothelial Progenitor Cells Expressing Sdf-1 in a Rat Model." *J Cell Mol Med* 16, no. 10 (Oct 2012): 2311-20.
- ²⁵³ Tögel, F. E., and C. Westenfelder. "Role of Sdf-1 as a Regulatory Chemokine in Renal Regeneration after Acute Kidney Injury." *Kidney Int Suppl* (2011) 1, no. 3 (Sep 2011): 87-89.
- ²⁵⁴ Ho, T. K., J. Tsui, S. Xu, P. Leoni, D. J. Abraham, and D. M. Baker. "Angiogenic Effects of Stromal Cell-Derived Factor-1 (Sdf-1/Cxcl12) Variants in Vitro and the in Vivo Expressions of Cxcl12 Variants and Cxcr4 in Human Critical Leg Ischemia." *J Vasc Surg* 51, no. 3 (Mar 2010): 689-99.
- ²⁵⁵ Deglurkar, I., N. Mal, W. R. Mills, Z. B. Popovic, P. McCarthy, E. H. Blackstone, K. R. Laurita, and M. S. Penn. "Mechanical and Electrical Effects of Cell-Based Gene Therapy for Ischemic Cardiomyopathy Are Independent." *Hum Gene Ther* 17, no. 11 (Nov 2006): 1144-51.
- ²⁵⁶ Sundararaman, S., T. J. Miller, J. M. Pastore, M. Kiedrowski, R. Aras, and M. S. Penn. "Plasmid-Based Transient Human Stromal Cell-Derived Factor-1 Gene Transfer Improves Cardiac Function in Chronic Heart Failure." *Gene Ther* 18, no. 9 (Sep 2011): 867-73.
- ²⁵⁷ Wollert, K. C., G. P. Meyer, J. Lotz, S. Ringes-Lichtenberg, P. Lippolt, C. Breidenbach, S. Fichtner, *et al.* "Intracoronary Autologous Bone-Marrow Cell Transfer after Myocardial Infarction: The Boost Randomised Controlled Clinical Trial." *Lancet* 364, no. 9429 (Jul 10-16 2004): 141-8.
- ²⁵⁸ Zhang, M., N. Mal, M. Kiedrowski, M. Chacko, A. T. Askari, Z. B. Popovic, O. N. Koc, and M. S. Penn. "Sdf-1 Expression by Mesenchymal Stem Cells Results in Trophic Support of Cardiac Myocytes after Myocardial Infarction." *FASEB J* 21, no. 12 (Oct 2007): 3197-207.
- ²⁵⁹ Shake, J. G., P. J. Gruber, W. A. Baumgartner, G. Senechal, J. Meyers, J. M. Redmond, M. F. Pittenger, and B. J. Martin. "Mesenchymal Stem Cell Implantation in a Swine Myocardial Infarct Model: Engraftment and Functional Effects." *Ann Thorac Surg* 73, no. 6 (Jun 2002): 1919-25; discussion 26.
- ²⁶⁰ Askari, A. T., S. Unzek, Z. B. Popovic, C. K. Goldman, F. Forudi, M. Kiedrowski, A. Rovner, *et al.* "Effect of Stromal-Cell-Derived Factor 1 on

-
- Stem-Cell Homing and Tissue Regeneration in Ischaemic Cardiomyopathy." *Lancet* 362, no. 9385 (Aug 30 2003): 697-703.
- ²⁶¹ Zernecke, A., A. Schober, I. Bot, P. von Hundelshausen, E. A. Liehn, B. Mopps, M. Mericskay, *et al.* "Sdf-1alpha/Cxcr4 Axis Is Instrumental in Neointimal Hyperplasia and Recruitment of Smooth Muscle Progenitor Cells." *Circ Res* 96, no. 7 (Apr 15 2005): 784-91.
- ²⁶² Massberg, S., I. Konrad, K. Schurzinger, M. Lorenz, S. Schneider, D. Zohlnhoefer, K. Hoppe, *et al.* "Platelets Secrete Stromal Cell-Derived Factor 1alpha and Recruit Bone Marrow-Derived Progenitor Cells to Arterial Thrombi in Vivo." *J Exp Med* 203, no. 5 (May 15 2006): 1221-33.
- ²⁶³ Stellos, K., B. Bigalke, H. Langer, T. Geisler, A. Schad, A. Kogel, F. Pfaff, *et al.* "Expression of Stromal-Cell-Derived Factor-1 on Circulating Platelets Is Increased in Patients with Acute Coronary Syndrome and Correlates with the Number of Cd34+ Progenitor Cells." *Eur Heart J* 30, no. 5 (Mar 2009): 584-93.
- ²⁶⁴ Jeevanantham, V., M. R. Afzal, E. K. Zuba-Surma, and B. Dawn. "Clinical Trials of Cardiac Repair with Adult Bone Marrow-Derived Cells." *Methods Mol Biol* 1036 (2013): 179-205.
- ²⁶⁵ Balogh, L., I. Czuriga, J. Hunyadi, L. Galuska, E. Kristof, and I. Edes. "[Effects of Autologous Bone Marrow Derived Cd34+ Stem Cells on the Left Ventricular Function Following Myocardial Infarction]." *Orv Hetil* 148, no. 6 (Feb 11 2007): 243-9.
- ²⁶⁶ Moll, N. M., and R. M. Ransohoff. "Cxcl12 and Cxcr4 in Bone Marrow Physiology." *Expert Rev Hematol* 3, no. 3 (Jun 2010): 315-22.
- ²⁶⁷ Kleemann, P., D. Papa, S. Vigil-Cruz, and R. Seifert. "Functional Reconstitution of the Human Chemokine Receptor Cxcr4 with G(I)/G(O)-Proteins in Sf9 Insect Cells." *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol* 378, no. 3 (Sep 2008): 261-74.
- ²⁶⁸ Hartmann, T. N., V. Grabovsky, R. Pasvolsky, Z. Shulman, E. C. Buss, A. Spiegel, A. Nagler, *et al.* "A Crosstalk between Intracellular Cxcr7 and Cxcr4 Involved in Rapid Cxcl12-Triggered Integrin Activation but Not in Chemokine-Triggered Motility of Human T Lymphocytes and Cd34+ Cells." *J Leukoc Biol* 84, no. 4 (Oct 2008): 1130-40.
- ²⁶⁹ Abdel-Aty, H. "Myocardial Edema Imaging of the Area at Risk in Acute Myocardial Infarction: Seeing through Water." *JACC Cardiovasc Imaging* 2, no. 7 (Jul 2009): 832-4.
- ²⁷⁰ Redfors, B., Y. Shao, and E. Omerovic. "Myocardial Infarct Size and Area at Risk Assessment in Mice." *Exp Clin Cardiol* 17, no. 4 (Winter 2012): 268-72.
- ²⁷¹ Califf, R. M., H. R. Phillips, 3rd, M. C. Hindman, D. B. Mark, K. L. Lee, V. S. Behar, R. A. Johnson, *et al.* "Prognostic Value of a Coronary Artery Jeopardy Score." *J Am Coll Cardiol* 5, no. 5 (May 1985): 1055-63.

8 Erklärung zum Eigenanteil

Die vorliegende Arbeit wurde in der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen unter Betreuung durch Professor Dr. med. Geisler, Abteilung Innere Medizin III, Kardiologie und Kreislauferkrankungen, durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Dr. med. Dominik Rath, Assistenzarzt für Innere Medizin und Kardiologie und Dr. med. Patrick Krumm, Facharzt für Radiologie. Sämtliche Versuche wurden nach Einarbeitung durch Labormitglieder (Lydia Laptev, Dr. Madhumita Chatterjee, Dr. Dominik Rath) und Doktoranden der Arbeitsgruppe (Lennart Meyer) von mir in Zusammenarbeit mit Lennart Meyer und Annabell Holtkamp durchgeführt. Um das Patientenkollektiv zu vergrößern, führte jeder Doktorand die Patientenrekrutierung sowie die laborchemischen Messungen durch. Dabei verwendeten alle drei Doktoranden stets dasselbe Messprotokoll. Neben der Untersuchung der thrombozytären Oberflächenexpression von CXCR4 und CXCR7, die diese Arbeit betrifft, wurde das Blut jedes rekrutierten Patienten nach STEMI zusätzlich auf die Apoptosemarker Annexin V und TMRE sowie die thrombozytäre Oberflächenexpression von TGF- β untersucht, die in dieser Arbeit nicht behandelt werden.

Abbildung 8 im Ergebnisteil stammt aus dem zur Veröffentlichung eingereichten Manuskript, das von Dr. med. Dominik Rath angefertigt wurde. Derzeitig befindet sich der Antrag auf Veröffentlichung noch in Bearbeitung. Die Auswertung der Ergebnisse sowie die statistische Analyse erfolgten in Zusammenarbeit mit Dr. Dominik Rath.

Ich versichere das Manuskript selbstständig nach Anleitung durch Dr. med. Dominik Rath und Dr. med. Patrick Krumm verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

9 Danksagung

Diesen Dank möchte ich all denjenigen aussprechen, die mit an dieser Arbeit beteiligt waren und mich während der Entstehung dieser Dissertation unterstützt haben.

Ich danke ganz besonders Prof. Dr. med. Tobias Geisler, Dr. med. Dominik Rath, Dr. med. Patrick Krumm für die gute Betreuung und Beratung. Ebenso möchte ich Lydia Laptev und Dr. Madhumita Chatterjee danken, die mir eine große Hilfe bei der Laborarbeit waren. Meinen beiden Mitstudierenden Lennart Meyer und Annabell Holtkamp danke ich für die gute Zusammenarbeit und gegenseitige Unterstützung. Nicht zuletzt geht auch ein besonderer Dank an die zahlreichen Studienteilnehmer, ohne die diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.