

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

**Thrombozytäres und zirkulierendes CXCL14:  
Assoziationen mit der symptomatischen koronaren  
Herzkrankheit**

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

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

**vorgelegt von**

**Schories, Christoph Maria**

**2025**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Professor Dr. D. Rath  
2. Berichterstatter: Privatdozent Dr. K. Althaus

Tag der Disputation: 25.02.2025

# Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	3
Abbildungsverzeichnis .....	6
Tabellenverzeichnis .....	8
Abkürzungsverzeichnis .....	10
1. Einleitung.....	13
1.1 Die koronare Herzkrankheit (KHK) .....	13
1.1.1 Definition der chronischen KHK und des akuten Koronarsyndroms.....	13
1.1.2 Epidemiologie der KHK.....	13
1.1.3 Ätiologie und Pathogenese der KHK .....	14
1.1.4 Risikofaktoren der KHK.....	17
1.1.5 Klinischer Verlauf und Therapie .....	18
1.1.5.1 Klassifikation und klinischer Verlauf der KHK.....	18
1.1.5.2 Klinischer Verlauf des ACS .....	18
1.1.5.3 Behandlung des CCS .....	19
1.1.5.4 Behandlung des ACS.....	21
1.1.5.5 Interventionelle Behandlung der KHK.....	22
1.2 Thrombozyten.....	24
1.2.1 Struktur der Thrombozyten .....	24
1.2.2 Aktivierung der Thrombozyten .....	26
1.2.3 Thrombozyten und vaskuläre Inflammation.....	28
1.2.4 Die Rolle der Thrombozyten in der Arteriosklerose .....	29
1.2.5 Antithrombozytäre Therapie bei der koronaren Herzkrankheit .....	30
1.3 Chemokine.....	30
1.3.1 Struktur und Funktion der Chemokine .....	30
1.3.2 Chemokin Rezeptoren .....	32

1.3.3	Das Chemokin CXCL14.....	33
1.4	Fragestellung .....	35
2.	Material und Methoden .....	37
2.1	Studienaufbau .....	37
2.2	Durchflusszytometrische Messungen .....	39
2.3	Enzym-linked immunosorbent assay (ELISA).....	39
2.4	Thrombozytenaggregations-Analyse.....	41
2.5	Ermittlung der linksventrikulären Ejektionsfraktion.....	41
2.6	Statistische Analyse.....	42
3.	Ergebnisse.....	44
3.1	Basischarakteristika und CXCL14 .....	44
3.2	CXCL14 und die Diagnose bei Aufnahme.....	46
3.3	CXCL14 und weitere Biomarker.....	50
3.4	CXCL14 und die LVEF.....	54
3.5	CXCL14 als prognostischer Marker.....	60
3.6	Analyse der Thrombozytenaggregation.....	67
4.	Diskussion .....	70
4.1	Fragestellung und Hauptergebnisse.....	70
4.2	CXCL14 und Thrombozyten .....	71
4.3	CXCL14 und die koronare Herzkrankheit.....	73
4.4	CXCL14 und die linksventrikuläre Ejektionsfraktion.....	76
4.5	CXCL14 und die Prognose von KHK-Patienten.....	78
4.6	CXCL14 Expression und Einflussfaktoren .....	80
4.7	Studienlimitationen.....	81

5. Zusammenfassung .....	84
6. Literaturliste.....	86
7. Erklärung zum Eigenanteil .....	97
8. Veröffentlichung.....	99
9. Danksagung .....	100

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Bildung einer arteriosklerotischen Plaque auf zellulärer Ebene, Erstellt mit BioRender.com.....	16
Abbildung 2: Schematische Darstellung der Zellbestandteile der Thrombozyten, sowie eines aktivierten Thrombozyten: links schematische Darstellung eines Thrombozyten und seiner Zellbestandteile; rechts ein aktivierter Thrombozyt mit Pseudopodien, Erstellt mit BioRender.com.....	26
Abbildung 3: Flussdiagramm des Studienaufbaus (Schories et al., 2023).....	38
Abbildung 4: Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig und die Diagnose bei Aufnahme; $p=0,008$ , $p=0,012$ (Schories et al., 2023).....	46
Abbildung 5: CXCL14 pg/ml Ig im Plasma und die Diagnose bei Aufnahme (Schories et al., 2023).....	48
Abbildung 6: Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig und im Plasma zirkulierendes CXCL14 pg/ml; $r=-0,150$ , $p=0,002$ Ig (Schories et al., 2023).....	50
Abbildung 7: Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig und thrombozytäres CD62p MFI Ig; $r=0,636$ , $p<0,001$ (Schories et al., 2023).....	51
Abbildung 8: CXCL14 Ig zirkulierend im Plasma und CK Ig zirkulierend im Plasma; $r=0,462$ , $p=0,008$ (Schories et al., 2023).....	51
Abbildung 9: Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig und thrombozytäres CXCR4 MFI Ig; $r=0,146$ , $p=0,020$ (Schories et al., 2023).....	52
Abbildung 10: Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig und LVEF bei Aufnahme; $p=0,006$ (Schories et al., 2023).....	55
Abbildung 11: CXCL14 pg/ml Ig im Plasma und die LVEF bei Aufnahme; $p=0,029$ (Schories et al., 2023).....	56
Abbildung 12: Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig bei Studienaufnahme und Verbesserung der LVEF nach mindestens 3 Monaten; $p=0,045$ .....	58
Abbildung 13: CXCL14 pg/ml Ig im Plasma und die LVEF Veränderung nach min. 3 Monaten; $p=0,012$ .....	59
Abbildung 14: Kaplan-Meier Kurven für Quartile 1.-4. des zirkulierenden CXCL14 für den KE mit dem p-Wert des Log-rank-Tests (Schories et al., 2023).....	63

Abbildung 15: Kaplan-Meyer Kurven für Quartile 1.-4. des zirkulierenden CXCL14 für die Gesamtmortalität mit dem p-Wert des Log-rank-Tests (Schories et al., 2023)	63
Abbildung 16: Thrombozytäres CXCL14 MFI lg aufgetragen gegen die Quartilen der ADP(AUC)/TRAP(AUC) Ratio; $p=0,011$ (Schories et al., 2023)	68
Abbildung 17: Wurzel der ADP(AUC)/TRAP(AUC) Ratio für Clopidogrel und potentere P2Y12-Inhibitoren; $p<0,0001$ (Schories et al., 2023)	68
Abbildung 18: Thrombozytäres CXCL14 MFI lg über der Wurzel der ADP/TRAP Ratio für Probanden mit potenten P2Y12-Inhibitoren; $r=0,6246$ , $p<0,0001$ (Schories et al., 2023)	69

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Canadian Cardiovascular Society Score (Bundesärztekammer (BÄK), 2022) .....	18
Tabelle 2: Basischarakteristika der eingeschlossenen Patienten mit Alter, Geschlecht, LVEF, kardiovaskulären Risikofaktoren, Medikamenten bei Aufnahme, Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl und mittlerem Thrombozytenvolumen (Schories et al., 2023).....	44
Tabelle 3: Prozentwerte der CXCL14 positiven Thrombozyten für die Diagnosegruppen (Schories et al., 2023).....	47
Tabelle 4: Multiple lineare Regressionsanalyse für Abbildung 4 und 5. CXCL14 MFI lg und zirkulierendes CXCL14 als abhängige Variable und kardiovaskuläre Risikofaktoren und die Aufnahmediagnosen als unabhängige Variable; dick= p<0,05 (Schories et al., 2023).....	48
Tabelle 5: CXCR4 MFI, CD62p MFI und CK U/I für Diagnosegruppen; Darstellung: Median (25./75. Perzentile) (Schories et al., 2023).....	53
Tabelle 6: Multiple lineare Regressionsanalyse für Abbildung 6 bis 9 mit CXCL14 MFI lg und zirkulierendem CXCL14 als abhängige Variablen und kardiovaskuläre Risikofaktoren, Diagnosen sowie zirkulierendes CXCL14, CD62P MFI lg, CK U/I und CXCR4 MFI lg als unabhängige Variablen; dick=p<0,05; *= Vorauswahl aufgrund geringer Fallzahl der STEMI-Patienten (Schories et al., 2023).....	53
Tabelle 7: Multivariable Regressionsanalyse für Abbildung 10 und 11 mit CXCL14 MFI lg und zirkulierendem CXCL14 als abhängige Variablen und kardiovaskuläre Risikofaktoren, Diagnosen und die LVEF als unabhängige Variablen; dick= p <0,05 (Schories et al., 2023).....	57
Tabelle 8: Multivariable Regressionsanalyse für thrombozytäres CXCL14 MFI lg in Abbildung 12 und zirkulierendes CXCL14 in Abbildung 13, unabhängige Variablen sind kardiovaskuläre Risikofaktoren, Diagnosen und LVEF Veränderung; dick= p<0,05.....	59
Tabelle 9: Ereignisse und Inzidenzraten pro 100 PY in der KHK-Gruppe; Dargestellt werden die Events/number at risk/Inzidenzrate pro 100 Patientenjahren mit 95%	

Konfidenzintervall für die CXCL14 Quartilen, sowie den Log-rank p für den Zusammenhang zwischen den Quartilen der CXCL14 Werte und verschiedenen Endpunkten (Schories et al., 2023).....	62
Tabelle 10: Numbers at risk der Quartilen des zirkulierenden CXCL14 über die Zeit bei Betrachtung des kombinierten Endpunktes (Schories et al., 2023).....	63
Tabelle 11: Numbers at risk der Quartilen des zirkulierenden CXCL14 über die Zeit bei Betrachtung der Gesamtmortalität (Schories et al., 2023).....	64
Tabelle 12: Multifaktorielle Cox-PH Regressions-Analyse für verschiedene Endpunkte, zirkulierendes CXCL14 und CXCL14 auf der Thrombozytenoberfläche, sowie Alter, Geschlecht, ACS vs. CCS, arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Raucher vs Nicht- Raucher, Ex-Raucher vs Nicht-Raucher und LVEF als Kofaktoren; Mit Angabe der hazard ratio und p-Werte (Schories et al., 2023) .....	65
Tabelle 13: Darstellung möglicher Konfundierungseffekte zwischen CXCL14, klinischen Faktoren und den Endpunkten; fett: $p \leq 0.05$ , Unterstrichen: $p \leq 0.10$ (Schories et al., 2023 .....	66

## Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
*	p<0,05
**	p<0,01
***	p<0,001
****	p<0,0001
ACS	akutes Koronarsyndrom
ADP	Adensoindiphosphat
Apo B-100	Apolipoprotein B-100
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
AUC	Area under the curve
BMAK	B-cell and monocyte-activating chemokine
BRAK	Breast and kidney-expressed chemokine
BSA	Bovines Serum Albumin
CCS	Chronisches Koronarsyndrom
CK	Kreatinkinase
CVRF	kardiovaskuläre Risikofaktoren
dl	Deziliter
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzym linked immunosorbent assay
ELR	Glutaminsäure-Leucin-Arginin

FITC	Fluoresceinisothiocyanat
GM	Gesamtmortalität
GP	Glykoprotein
HRP	Meerrettichperoxidase
HUVEC	Human Umbilical Vein Endothelial Cells
IAP	Instabile Angina Pectoris
ICAM-1	Interzelluläres Zelladhäsionsmolekül-1
kDa	Kilodalton
KE	Kombinierter Endpunkt
KI	Konfidenzintervall
KHK	Koronare Herzkrankheit
l	Liter
LDL	Low density lipoprotein
lg	Logarithmus
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
M-CSF	Macrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor
MCP-1	Monozyten-Chemoattraktorprotein-1
MFI	Mittlere Fluoreszenzintensität
mg	Milligramm
MI	Myokardinfarkt
ml	Milliliter
mmol	Millimol

MMP	Matrix Metalloproteasen
ns	nicht signifikant ( $p > 0,05$ )
NSTEMI	Non-ST elevation myocardial infarction
OCS	Offenes kanalikuläres System
OP	Operation
PAF	Plättchenaktivierender Faktor
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
PCI	Perkutane koronare Intervention
PDGF	Platelet Derived Growth Factor
PE	Phycoerythrin
PF4	Plättchenfaktor 4
pg	Pikogramm
pH	Pondus hydrogenii
PY	Patientenjahre
RIVA	Ramus interventricularis anterior
ROS	Reaktive Sauerstoffspezies
STEMI	ST-elevated myocardial infarction
TRAP	Thrombinrezeptor-aktivierendes Peptid
VCAM-1	Vascular cell adhesion molecule-1
$\mu\text{g}$	Mikrogramm
$\mu\text{l}$	Mikroliter

# 1. Einleitung

## 1.1 Die koronare Herzkrankheit (KHK)

### 1.1.1 Definition der chronischen KHK und des akuten Koronarsyndroms

Laut nationaler Versorgungsleitlinie der Bundesärztekammer, der kassenärztlichen Bundesvereinigung und der Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften e.V. zur chronischen KHK definiert sich die koronare Herzkrankheit als „klinisch relevante Manifestation der Artherosklerose an den Herzkranzarterien.“ (Bundesärztekammer (BÄK), 2022). Aufgrund der Arteriosklerose wird der Sauerstoffbedarf des Herzmuskels häufig nicht mehr suffizient gedeckt, wodurch die Symptomatik der koronaren Herzerkrankung bedingt wird, hierbei stellt die Angina Pectoris das Leitsymptom dar (Bundesärztekammer (BÄK), 2022).

Die KHK lässt sich aufgrund der Dynamik ihres Verlaufes unterteilen in eine chronische Verlaufsform und in akute Verlaufsformen, diese werden als akutes Koronarsyndrom (ACS) bezeichnet. Das ACS beinhaltet die instabile Angina Pectoris (IAP), den plötzlichen Herztod und den akuten Myokardinfarkt, welcher sich in STEMI und NSTEMI unterteilt (Bundesärztekammer (BÄK), 2022). Zur Unterscheidung zwischen chronischer und akuter Form wird die Dynamik des Leitsymptoms der Angina Pectoris herangezogen. Eine instabile Angina Pectoris können anginöse Beschwerden in Ruhe, neu aufgetretene anginöse Beschwerden oder eine crescendo Angina mit Intensivierung bereits bestehender Beschwerden bei niedrigerer Belastungsschwelle, darstellen (Knuuti et al., 2020). Zur weiteren Differenzierung des akuten Koronarsyndroms werden diagnostische Mittel wie EKG und Bestimmung des Troponin-Blutwertes herangezogen, wobei der STEMI über eine ST-Elevation im EKG und der NSTEMI über erhöhte Werte des hochsensitiven Troponins ohne ST-Elevation im EKG definiert sind. (Collet et al., 2021, Knuuti et al., 2020, Byrne et al., 2023).

### 1.1.2 Epidemiologie der KHK

Die koronare Herzerkrankung besaß in den Jahren 2008-2011 für Personen in einer Altersgruppe von 40-79 in Deutschland eine Lebenszeitprävalenz von 9,3% (95% KI 8,4;

10,3), der akute Myokardinfarkt hingegen von 4,7% (95% KI 4,0; 5,5) (Gößwald et al., 2013). Somit gehören die KHK und das ACS zu weit verbreiteten Krankheitsbildern in der westlichen Welt. Die KHK bedingt in Deutschland eine hohe Krankheitslast, da sie sowohl eine hohe Mortalität als auch Morbidität bedingt. Sie ist außerdem für viele Disability adjusted life years in Deutschland verantwortlich, sprich nicht nur für den Verlust von Lebensjahren an sich, sondern auch für den Verlust von gesunden Lebensjahren (Porst et al., 2022).

Neben der erheblichen Verbreitung und Morbidität der KHK ist die Gruppe der Herz-, Kreislauf-Erkrankungen führend auf der Liste der Todesursachen in Deutschland. Sie machten 2022 33,6% (n = 358 219) der Todesursachen aus (Statistisches Bundesamt, 2023b), dabei nehmen die chronisch ischämische Herzkrankheit mit 21,7% (n = 77 773) und der akute Myokardinfarkt mit 13,0% (n = 46 608) den größten Anteil der Todesursachen ein (Statistisches Bundesamt, 2023a). Jedoch ist die KHK immer noch für viele verlorene Lebensjahre verantwortlich, ist also häufig eine Todesursache bei Menschen, die ihre Lebenserwartung noch nicht erreicht haben (Rodzlan Hasani et al., 2023).

### 1.1.3 Ätiologie und Pathogenese der KHK

Die koronare Herzkrankheit wird durch eine Arteriosklerose der Herzmuskel versorgenden Gefäße bedingt. Der Arteriosklerose liegt eine multifaktorielle Pathogenese mit einer chronischen meist Jahre andauernde Inflammation der Gefäße zugrunde (Paoletti et al., 2004). Arteriosklerotische Gefäßveränderungen beginnen bereits bei jungen Erwachsenen und Teenagern (Tuzcu et al., 2001, McGill et al., 2000).

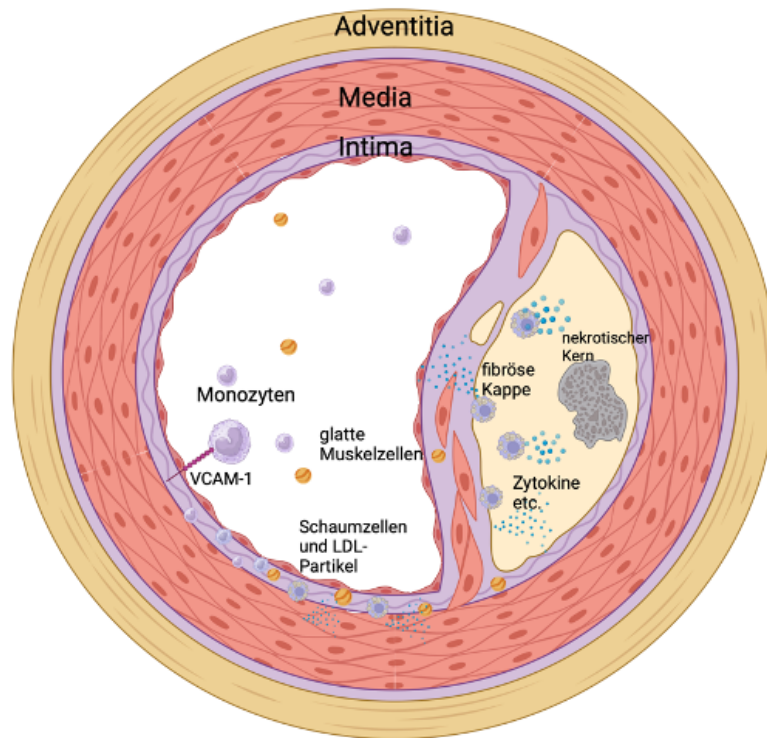
Eine entscheidende Rolle hierbei spielt die Dysfunktion des Endothels. Sie wird durch verschiedene Risikofaktoren wie Rauchen, Hypercholesterinämie, arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus bedingt. Durch die endotheliale Dysfunktion begünstigt, können LDL-Partikel durch die Gefäßwand in die subendotheliale extrazelluläre Matrix übertreten, dies stellt den ersten Schritt in der Entwicklung einer atherosklerotischen Plaque dar. Dort bindet das Lipoprotein Apo B-100, ein Bestandteil der LDL-Partikel, an Proteoglykane der extrazellulären Matrix. Die LDL-Partikel werden außerdem durch

vaskuläre Zellen oxidiert. Das oxidierte LDL-Cholesterin stimuliert wiederum die Produktion von Zytokinen wie M-CSF in den Endothelzellen. Risikofaktoren wie Rauchen, Hyperglykämie, Hyperlipidämie und Hypertonie fördern diese Oxidation durch die Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS) (Wu et al., 2017).

Die Stimulation des Endothels führt zur Expression von Adhäsionsmolekülen wie beispielsweise das vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), wodurch Monozyten an das Endothel binden. An das Endothel gebunden, werden die Zellen durch Signalstoffe wie das Monozyten-Chemoattraktorprotein-1 (MCP-1) zum Übertritt in die Intima angeregt (Wu et al., 2017). Die Bildung von Signalstoffen wie MCP-1 wird wiederum von oxidiertem LDL induziert (Cushing et al., 1990). Durch die erhöhte Permeabilität bedingt durch die Dysfunktionalität des Endothels beginnen Monozyten und T-Lymphozyten in den subendothelialen Raum überzutreten (Nabel and Braunwald, 2012). In der Intima erfolgt die Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen, welche den scavenger-Rezeptor exprimieren. Dieser Mechanismus ermöglicht es den Makrophagen oxidierte LDL-Partikel aufzunehmen und sich in Schaumzellen zu transformieren. Das oxidierte LDL spielt eine zentrale Rolle in der Aktivierung und der Anreicherung der Makrophagen. Durch die Makrophagen wird ein inflammatorisches Milieu geschaffen, durch die Produktion von Interleukin 1 $\beta$ , Tumor Nekrose Faktor, ROS und Matrix Metalloproteasen (MMP) (Wu et al., 2017).

Die Kollagenase, welche zu den MMPs gehört, spaltet extrazelluläres Kollagen, wodurch sich die fibröse Kappe der arteriosklerotischen Plaques bildet (Nabel and Braunwald, 2012). Die übermäßige Aufnahme an oxidiertem LDL bedingt die Apoptose der Schaumzellen, was zur Bildung eines nekrotischen Kernes der arteriosklerotischen Plaques führt. Zudem werden Wachstumsfaktoren wie der platelet-derived growth factor oder der fibroblastic growth factor ausgeschüttet, was zu einer Proliferation glatter Muskelzellen führt. Das trägt zum Wachstum der Plaques bei und unterstützt die Bildung des nekrotischen Kerns (Wu et al., 2017).

Die Größenzunahme der Plaque führt zu einer Obstruktion des Lumens des Gefäßes, was zu einer Ischämie am Herzmuskel führen kann, wodurch sich die Hauptsymptomatik der stabilen Angina Pectoris erklären lässt (Nabel and Braunwald, 2012).



**Abbildung 1:** Bildung einer arteriosklerotischen Plaque auf zellulärer Ebene, Erstellt mit BioRender.com

Die Symptomatik wird dabei durch ein Missverhältnis aus Sauerstoffangebot und Sauerstoffbedarf hervorgerufen, wodurch die biochemischen, elektrischen und mechanischen Funktionen der Herzmuskelzellen gestört werden, was sich im Sinne von fokalen Funktionsstörungen wie z.B. Hypokinese äußern kann (Jameson et al., 2018).

Während bei der chronischen koronaren Herzkrankheit das Lumen partiell obstruiert wird, kommt es bei einem ACS oftmals zu einem plötzlichen totalen oder subtotalen Verschluss eines Koronargefäßes. Ursächlich hierfür kann u.a. eine Plaqueruptur sein, welche den Kern der Plaque freilegt, wodurch es zur Aktivierung der Thrombozyten und der Gerinnungskaskade kommt (Choudhury et al., 2016, Jameson et al., 2018). Der dadurch entstehende Thrombus kann zum Gefäßverschluss führen. Die schwere Ischämie führt zuerst zu einem Versagen der muskulären Relaxation, sowie im Verlauf zum Versagen der Kontraktion (Jameson et al., 2018). Um Fettsäuren zu verstoffwechseln, steht den Kardiomyozyten nicht genügend Sauerstoff zur Verfügung, was dazu führt, dass

Glukose anaerob in Laktat umgewandelt wird. Hieraus resultiert ein Abfall des pH-Wertes, welcher wiederum zu einer gestörten Funktion der Zellmembran führt. Dabei kommt es vermehrt zu Elektrolytverschiebungen, Kalium wird in den extrazellulären Raum verlagert und Natrium und Kalzium in den intrazellulären Raum (Jameson et al., 2018). Bei einem totalen Gefäßverschluss, ohne bereits ausgebildete Kollateralen, ist diese Zellschädigung reversibel innerhalb der ersten 20 Minuten (Choudhury et al., 2016, Jameson et al., 2018).

#### 1.1.4 Risikofaktoren der KHK

Die Risikofaktoren der koronaren Herzkrankheit stellen einen wesentlichen Aspekt dar, um präventive Maßnahmen zur Verhinderung des Auftretens einer KHK zu ergreifen. Darüber hinaus spielen sie eine entscheidende Rolle in der sekundären Prävention bei vorliegender Diagnose einer KHK. Zu den zentralen Risikofaktoren der koronaren Herzerkrankung werden das Rauchen, arterielle Hypertonie, Dyslipoproteinämie, Alter und der Diabetes mellitus gezählt. Aber auch eine Familienanamnese einer KHK stellt einen Risikofaktor dar (Yeboah et al., 2012, van Dis et al., 2013, Herold, 2024). Die Definition für eine familiäre Vorbelastung wird in der Literatur jedoch unterschiedlich ausgelegt. Die meisten Quellen einigen sich darauf, dass die Familienanamnese positiv ist, wenn eine ischämische Herzkrankheit bei männlichen Verwandten 1. Grades unter 55 Jahren auftritt oder bei weiblichen Verwandten 1. Grades unter 65 Jahren (Kolber and Scrimshaw, 2014, Chacko et al., 2020, Jameson et al., 2018, Herold, 2024). Wie bereits beschrieben fördern Risikofaktoren wie Rauchen, Hyperglykämie, Hyperlipidämie und arterielle Hypertonie Oxidation, durch die Bildung von ROS (Wu et al., 2017). Des Weiteren können sie durch oxidative, biochemische, hämodynamische oder inflammatorische Stimuli zu Schädigungen und Veränderungen des Endothels führen (Nabel and Braunwald, 2012). Das Rauchen, sowohl aktiv als auch passiv erhöht das Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis (Ambrose and Barua, 2004). Aber auch andere Risikofaktoren fördern das Auftreten von arteriosklerotischen Veränderungen der Koronargefäße, wie beispielsweise ein erhöhter Lipoprotein A Plasmaspiegel, welcher meist genetisch determiniert ist (Orsó and Schmitz, 2017). Auch ein Nierenversagen

fördert Arteriosklerose der Gefäße und erhöht die Gefahr eines Herzinfarktes (Spence et al., 2016).

### 1.1.5 Klinischer Verlauf und Therapie

#### 1.1.5.1 Klassifikation und klinischer Verlauf der KHK

Zur Risikostratifizierung des kardiovaskulären Risikos können Scores wie der PROCAM oder HeartScore verwendet werden (Herold, 2024). Spezifisch für das chronische Koronarsyndrom ist die Klassifikation nach der Canadian Cardiovascular Society, welche den Schweregrad der Angina Pectoris klassifiziert, welche das Hauptsymptom einer KHK darstellt (Bundesärztekammer (BÄK), 2022, Jameson et al., 2018).

**Tabelle 1:** Canadian Cardiovascular Society Score (Bundesärztekammer (BÄK), 2022)

1	Keine anginösen Beschwerden im Alltag, jedoch bei plötzlich einsetzender oder länger andauernder körperlicher Belastung
2	Anginöse Beschwerden bei starker Anstrengung (physische oder psychische Belastung)
3	Anginöse Beschwerden schon bei leichter körperlicher Belastung (z.B. einfaches gehen)
4	Anginöse Beschwerden in Ruhe auf oder schon bei leichtester körperlicher Anstrengung

#### 1.1.5.2 Klinischer Verlauf des ACS

Ein ACS lässt sich in eine instabile Angina Pectoris, in einen NSTEMI und in einen STEMI unterteilen. Jedoch lassen sich auch je nach Ursache und Umstand ein Myokardinfarkt vom Typ 1-5 unterscheiden, wobei im folgenden Typ 1 und 2 betrachtet werden. Der Myokardinfarkt vom Typ 1 stellt ein ACS bedingt durch eine Plaqueruptur, -erosion, -fissur oder -ulzeration dar, dies führt zu einem Thrombus in den Koronargefäßen, der das Lumen obstruiert (Collet et al., 2021). Typ 2 ist ein Myokardinfarkt mit myokardialer Nekrose, bei dem kein Thrombus die Ursache der

Ischämie darstellt. Hierunter fallen beispielsweise Hypotonie, Anämie, Arrhythmien, Embolien, Koronarspasmen und Koronarembolien (Collet et al., 2021, Sandoval and Jaffe, 2019).

Das ACS stellt einen Notfall dar und Patienten sollten sofort medizinischer Versorgung zugeführt werden, da akute Komplikationen lebensgefährlich sind. Die schwerste Ausprägung stellt hierbei der STEMI dar, gefürchtete Komplikationen sind ventrikuläre Arrhythmien und das Pumpversagen (Jameson et al., 2018).

Der weitere klinische Verlauf und die resultierenden Komplikationen sind abhängig von der Lokalisation und dem Schweregrad des Infarktes. Eine mögliche Folge ist eine linksventrikuläre Dysfunktion, wobei es durch Umbauprozesse in der linken Kammer zu Funktionseinschränkungen kommt, welche zu einer Herzinsuffizienz führen. Es kommt zu einer Abnahme der Wanddicke und zu einer Dilatation im Infarktreal. Weitere schwerwiegende Komplikationen des ACS sind thromboembolische Ereignisse, Ventrikulaneurysmata, Perikardtamponaden, Papillarmuskelabrisse, Septums- oder Wandrupturen (Jameson et al., 2018).

#### 1.1.5.3 Behandlung des CCS

Eine zentrale Rolle in der Behandlung der KHK nimmt der Wandel des Lebensstils und die pharmakologische Therapie ein. Zur Änderung des Lebensstiles gehören unter anderem Rauchstopp, eine gesunde Diät, ein gesundes Körpergewicht und moderate physische Aktivität (Knuuti et al., 2020).

Zur medikamentösen Therapie der Patienten mit KHK gehört einerseits die symptomatische Therapie und andererseits die medikamentöse Prävention. Für die symptomatische Therapie werden anti-ischämische Therapeutika eingesetzt, diese lindern Symptome, verhindern jedoch oft nicht kardiovaskuläre Events. Hierbei gibt es eine Bandbreite an möglichen Pharmaka, welche je nach Patienten und der Komorbiditäten eingesetzt werden können. Zur Erstlinientherapie werden hier  $\beta$ -Blocker und Ca-Kanal-Blocker gezählt. Hier können sowohl Präparate vom non-Dihydropyridine Typ z.B. Verapamil als auch retardierte Kalziumantagonisten vom Dihydropyridine Typ wie beispielsweise Amlodipin eingesetzt werden (Knuuti et al., 2020). Eine weitere

Therapieoption ist die Hinzunahme des I<sub>f</sub>-Kanal-Hemmers Ivabradin, welche besonders bei einer hohen Herzfrequenz empfohlen wird (Knuuti et al., 2020). Zur symptomatischen Anfallskuppierung wird die Gabe von kurzwirksamen Nitraten als Spray oder durch sublinguale Applikation empfohlen (Knuuti et al., 2020). Optionen für die Zweitlinientherapie der Angina-Symptomatik bei KHK stellen lang wirksame Nitrate, Nicorandil, Ranolanzin oder Trimetazidin dar (Knuuti et al., 2020).

Die medikamentöse Therapie zur Ereignisprävention zielt besonders auf die Kontrolle der Risikofaktoren ab. Hierbei spielt die Thrombozytenaggregationshemmung eine wichtige Rolle. Eine zentrale Säule bildet hierbei Acetylsalicylsäure (ASS), weshalb Patienten mit einer KHK mit ASS 75-100 mg behandelt werden sollten, wenn keine Kontraindikationen vorliegen. Dadurch kommt es zu einer signifikanten Abnahme kardiovaskulärer ischämischer Ereignisse (Knuuti et al., 2020, Patrono et al., 2005). Bei Patienten mit einem bereits vorausgegangenem Myokardinfarkt konnte festgestellt werden, dass durch den Einsatz von ASS 100 die kardiovaskuläre Mortalität und die Anzahl nicht tödlicher Re-Infarkte gesenkt werden konnte (Baigent et al., 2009). Wenn eine Aspirin Unverträglichkeit oder eine Kontraindikation vorliegt, sollte ASS durch den P2Y<sub>12</sub>-Inhibitor Clopidogrel 75 mg ersetzt werden (Bundesärztekammer (BÄK), 2022).

Ein besonderes Augenmerk sollte auf die duale Thrombozytenaggregationshemmung gelegt werden, nachdem eine perkutane Koronarintervention (PCI) durchgeführt wurde. Hier wird eine duale Thrombozytenaggregationshemmung mit Aspirin und zusätzlich einem P2Y<sub>12</sub>-Inhibitor für mehrere Monate empfohlen (Bundesärztekammer (BÄK), 2022, Schömig et al., 1996). Die Entscheidung der Dauer muss von verschiedenen individuellen Faktoren wie u.a. Blutungsrisiko abhängig gemacht werden, jedoch wird nach elektiver PCI bei stabiler Angina pectoris eine Dauer von 6 Monaten und bei einem ACS eine Dauer von 12 Monaten empfohlen (Knuuti et al., 2020).

Von großer Bedeutung für die medikamentöse Therapie sind außerdem Lipidsenker. Besonders die Statine werden jedem Patienten ohne Kontraindikation, welcher an einer KHK leidet als Erstlinienmedikament empfohlen, unabhängig von seinen Blutwerten (Bundesärztekammer (BÄK), 2022, Knuuti et al., 2020). Es konnte gezeigt werden, dass eine Statintherapie das Risiko für schwere kardiovaskuläre Events, Schlaganfälle und koronare Revaskularisation senkt (Baigent et al., 2005). Die Strategie ist die des

Zielwertes, hierbei wird ein LDL-Zielwert festgesetzt und dieser soll mit individueller Statin Gabe erreicht werden. Dieses Vorgehen wird unter anderem von der European Society of Cardiology empfohlen (Catapano et al., 2016). Es wird empfohlen bei chronischer KHK oder nach ACS den LDL-Cholesterin Spiegel auf <55 mg/dl (<1,4 mmol/l) zu senken, hierbei soll der Cholesterinspiegel mindestens um 50% gesenkt werden. Bei Auftreten von zwei vaskulären Events innerhalb von 2 Jahren wird sogar ein Zielwert von <40 mg/dl (<1,0 mmol/l) angestrebt (Knuuti et al., 2020, Catapano et al., 2016, Mach et al., 2019). Wenn diese LDL-Cholesterin Werte nicht erreicht werden oder die Statintherapie nicht vertragen wird, kann zusätzlich Ezetimib empfohlen werden (Catapano et al., 2016). PCSK9 Inhibitoren sollten nur Mittel 2. Wahl darstellen, die eingesetzt werden, wenn eine Hochdosis-Statintherapie nicht vertragen wird oder mit einer Kombinationstherapie keine effektive Senkung des LDL-Cholesterin erreicht wird (Bundesärztekammer (BÄK), 2022). Zusätzlich sollte die medikamentöse Therapie der Komorbiditäten Herzinsuffizienz, Diabetes mellitus oder arterielle Hypertonie durchgeführt werden.

#### 1.1.5.4 Behandlung des ACS

Patienten mit einem akutem Koronarsyndrom sollten möglichst schnell den diagnostischen Algorithmus zur Differenzierung in STEMI, NSTEMI, IAP durchlaufen. Je nach Einteilung sollte dann baldig eine Revaskularisierungstherapie durchgeführt werden. Bei einem STEMI-ACS sollte initial eine Thrombozytenaggregationshemmung durchgeführt werden. Hierfür eignet sich eine ASS-Dosis von 150-300 mg p.o. oder 75-250 mg i.v. gefolgt von einer Einnahme von 75-100 mg täglich, dies sollte kombiniert werden mit einem potenten P2Y<sub>12</sub>-Inhibitor, sprich Prasugrel oder Ticagrelor, wenn kein erhöhtes Blutungsrisiko vorliegt (Collet et al., 2021, Byrne et al., 2023, Jameson et al., 2018). Bei der Diagnose NSTEMI-ACS hingegen ist eine routinemäßige Gabe von P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren vor Kenntnis der Koronaranatomie nicht empfohlen (Byrne et al., 2023). Außerdem kann eine Antikoagulation mit unfraktioniertem Heparin, Enoxaparin oder Fondaparinux vorgenommen werden (Collet et al., 2021, Byrne et al., 2023). Auch  $\beta$ -Blocker können bei einem ACS eingesetzt werden u.a. aufgrund ihrer antiarrhythmischen Wirkung, jedoch sollte hierbei darauf geachtet werden, wie

hämodynamisch stabil die Patienten sind (Collet et al., 2021, Byrne et al., 2023, Jameson et al., 2018). Des Weiteren können zur Symptomlinderung, wenn keine Kontraindikationen vorliegen, Nitrate und Morphin eingesetzt werden (Byrne et al., 2023). Falls das ACS mit einem Stent behandelt wird, wird hier die duale Thrombozytenaggregationshemmung für 12 Monate empfohlen (Byrne et al., 2023).

#### 1.1.5.5 Interventionelle Behandlung der KHK

Bei Patienten mit einer diagnostisch gesicherten Obstruktion der Koronargefäße bietet sich entweder eine perkutane koronare Intervention im Herzkatheterlabor an oder eine operative Revaskularisierungstherapie in Form einer Bypass Operation. Die komplexen diagnostischen Möglichkeiten der KHK sollen hierbei bis auf die Koronarangiographie nicht weiter ausgeführt werden, da Sie sich nicht auf diese Arbeit auswirken. Bei der Entscheidung welche Therapie angewandt werden sollte, muss der Patient umfangreich über beide Methoden aufgeklärt werden und die Entscheidungsfindung gemeinsam getroffen werden, da keines der beiden Verfahren das ganze Indikationsspektrum abdeckt, sondern immer individuell entschieden werden sollte.

Hierfür ist entscheidend, wie das chirurgische Risiko eines Patienten eingeschätzt wird, dafür können Scores wie der STS-Score angewendet werden. Außerdem wird die anatomische Komplexität des Koronarsystems anhand des SYNTAX-Scores beschrieben (Neumann et al., 2018). Natürlich ist es auch entscheidend wie viele Gefäße von einer arteriosklerotischen Veränderung betroffen sind. Somit werden Befunde in Eingefäß-, Zweigefäß- und Dreigefäßerkrankung, sowie nach besonderer Lokalisation in die Hauptstammstenose unterteilt. Bei einer Eingefäßerkrankung mit Beteiligung des proximalen Ramus interventricularis anterior (RIVA), wird sowohl eine Bypass Operation wie auch eine PCI empfohlen, wobei die PCI mit weniger Invasivität einher geht. Jedoch ist im Vergleich die Rate der Re-Interventionen bei der Bypass Operation geringer (Thiele et al., 2009, Bundesärztekammer (BÄK), 2022, Neumann et al., 2018). Bei Ein- oder Zweigefäßerkrankung ohne Beteiligung des proximalen RIVA geht die Empfehlung eher zur PCI, während sie bei Zweigefäßerkrankung mit Befall des proximalen RIVA wieder ausgeglichen ist. Bei Dreigefäßerkrankungen und einem SYNTAX-Score  $\leq 22$  ist die Empfehlung ebenfalls ausgeglichen. Ist der SYNTAX-Score

jedoch  $\geq 23$  wird eher die Bypass Operation empfohlen (Bundesärztekammer (BÄK), 2022, Neumann et al., 2018).

Liegt jedoch bei einer Dreifäßerkrankung zusätzlich ein Diabetes mellitus vor geht die Empfehlung zur Bypass Operation (Neumann et al., 2018, Bundesärztekammer (BÄK), 2022). Bei einer Hauptstammstenose können PCI und Bypass OP gleichwertig angeboten werden, wenn der SYNTAX-Score  $\leq 22$  ist (Bundesärztekammer (BÄK), 2022, Park et al., 2011, Neumann et al., 2018). Wenn hingegen bei einer Hauptstammstenose ein SYNTAX-Score von  $\geq 23$  vorliegt, sollte eine Bypass Operation empfohlen werden (Bundesärztekammer (BÄK), 2022, Neumann et al., 2018). Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass die Revaskularisierungstherapie individuell mit jedem Patienten abgesprochen werden sollte und eine Empfehlung je nach Risikofaktoren, operativen Risiko, Beschaffenheit und Lokalisation der Stenose ausgesprochen werden sollte.

Hingegen wenn ein STEMI vorliegt, sollten die Patienten möglichst schnell einer primären PCI zugeführt werden, um die Koronarperfusion wieder herzustellen. Falls eine PCI nicht in den ersten 120 Minuten zugänglich ist, kann hier, wenn keine Kontraindikation vorliegt, eine Fibrinolyse mittels Streptokinase i.v. durchgeführt werden. Bei einem ACS, welches kein STEMI ist, muss eine Risikostratifizierung durchgeführt werden, falls hier ein sehr hohes Risiko vorliegt wie bei hämodynamischer Instabilität, kardiogenem Schock oder mechanische Einschränkungen des Herzens durch den NSTEMI, sollte umgehend eine PCI durchgeführt werden. Liegt ein hohes Risiko vor wie ein bestätigter NSTEMI oder ein GRACE Risk-Score  $>140$ , dann sollte innerhalb der ersten 24 Stunden eine PCI durchgeführt werden. Wenn keine Risikofaktoren vorhanden sind, wird empfohlen eine elektive PCI durchzuführen (Byrne et al., 2023).

Bei der PCI gibt es mehrere Möglichkeiten die Stenose zu therapieren. Die erste Möglichkeit ist die Ballondilatation, bei der es durch ein Expandieren eines Ballons am Ende des Katheters zu einer Aufweitung des verengten Gefäßes kommt (Jameson et al., 2018). Dieser Ballon kann teilweise mit antiproliferativen Substanzen wie Paclitaxel ummantelt sein, was beispielsweise bei In-Stent-Reststenosen das Wiederauftreten mindert (Scheller et al., 2008). Eine weitere Möglichkeit ist der Einsatz von Stents. Drug eluting Stents, welche ebenfalls mit antiproliferativen Substanzen beschichtet sind, mindern die Gefahr für Reststenosen (Morice et al., 2002, Stone et al., 2004, Jameson et

al., 2018). Es ist eine elegante wenig invasive Therapie, welche gerade für morbidere Patienten mit bestimmten Indikationen eine gute Möglichkeit darstellt.

Bei der operativen Therapie gibt es mehrere Möglichkeiten zur Revaskularisierung, welche je nach Gegebenheiten angewandt werden und verschieden gute Ergebnisse liefern. Das Grundprinzip ist es einen vaskulären Bypass zu schaffen, wodurch eine Verbindung zwischen arteriellem System vor der Stenose und der Koronararterie distal der Stenose geschaffen wird. Hierbei kann die A.mammaria interna sinistra, die die vordere Brustwand versorgt, genutzt werden um eine Verbindung zu den Koronararterien zu schaffen, besonders zur RIVA. Außerdem können Transplantate verwendet werden beispielsweise der A. radialis oder der V. saphena magna (Gaudino et al., 2018). Hierbei sind die arteriellen Transplantate den venösen überlegen in Bezug auf Bypass-Verschluss und koronarer Re-Operation (Boylan et al., 1994, Sabik et al., 2006, Gaudino et al., 2018). Die Bypass Operation ist eine etablierte und sichere Methode, welche bei Patienten ohne große Komorbiditäten und normaler linksventrikulärer Funktion eine niedrige Mortalität besitzt (LaPar et al., 2014). Jedoch ist es ein großer operativer Eingriff, welcher gerade für multimorbide Patienten ein operatives Risiko darstellt.

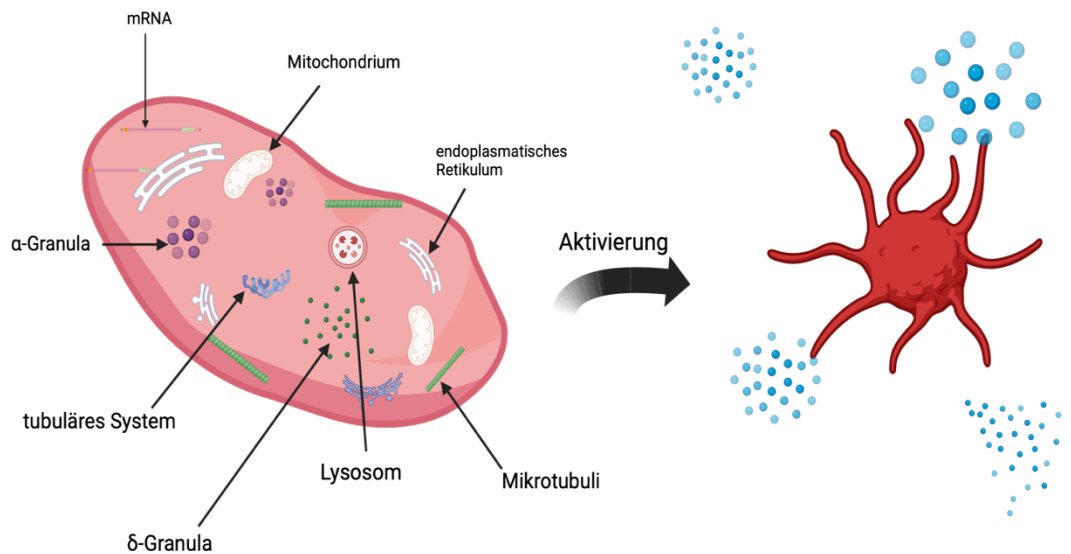
## 1.2 Thrombozyten

### 1.2.1 Struktur der Thrombozyten

Die Blutplättchen sind zelluläre Bestandteile des Blutes. Sie werden im Knochenmark und auch in der Lunge (Lefrançais et al., 2017) von polyploiden Megakaryozyten abgespalten, weshalb sie kernlose Zellfragmente darstellen. Ein gesunder Erwachsener produziert ungefähr  $10^{11}$  Blutplättchen pro Tag (Ghoshal and Bhattacharyya, 2014). Thrombozyten sind 0,5-3,0  $\mu\text{m}$  große Zellfragmente und sind damit die kleinsten zellulären Bestandteile des Blutes (Linden, 2013). Die Normwerte belaufen sich auf 150.000-450.000 Thrombozyten pro  $\mu\text{l}$  im Blut. Ihre Lebenszeit beläuft sich auf ungefähr 7 Tage, bevor sie in Leber oder Milz abgebaut werden. Die Thrombozyten zirkulieren durch den Körper bis auf ungefähr ein Drittel der Population, welches in der Milz gespeichert wird (Ghoshal and Bhattacharyya, 2014, Linden, 2013).

Thrombozyten befinden sich, wenn sie keinen Reiz erhalten in einem nicht aktivierten Zustand. In diesem Zustand besitzen sie eine diskoide Form. Obwohl Thrombozyten keinen Zellkern mehr besitzen, da sie Zellabschnürungen sind, besitzen sie Ribosomen, mRNA, Lysosomen, verschiedene Granula, Mitochondrien, ein endoplasmatisches Retikulum und ein funktionierendes Zytoskelett bestehend aus dem Aktinskelett, den Mikrotubuli und dem aus Spektrin bestehendem Membranskelett (Ghoshal and Bhattacharyya, 2014, Linden, 2013).

Die Zellmembran der Thrombozyten enthält zahlreiche Invaginationen. Sie bilden das offene kanalikuläre System (OCS), dieses dient zur Oberflächenvergrößerung, einerseits, um auf externe Reize reagieren zu können und externe Stoffe aufzunehmen, andererseits um den Inhalt der Granula frei zu setzen. Außerdem dient es als Speicher von Zellmembran mit Glykoproteinen, um das Ausbilden der Filopodien bei der Änderung der Thrombozytenform zu ermöglichen (Ghoshal and Bhattacharyya, 2014, White and Clawson, 1980). Neben dem OCS besitzen Thrombozyten ein dichtes tubuläres System. Es besitzt im Gegensatz zum OCS keine Verbindung zur Zelloberfläche und ähnelt in seiner Funktion dem Sarkoplasmatischen Retikulum der Muskelzellen, da es ein Endomembransystem darstellt, welches Kalzium und Enzyme speichert, die nach Aktivierung freigesetzt werden (Ebbeling et al., 1992, Rendu and Brohard-Bohn, 2001). Die Lysosomen der Thrombozyten besitzen Hydrolasen, welche u.a. dazu dienen Thrombozytenaggregate aufzulösen (Rendu and Brohard-Bohn, 2001). Die Granula werden nochmals nach Aussehen und Inhalt unterteilt. Die häufigeren  $\alpha$ -Granula beinhalten Proteine wie GPIIbIIIa, VanWillebrand-Faktor, Fibrinogen und viele weitere Moleküle. Diese Proteine sind unter anderen an der Gerinnungskaskade, Inflammation und Wundheilung beteiligt (Rendu and Brohard-Bohn, 2001). Auch einige Membranproteine befinden sich in den  $\alpha$ -Granula, wie beispielsweise CD62P, was als Degranulationsmarker verwendet wird oder GPIIbIIIa (Ghoshal and Bhattacharyya, 2014). Auch Wachstumsfaktoren wie beispielsweise platelet-derived growth factor und viele verschiedene Chemokine sind in den  $\alpha$ -Granula zu finden (Rumbaut and Thiagarajan, 2010). Die  $\delta$ -Granula oder dichten Granula speichern unter anderem Serotonin, Katecholamine, Calcium, ADP und ATP. Diese Moleküle sind ebenfalls gerinnungsfördernde Stoffe. Beide Arten an Granula werden bei Aktivierung der Thrombozyten freigesetzt (Ghoshal and Bhattacharyya, 2014).



**Abbildung 2:** Schematische Darstellung der Zellbestandteile der Thrombozyten, sowie eines aktivierten Thrombozyten: links schematische Darstellung eines Thrombozyten und seiner Zellbestandteile; rechts ein aktivierter Thrombozyt mit Pseudopodien, Erstellt mit BioRender.com

### 1.2.2 Aktivierung der Thrombozyten

Unter physiologischen Bedingungen und bei intaktem Endothel sollte es zu keiner Aktivierung der Blutplättchen kommen, dies liegt auch daran, dass intaktes Endothel Mediatoren wie Prostacyclin sezerniert, welche die Aktivierung von Thrombozyten inhibieren (Gryglewski et al., 1988, Ghoshal and Bhattacharyya, 2014). Kommt es jedoch zu Gefäßwandschädigungen wird eine komplexe Kaskade an Signalwegen in Gang gesetzt. Hierbei kommunizieren Thrombozyten mit endothelialen Zellen über parakrine Signalwege, bei welchen Stoffen in die Umgebung freigesetzt werden. Die Endothel-Thrombozyten Interaktion kann aber auch direkt über eine Zell-Adhäsion an die extrazelluläre Matrix des subendothelialen Gewebes geschehen (Rumbaut and Thiagarajan, 2010, Ghoshal and Bhattacharyya, 2014). Thrombozyten initiieren hierbei die primäre Hämostase, indem sie an subendotheliales Gewebe binden. Dabei spielt vor

allem der GPIb-IX-V-Komplex, welcher reichlich mit ungefähr 25.000 Kopien an der Oberfläche der Thrombozyten exprimiert wird, eine entscheidende Rolle (Varga-Szabo et al., 2008). Ein Defekt des GPIb-IX-V-Komplex äußert sich in Menschen mit einer schweren Blutungsneigung dem Bernard-Soulier Syndrom (López et al., 1998). Der GPIba Part des Komplexes bindet an den von-Willebrand-Faktor, welcher an das subendotheliale Kollagen oder aktivierte Thrombozyten gebunden ist. Durch diese Bindung wird die Geschwindigkeit der Thrombozyten vermindert und es kommt zu kleineren Scherkräften, dies ermöglicht weitere Bindungen der Thrombozyten an die extrazelluläre Matrix (Varga-Szabo et al., 2008). GPVI bindet an Kollagen, diese Rezeptor-Liganden Interaktionen induzieren intrazelluläre Signalwege in den Thrombozyten, welche die Affinität der Integrine wie Integrin  $\alpha 2\beta 1$ , welche wiederum eine feste Bindung mit Kollagen eingehen, verstärken und außerdem die Sekretion von Adenosindiphosphat (ADP) und Thromboxan  $A_2$  initiieren (Varga-Szabo et al., 2008, Nieswandt and Watson, 2003) . Somit findet ein erster Verschluss der Verletzung statt.

Durch die Adhäsion der Thrombozyten kommt es zu ihrer Aktivierung, wodurch der intrazelluläre  $Ca^{2+}$  Gehalt ansteigt, was Veränderungen im Zytoskelett und somit auch Veränderungen in der Form der Zellen nach sich zieht. Anstatt der diskoiden Form, bilden sie nun zahlreiche Pseudopodien aus. Außerdem werden GPIIb/IIIa-Rezeptoren aktiviert und den Thrombozyten wird es möglich Fibrinogen zu binden (Ghoshal and Bhattacharyya, 2014).

Der nächste Schritt ist die weitere Rekrutierung von Thrombozyten aus dem Blutstrom, dies geschieht über ADP und Thromboxan  $A_2$ . ADP bindet an den  $P2Y_{12}$  Rezeptor, welcher G-Protein gekoppelt ist. Durch die Bindung kommt es zur Freisetzung von intrazellulären  $Ca^{2+}$ , was wiederum zur Aktivierung von Thrombozyten führt. Die Thrombozyten formen einen Thrombus, hierbei stabilisiert der Fibrinogen Rezeptor GPIIb/IIIa die Verbindung zwischen den Thrombozyten, indem Thrombozyten von beiden Seiten Fibrinogen als Verbindungsstück nutzen. Die aktivierten Thrombozyten sezernieren ihre Granula, wodurch sie weitere Blutplättchen aggregieren und sich durch Botenstoffe wiederum selbst vermehrt aktivieren. Dieser aus Thrombozyten primär gebildete Thrombus stellt die primäre Hämostase dar (Ghoshal and Bhattacharyya, 2014, Koupenova et al., 2018). CD62P stellt einen Degranulations- und Aktivierungsmarker für

Thrombozyten dar, da es bei Degranulation von  $\alpha$ - Granulae in die Zellmembran der Thrombozyten wandert (Stenberg et al., 1985).

In der sekundären Hämostase läuft die Gerinnungskaskade ab und der Thrombus wird durch ein aus Fibrin gebildetes Netz verstärkt. Hier spielen wiederum die Thrombozyten eine entscheidende Rolle, da auf ihrer negativ geladenen Membran viele Schritte der Gerinnungskaskade ablaufen (Sang et al., 2021, Ghoshal and Bhattacharyya, 2014, Koupenova et al., 2018).

### 1.2.3 Thrombozyten und vaskuläre Inflammation

Thrombozyten haben nicht nur eine Funktion in der Hämostase, sie sind auch an verschiedensten inflammatorischen Prozessen beteiligt. Im Nachfolgenden soll sich mit der inflammatorischen Wechselwirkung zwischen Thrombozyten und der Gefäßwand beschäftigt werden, insbesondere mit der Wechselwirkung zwischen den endothelialen Zellen und den Thrombozyten. Wenn es zur Aktivierung der Thrombozyten kommt, sekretieren sie Botenstoffe, unter ihnen eine Vielzahl an inflammatorisch aktiven Substanzen wie beispielsweise CD40L, in ihre Umgebung und verändern dadurch z.B. die Eigenschaften des Endothels (Gawaz et al., 2005, Gawaz, 2004). Es konnte gezeigt werden, dass Thrombozyten mit Endothel in Kontakt stehen bevor sich eine arteriosklerotische Plaque gebildet hat, indem sie auf dem Endothel rollen und teilweise adhäreren (Massberg et al., 2002, Lindemann et al., 2007). Dies tritt deutlich häufiger bei aktivierten endothelialen Zellen oder bei geschädigtem Endothel auf, wobei Thrombozyten in Kontakt mit extrazellulärer Matrix kommen (Lindemann et al., 2007). In diesem Prozess interagieren Thrombozyten und endotheliale Zellen miteinander, indem sie Chemokine freisetzen, was zu einer gegenseitigen Aktivierung führt. Dabei geben sie verschiedene Substanzen aus ihren Granula ab, darunter Interleukin-1, das entzündliche Eigenschaften aufweist (Hawrylowicz et al., 1991, Lindemann et al., 2007). Die Thrombozyten setzen in diesem Prozess noch weitere Stoffe mit inflammatorischen Eigenschaften frei, zu diesen gehört beispielsweise RANTES (CCL5), ein Chemokin, welches Plättchen spezifisch freigesetzt wird und die Rekrutierung von Monozyten fördert (Mause et al., 2005, Lindemann et al., 2007, von Hundelshausen et al., 2001). Dadurch werden arteriosklerotische Prozesse in Gang gesetzt. Die genannten Beispiele

verdeutlichen, dass die Thrombozyten eine Vielzahl an regulatorischen Eigenschaften in Bezug auf inflammatorische Prozesse besitzen, insbesondere durch den Mechanismus der Sekretion von Botenstoffen.

#### 1.2.4 Die Rolle der Thrombozyten in der Arteriosklerose

Thrombozyten nehmen eine wichtige Rolle bei den atherogenen Prozessen und somit bei der Entstehung von Arteriosklerose ein. Wie bereits beschrieben besitzen Thrombozyten nicht nur hämostatische, sondern auch inflammatorische Eigenschaften. So setzen aktivierte Thrombozyten CD40L und Interleukin-1 $\beta$  frei, die für eine Inflammation des Endothels sorgen. Sie bewirken eine Expression von Adhäsions-Molekülen z.B. ICAM-1 und chemotaktisch aktiven Stoffen, welche Leukozyten zum Übertritt in die Intima bewegen (Gawaz, 2004). Ein anderes Beispiel hierfür ist der Plättchenfaktor 4 (PF4), welcher von aktivierten Plättchen sezerniert wird und die Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen induziert (Gawaz et al., 2005). Außerdem verhindert PF4 den Abbau von LDL und fördert hingegen die Aufnahme von oxidiertem LDL in das Endothel, glatten Muskelzellen und Makrophagen und ist somit aktiv an den Prozessen der Schaumzellbildung beteiligt (Lindemann et al., 2007, Nassar et al., 2003). Auch der Plättchen aktivierende Faktor (PAF), welcher chemotaktisch auf Neutrophile wirkt und bestimmte Wachstumsfaktoren wie PDGF, die das Wachstum der glatten Muskelzellen fördern, werden von aktivierten Thrombozyten freigesetzt (Lindemann et al., 2007).

Bei intaktem nicht aktiviertem Endothel sollten Blutplättchen nicht aktiviert werden. Hingegen bei Läsionen wird extrazelluläre Matrix in das Lumen exponiert, wodurch es, wie bereits beschrieben durch die Thrombozyten zur Thrombusbildung kommt. Während Thromben z.B. bei einer Plaqueruptur zu einem akuten Koronarsyndrom führen, ist der langsamere voranschreitende Prozess der Arteriosklerose die Ursache für das chronischen Koronarsyndrom. Bei beiden Pathophysiologien spielen Thrombozyten eine wichtige Rolle und sind an der Genese der Symptomatik beteiligt, wodurch sie auch ein Ziel der pharmakologischen Therapie darstellen.

### 1.2.5 Antithrombozytäre Therapie bei der koronaren Herzkrankheit

Eine zentrale Rolle in der medikamentösen Behandlung der koronaren Herzkrankheit spielt die thrombozytäre Aggregationshemmung. Dabei wird die Thrombozytenaggregation über 3 verschiedene Mechanismen gehemmt.

Aspirin wirkt über eine Hemmung der Cyclooxygenase-1, diese ist u.a. an der Bildung des Thromboxan A<sub>2</sub> beteiligt. Thromboxan A<sub>2</sub> spielt eine entscheidende Rolle in der Aktivierung von Thrombozyten und der Thrombozytenaggregation (Corazzi et al., 2005, Smith et al., 2000).

Eine weitere Möglichkeit zur antithrombozytären Therapie stellen die P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren dar, welche den P2Y<sub>12</sub>-Rezeptor für ADP auf den Thrombozyten hemmen (Cattaneo, 2015). Beispiele hierfür wären Clopidogrel, Prasugrel oder Ticagrelor. Wobei Prasugrel und Ticagrelor potenter als Clopidogrel sind (Wiviott et al., 2007, Wallentin et al., 2009). Durch die Hemmung wird ein Signalweg zur Aktivierung der Thrombozyten und indirekt des GP-IIb/IIIa-Rezeptors blockiert (Ghoshal and Bhattacharyya, 2014, Lecka et al., 2010).

Ein wenig seltener werden die Glykoprotein-IIb/IIIa-Antagonisten verwendet, meist bei einem komplikativen Verlauf und einer primären Angioplastie oder PCI. Sie hemmen das Glykoprotein-IIb/IIIa, was einen wichtigen Rezeptor für die späte Phase der Thrombozytenaggregation darstellt, da es an der Verbindung der Thrombozyten untereinander mittels Fibrinogen beteiligt ist (Fanaroff and Rao, 2016).

## 1.3 Chemokine

### 1.3.1 Struktur und Funktion der Chemokine

Chemokine sind kleine Signalproteine mit einer Größe von 8-14 kDa (Zlotnik and Yoshie, 2000, Zlotnik et al., 2006). Sie gehören zur Gruppe der Zytokine und besitzen zahlreiche Funktionen, beispielsweise spielen sie eine wichtige Rolle in der Chemotaxis und der Migration von Zellen (Lu et al., 2016). Hierbei spielt die Migration von

Leukozyten eine entscheidende Rolle, weshalb Chemokine zentral an immunologischen Prozessen beteiligt sind (Moser et al., 2004). Sie werden in sehr hohen Mengen von bestimmten Zellen exprimiert, was mit ihrer Wirkungsweise zusammenhängt, da sie einen Konzentrationsgradienten aufbauen, welchem die Zielzellen dann chemotaktisch folgen (Zlotnik et al., 2006). Chemokine sind Liganden für bestimmte Rezeptoren, hierbei gibt es jedoch weniger bekannte Rezeptoren als Liganden. Außerdem wurde festgestellt, dass verschiedene Liganden an ein und denselben Rezeptor binden können (Zlotnik et al., 2006).

In den späten 1980er Jahren wurden mit CXCL8 und CCL2 die ersten Chemokine entdeckt. Durch weitere Forschung und die Anwendung von Expressed Sequence Tag Datenbanken nahm die Anzahl an neu entdeckten Chemokinen rasch zu (Zlotnik and Yoshie, 2012, Yoshie et al., 2001, Zlotnik and Yoshie, 2000). Die Chemokine werden nach ihrer Struktur in vier Subgruppen unterteilt. Fast alle Chemokine besitzen 4 Cysteinreste, welche 2 Disulfidbrücken ausbilden und somit die räumliche Anordnung der Aminosäuren beeinflussen. Die Unterteilung in diese Subgruppen erfolgt nun anhand der Anordnung der 2 N-terminalen Cysteinreste. Die erste Gruppe stellen die CC-Chemokine dar, das N-Terminale Ende besteht hierbei aus 2 Cystein Aminosäuren. Die zweite Hauptgruppe sind die CXC-Chemokine, wobei sich am N-terminalen Ende 2 Cystein Aminosäuren befinden, getrennt durch eine beliebige Aminosäure. Nach dem gleichen Prinzip wird die Gruppe der CX3C-Chemokine, bei welcher 3 Aminosäuren zwischen den beiden Cysteinresten liegen, klassifiziert. Die Ausnahme bildet die C-Gruppe mit nur einem N-terminalen Cysteinrest (Zlotnik and Yoshie, 2012, Miller and Mayo, 2017). Außerdem lassen sich die Chemokine in funktionelle Gruppen unterteilen, so gibt es beispielsweise inflammatorische Chemokine und homöostatische Chemokine. Die Expression der inflammatorischen Chemokine ist unter entzündlichen Bedingungen hochreguliert (Zlotnik and Yoshie, 2012). Diese Gruppe lässt sich nochmals in ELR und non-ELR Typen unterteilen, wobei ELR für Glutaminsäure-Leucin-Arginin steht. Inflammatorische Chemokine, welche dieses ELR Motiv vor dem ersten Cysteinrest besitzen, haben angiogenetische Eigenschaften, wohingegen Chemokine ohne dieses Motiv größtenteils anti-angiogenetische Eigenschaften besitzen (Kiefer and Siekmann, 2011). Homöostatische Chemokine hingegen werden dauerhaft durch verschiedene Gewebe freigesetzt. Manche Chemokine können beiden Gruppen zugeordnet werden, da

sie sowohl homöostatische als auch inflammatorische Eigenschaften besitzen (Zlotnik and Yoshie, 2012). Während man früher davon ausging, dass Chemokine nur mit Leukozyten interagieren, ist heute bekannt, dass sie ein breites Spektrum an Funktionen besitzen, welche nicht nur auf Leukozyten beschränkt sind (Rollins, 1997).

### 1.3.2 Chemokin Rezeptoren

In der Gruppe der Chemokin Rezeptoren wird zwischen konventionellen und unkonventionellen Chemokin Rezeptoren unterschieden. Konventionelle Chemokin Rezeptoren gehören zu den transmembranösen G-Protein gekoppelten Rezeptoren (Hughes and Nibbs, 2018). Im sogenannten „two-site“ Modell verändern sie ihre Struktur, wenn ein Chemokin zuerst mit seinem Kern den Rezeptor erkennt und dann mit seinem N-Terminus den Rezeptor bindet und dadurch eine intrazelluläre Signalkaskade in Gang setzt (Kufareva et al., 2015, Kleist et al., 2016). Jedoch geht man in den neueren Studien davon aus, dass dieses Modell die Rezeptor-Liganden Interaktion vereinfacht und die beiden Stellen nicht separat voneinander mit dem Rezeptor interagieren (Kleist et al., 2016). Die konventionellen Chemokin Rezeptoren, werden nach der Gruppe der Chemokine (CC, CXC, (X)C, CX3C) die sie binden, benannt, indem an den Chemokin Namen ein R für Rezeptor angehängt wird. Einige Rezeptoren können mehrere Liganden binden und einige Chemokine können an verschiedene Rezeptoren binden (Hughes and Nibbs, 2018).

Unkonventionelle Chemokin Rezeptoren besitzen wie die G-Protein gekoppelten konventionellen Chemokin Rezeptoren ebenfalls 7 transmembran Domänen. Jedoch induzieren sie nicht die für die Chemokin Rezeptoren typischen intrazellulären Signalwege, trotzdem spielen sie eine wichtige Rolle in der Physiologie der Chemokine (Ulvmar et al., 2011). Die unkonventionellen Chemokin Rezeptoren nutzen Mechanismen wie die Degradation und den Transport von Chemokinen und können somit die Menge und die Lokalisation der Chemokine regulieren. Somit wirken sie sich indirekt auf die Interaktion zwischen Chemokinen und konventionellen Chemokin Rezeptoren aus (Hughes and Nibbs, 2018, Nibbs and Graham, 2013).

### 1.3.3 Das Chemokin CXCL14

CXCL14 wurde das erste Mal aus menschlichen Brust- und Nierenzellen isoliert (Hromas et al., 1999), weshalb es auch BRAK, BMAC oder Mip-2 $\gamma$  genannt wird. Seine genetische Kodierung liegt auf Chromosom 5q31 (Hromas et al., 1999) und es wird aus einem 99-Aminosäuren langen Vorgänger Protein gebildet. CXCL14 selbst besitzt eine Masse von 9,4 kDa und besteht aus 77 Aminosäuren (Lu et al., 2016). Der isoelektrische Punkt liegt bei einem alkalischen pH von 9,9 (Lu et al., 2016). Die Expression von CXCL14 ist in normalem Gewebe sehr weit verbreitet, hingegen in Tumorzellen wird CXCL14 sehr häufig herunterreguliert und in vielen Tumorzelllinien fehlt die Expression komplett (Lu et al., 2016, Hromas et al., 1999, Frederick et al., 2000). Auch Immunzellen können CXCL14 exprimieren, so konnten auf Monozyten und B-Lymphozyten, nicht jedoch auf T-Lymphozyten nach Stimulation mit Lipopolysaccharid, CXCL14 nachgewiesen werden (Frederick et al., 2000). Des Weiteren wird CXCL14 auch von bestimmten dendritischen Zellen basal sekretiert, kann aber nach Aktivierung mit Aktivin A deutlich vermehrt gebildet werden (Salogni et al., 2009). Thrombozyten stellen ebenfalls eine Quelle für CXCL14 dar und können dieses z.B. bei Aktivierung durch ADP, Collagen-related peptide oder TRAP vermehrt auf ihrer Oberfläche exprimieren und in ihre Umgebung abgeben (Witte et al., 2017). Die Funktionen des CXCL14 sind vielfältig und nicht zur Gänze verstanden. So kommt CXCL14 in gesunder Haut sowohl in der Epidermis als auch der Dermis vor, aber auch in anderen epithelialen Geweben mit Barrierefunktion wie Darm oder Niere, dort hat es eine antimikrobielle Wirkung (Maerki et al., 2009). Außerdem konnte gezeigt werden, dass CXCL14 eine starke chemotaktische Wirkung auf Monozyten besitzt und es wird vermutet, dass CXCL14 eine Rolle, sowohl im Differenzierungsprozess wie auch der Phagozytose der Monozyten, spielt (Kurth et al., 2001). Diese chemotaktische Wirkung konnte besonders für CXCL14 nachgewiesen werden, welches durch aktivierte Blutplättchen freigesetzt wurde (Witte et al., 2017). Auch in der Haut ist CXCL14 an der Rekrutierung von bestimmten CD14<sup>+</sup> Vorgängerkzellen der Langerhans Zellen beteiligt und spielt somit eine Rolle in ihrer Differenzierung (Schaerli et al., 2005). Die aufgezählten Eigenschaften in der Chemotaxis und der Differenzierung von Immunzellen zählen zu inflammatorischen Eigenschaften des CXCL14.

Es ergaben sich auch Hinweise darauf, dass CXCL14 eine wichtige Rolle im Prozess der Arteriosklerose spielt. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass CXCL14-mRNA in dem R. interventricularis anterior des Herzens bei stark übergewichtigen Schweinen deutlich mehr exprimiert wird (Padilla et al., 2013).

Zudem wirkt sich CXCL14 auf die Angiogenese aus. So hemmte es beispielsweise die Angiogenese im Mausmodell durch eine Blockade der Chemotaxis von murinen Endothelzellen (Shellenberger et al., 2004). Darüber hinaus hemmte thrombozytäres CXCL14 im scratch-assay die Migration von menschlichen Endothelzellen aus der V. umbilicalis (HUVEC) und somit den endothelialen Wundverschluss (Witte et al., 2017).

Eine weitere Eigenschaft des CXCL14 ist, dass es eine Rolle in der Thrombusbildung spielt, so konnte mit CXCL14 defizienten murinen Thrombozyten eine eingeschränkte Formation eines Thrombus in der Flusskammer gezeigt werden (Witte et al., 2021).

Ein spezifischer Rezeptor für CXCL14 konnte noch nicht ermittelt werden, jedoch ist davon auszugehen, dass CXCR4 ein CXCL14-bindenden Rezeptor darstellt, denn es konnte gezeigt werden, dass die Monozyten Migration, welche durch CXCL14 reguliert wird durch eine Blockade des CXCR4 mittels eines Antikörpers vermindert wird (Witte et al., 2017). Außerdem konnte durch Ko-Immunpräzipitation eine direkte Interaktion von CXCL14 und CXCR4 als Rezeptor dargestellt werden (Witte et al., 2021). Es konnte weiter gezeigt werden, dass CXCR4 sowie CXCL14 auf Thrombozyten exprimiert wird (Rath et al., 2013, Chatterjee et al., 2014). Die Expression von CXCR4 auf der Oberfläche von Thrombozyten bei Patienten mit einer KHK ist erhöht, im Vergleich zu Personen ohne eine KHK (Rath et al., 2013). Hierbei besteht der Zusammenhang, dass Patienten mit einer KHK, welche ein geringeres Ausmaß an CXCR4 Expression auf den Thrombozyten besitzen, eine schlechtere Prognose zeigen (Rath et al., 2015). Für das Zusammenspiel zwischen Ligand und Rezeptor konnte gezeigt werden, dass CXCL14 die Migration von Thrombozyten reguliert, indem es an CXCR4 an der Oberfläche der Thrombozyten bindet (Witte et al., 2021). Diese Erkenntnisse lassen vermuten, dass die CXCL14-CXCR4 Interaktion eine Rolle im Krankheitsbild der koronaren Herzerkrankung darstellen könnte. Jedoch die Rolle und das Ausmaß im Prozess der Arteriosklerose sind bisher weitestgehend unbekannt. Ein dem CXCL14 ähnliches Chemokin ist CXCL12. CXCL12 bindet neben CXCR7 ebenfalls an CXCR4 (Döring et

al., 2014). Für CXCL12 konnte gezeigt werden, dass eine hohe Expression im Myokard nach einem ischämischen Ereignis zur myokardialen Protektion und zur Regeneration des Myokards beiträgt (Zaruba et al., 2009, Abbott et al., 2004, Segers et al., 2007). Das Zusammenspiel des CXCL14 und der CXCL12-CXCR4 Interaktion ist noch nicht vollständig geklärt. Es gibt aber Hinweise dafür, dass CXCL14 allosterisch die CXCL12-CXCR4 Interaktion und die weiterer Chemokin-Rezeptor Paare moduliert und verstärkt (Collins et al., 2017, Kouzeli et al., 2020). Jedoch konnte in einer anderen Studie gezeigt werden, dass CXCL14 sich antagonistisch zu CXCL12 verhält. Hier antagonisierte CXCL14 CXCL12 bei der durch CXCL12 regulierten Chemotaxis von z.B. hämatopoetischen Vorgängerzellen. Diese antagonistische Wirkungsweise soll durch eine Internalisierung des CXCR4 erfolgen (Hara and Tanegashima, 2014). Dies zeigt, dass obwohl die Zusammenhänge hier noch nicht vollkommen klar sind, ein komplexes Zusammenspiel zwischen CXCL14, CXCL12 und CXCR4 vorzuliegen scheint. So liegt die Vermutung nahe, dass das Zusammenspiel und die Balance von CXCL12 und CXCL14 am thrombozytären CXCR4 eine Rolle für die Formation des Thrombus, den Prozess der Arteriosklerose und die Prognose bei vorliegender KHK spielen könnte.

#### 1.4 Fragestellung

Die KHK ist eine weit in der Bevölkerung verbreitete Erkrankung, welche für ein hohes Maß an Morbidität und Mortalität verantwortlich ist. Wenn auch viel erforscht, sind noch nicht alle Mechanismen der Pathophysiologie vollständig verstanden.

Was sich jedoch in vorausgegangenen Studien abgezeichnet hat ist, dass die Inflammation der Gefäßwand eine zentrale Rolle in diesem Prozess spielt. Zusätzlich konnte gezeigt werden, dass Thrombozyten im Austausch mit den endothelialen Zellen stehen und an ihrer Inflammation beteiligt sind. Hierbei kommunizieren die Zellen über verschiedene Botenstoffe, wie beispielsweise Chemokine.

Eines dieser Chemokine, welche von Thrombozyten freigesetzt werden, ist das Chemokin CXCL14, dessen Rolle in der Pathophysiologie der KHK fast gänzlich unerforscht ist, jedoch lässt sich durch vorangegangene Studien der Schluss ziehen, dass CXCL14 eine Rolle hierbei spielen könnte.

Deshalb wurde im Zuge dieser Dissertation den Fragen nachgegangen:

- Lassen sich Zusammenhänge zwischen dem Plasmaspiegel des CXCL14 und der Expression des CXCL14 auf den Thrombozyten erkennen?
- Korreliert CXCL14 Expression mit der Expression von CXCR4 auf den Thrombozyten?
- Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Ausprägung der Expression von CXCL14 auf den Thrombozyten und im Plasma und der Schwere der vorliegenden KHK?
- Lassen sich Korrelationen zwischen der Regeneration, nach einem ACS und der Ausprägung der Expression von CXCL14 auf Thrombozyten und im Plasma erkennen?
- Inwiefern korreliert CXCL14 mit der Prognose der KHK-Patienten?

## 2. Material und Methoden

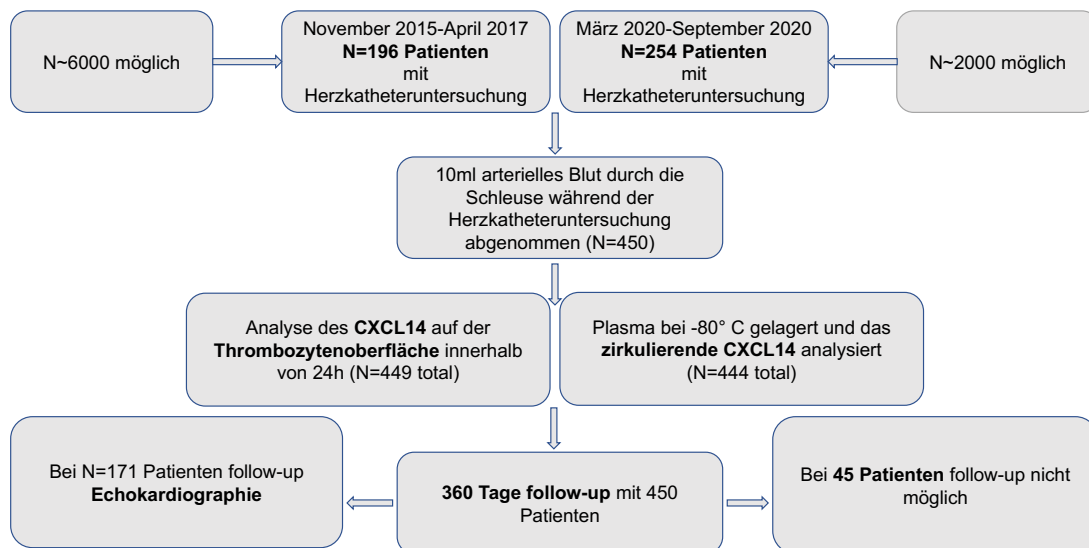
### 2.1 Studienaufbau

Diese Studie wurde vom März 2020 bis zum Dezember 2021 in der Abteilung für Innere Medizin III (Kardiologie & Angiologie) des Universitätsklinikums Tübingen durchgeführt. Es handelt sich hierbei um ein monozentrisches prospektives Studienmodell. Die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät genehmigte das Projekt (Projektnummer: 238/2018BO2) und es folgt den Grundregeln der Deklaration von Helsinki und der guten wissenschaftlichen Praxis. Hierbei wurden 254 Patienten in diesem Zeitraum vom Autor der Dissertation erhoben und weiterhin wurden die Daten von weiteren 196 Patienten, die bereits im November 2015 bis April 2017 erhoben wurden, eingeschlossen (Projektnummer: 270/2011BO1). Dadurch ergibt sich ein Patientenkollektiv, welches 450 Patienten umfasst. Der Großteil der Patienten willigte eigenhändig schriftlich durch Unterschrift der Einwilligungserklärung ein. Außerdem genehmigte die Ethikkommission Daten von Patienten zu verwenden, welche aus logistischen Gründen keine schriftliche Einwilligungserklärung abgegeben hatten, jedoch bereits Daten aus dem klinischen Alltag vorhanden waren (478/2022BO2).

Das Einschlusskriterium war hierbei, dass die Patienten eine perkutane Koronarangiographie erhielten, bei bestehendem Verdacht auf eine koronare Herzkrankheit. Hierbei gab es sowohl elektiv durchgeführte Eingriffe als auch die Notfall-Indikation akute Thoraxschmerzen. 177 (39.3 %) Patienten wurden mit der Diagnose CCS eingeschlossen, 211 (46.9 %) mit ACS und 62 (13.8%) ohne eine KHK bei Aufnahme, hier kam es zu einer Herzkatheteruntersuchung aufgrund von Klappenfehlern, Myokarditis, nicht-ischämischen Kardiomyopathien und hypertensiven Krisen. CCS wurde als alle Ausprägungen der KHK definiert, in denen kein ACS vorliegt (Knuuti et al., 2020). ACS wurde definiert als instabile Angina Pectoris, Myokardinfarkt ohne ST-Strecken-Elevation (NSTEMI) oder ST-Strecken-Hebungsinfarkt (STEMI) gemäß den aktuellen Leitlinien (Collet et al., 2021). Am Ende der Prozedur wurde den Patienten mit einer sterilen Spritze durch die bereits eingesetzte Schleuse 10 ml arterielles Blut entnommen. Dieses Blut wurde in das Labor verbracht und initial mittels Durchflusszytometrie und Multiplate® Analyzer untersucht. Außerdem wurde Plasma

und Serum für eine Biobank gewonnen und später mittels Enzym-linked-immunosorbent-assay (ELISA) untersucht (Schories et al., 2023).

Um die Regeneration und die Prognose über einen zeitlichen Verlauf zu beurteilen, wurden alle Patienten 360 Tage lang nachbeobachtet. Hierbei wurden ein primärer, zusammengesetzter, kombinierter Endpunkt identifiziert, welcher aus Gesamtmortalität (GM) sowie Myokardinfarkt (MI) und ischämischem Schlaganfall besteht. Als sekundäre Endpunkte wurden einzelne Ereignisse von GM oder MI betrachtet. Bei einer Untergruppe von Probanden konnten wir mindestens 3 Monate nach Studieneinschluss echokardiographische Daten verwenden. Teilweise wurden hierfür Daten von Echokardiographien oder Koronarangiographien genutzt, welche im Uniklinikum Tübingen für andere Zwecke oder Nachsorgeuntersuchungen durchgeführt wurden. Die Nachuntersuchung erfolgte durch telefonische Befragung und/oder Einsichtnahme in die Krankenakten der Patienten. Bei 45 Patienten (10,0 %) war eine Nachsorge aufgrund von fehlender Kontaktaufnahme zu den Patienten nicht möglich. Aufbau der Studie und Datengewinnung sind dem nachfolgenden Flussdiagramm zu entnehmen (Schories et al., 2023).



**Abbildung 3:** Flussdiagramm des Studienaufbaus (Schories et al., 2023)

## 2.2 Durchflusszytometrische Messungen

Am Ende der Koronarintervention wurden 10 ml Blut arteriell durch die für die Koronarangiographie notwendige und bereits angebrachte Schleuse entnommen und vom Herzkatheterlabor in das kardiologische Labor gebracht. Das arterielle Vollblut wurde sofort in Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin Röhrchen gegeben und 1:50 mit Phosphat gepufferter Salzlösung (PBS) verdünnt. 40 µl dieser Lösung wurden 5 µl des entsprechenden monoklonalen anti-humanen Antikörpers zugesetzt und 5 µl eines monoklonalen anti-humanen Anti-cd42b Antikörpers, welcher zur Thrombozyten Markierung dient. Als Antikörper wurden hier verwendet Anti-CD62P-FITC (Hersteller: Beckman Coulter), PAC1-FITC (Hersteller: BD-Biosciences), Anti-CXCL14-FITC (Hersteller: Biorbyt) und Anti-CD42b-PE (Hersteller: BD Biosciences). Außerdem wurden hierfür verwendet: Anti-CXCR-4-PE (Hersteller: R&D Systems) und Anti CD42b-FITC (Hersteller: Beckman Coulter). FITC und PE stehen für die hierbei verwendeten fluoreszierenden Farbstoffe Fluoresceinisothiocyanat (FITC) und Phycoerythrin (PE). Diese Lösung wird nun für 30 Minuten lichtgeschützt mit den Antikörpern inkubiert. Danach wurde die Lösung durch Zugabe von 0,5% Paraformaldehyd fixiert und bis zur Untersuchung bei 4 Grad Celsius gelagert. Die Messungen wurden stets noch am gleichen Tag durchgeführt, hierfür wurde das FACScalibur von BD Biosciences verwendet. Hierbei wurden Werte der mittleren Fluoreszenzintensität (MFI) für verschiedene Biomarker ermittelt. Außerdem wurde der prozentuale Anteil der CXCL14 positiven Plättchen für die Auswertung verwendet.

## 2.3 Enzym-linked immunosorbent assay (ELISA)

Die CXCL14-Spiegel im Blutplasma wurden mit DuoSet ELISA-Kits des Herstellers R&D Systems, gemäß den Richtlinien des Herstellers gemessen. Ethylendiamintetraessigsäure-Plasmaproben wurden innerhalb von 30 Minuten nach der Entnahme für 15 Minuten bei 10 000 g zentrifugiert. Die Proben wurden aliquotiert und bis zur Analyse bei -80°C gelagert.

Zur Vorbereitung der ELISA Platten muss der Fänger-Antikörper auf eine Konzentration von 1.0 µg/ml verdünnt werden. Mit diesem Antikörper wurden die 96 Well Platten beimpft mit 100 µl pro Well. Die Platten wurden abgedeckt und über Nacht bei Raumtemperatur inkubiert. Am nächsten Tag wurde die Platte mit Waschpuffer gewaschen. Dafür wurden die einzelnen Wells, nach Entfernung des Fänger-Antikörpers, 3 Mal mit 400 µl des Puffers befüllt, hierbei ist darauf zu achten, dass der Puffer bei jedem Waschgang komplett entfernt wird. Die Wells sollten mit 300 µl Verdünnungsreagenz, welches aus 1% BSA in PBS besteht, befüllt werden, um diese zu blockieren. Die Wells wurden für eine Stunde damit inkubiert. Daraufhin wurde der bereits beschriebene Waschvorgang wiederholt. Es wurden 100 µl der Plasmaproben in die 96 Wells gegeben, wobei eine Probe jeweils in 2 Wells gegeben wurde. Die Platten wurden nun mit einem Klebestreifen abgeklebt und für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Nach der Inkubationszeit wurde der bereits beschriebene Waschvorgang durchgeführt. Der Detektionsantikörper wurde mit dem Verdünnungsreagenz auf eine Konzentration von 250 ng/ml verdünnt und es wurden 100 µl davon in jedes Well gegeben, mit Klebeband abgedeckt und für 2 Stunden bei Raumtemperatur inkubiert. Daraufhin wurde der Waschvorgang wiederholt. Die Platten wurden nun mit 100 µl Streptavidin-HRP Lösung beimpft. Die Platte wurde abgedeckt und für 20 Minuten inkubiert, hierbei sollte die Platte nicht in direktem Licht stehen. Auch nach diesem Schritt wurde der Waschvorgang wiederholt. Nun wurden 100 µl Substratlösung zugegeben, sie besteht aus einer 1:1 Mischung aus Color Reagens A (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and Color Reagens B (Tetramethylbenzidine). Dabei wurde wieder für 20 Minuten inkubiert, auch hier sollte die Platte nicht in direktem Licht stehen. Diese Reaktion wurde mit der Stop-Lösung (2 N H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) gestoppt. Zur Auswertung muss die optische Dichte mit einem microplate reader bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen werden. Durch den Vergleich der optischen Dichte mit der erstellten Standardkurve, bei welcher optische Dichte gegen die Konzentration aufgetragen wurde, kann die Konzentration des Antigens ermittelt werden. Die Messung wurde doppelt für jede Plasmaprobe durchgeführt und der jeweilige Mittelwert gebildet.

## 2.4 Thrombozytenaggregations-Analyse

Die Analyse der Thrombozytenaggregation wurde mittels Multiplate® Analyzer (Roche diagnostics) durchgeführt. Hierfür wurden, jeweils 300 µl hiridinisiertes Blut mit 300 µl 0,9% Kochsalzlösung für 3 Minuten inkubiert. Daraufhin wurde zu je einer inkubierten Lösung, jeweils 20 µl des TRAP, Arachidonsäure sowie des ADP-Testreagenz zugegeben. Die Arachidonsäure wird hierbei für den ASPI-Test verwendet. Nun wurde die Aggregation der Thrombozyten am Multiplate® Analyzer gemessen. Dabei misst der Multiplate® Analyzer die Adhäsion und Aggregation der Thrombozyten an den Sensoren. Diese Aggregation führt zu einer Impedanzerhöhung und kann dadurch indirekt gemessen werden. Sie wird in Form der Aggregation Units gegen die Zeit aufgezeichnet. Dadurch erhält man die Aggregation Area under the curve (AUC) für verschiedenen Signalwege zur Aktivierung der Thrombozyten.

## 2.5 Ermittlung der linksventrikulären Ejektionsfraktion

Um die linksventrikuläre Ejektionsfraktion zu ermitteln, wurden bei einigen Probanden entweder echokardiographische Untersuchungen durchgeführt oder die linksventrikuläre Ejektionsfraktion durch Laevokardiographie im Zuge der Herzkatheteruntersuchung ermittelt. Hierbei konnte in der Echokardiographie eine genaue Ermittlung der Ejektionsfraktion überwiegend durch die Scheibchensumptionsmethode nach Simpson durchgeführt werden. Dadurch war es möglich genaue Prozentangaben zu machen und damit eine Klassifizierung der systolischen linksventrikulären Funktion zu erstellen. Hierbei wurde initial eine LVEF von 50 – 40 % von uns als leicht eingeschränkt, von 39 – 30 % mittelgradig eingeschränkt und von <30 % schwer eingeschränkt klassifiziert, jedoch im Verlauf der Arbeit die LVEF nur noch in eingeschränkt und nicht eingeschränkt eingeteilt. In der Laevokardiographie wird es durch Gabe von Kontrastmittel in den Ventrikel ebenfalls möglich Wandbewegungsstörungen und die systolische Funktion zu beurteilen. Durch Planimetrie des enddiastolischen und endsystolischen Volumens kann auch hier die Ejektionsfraktion bestimmt werden.

## 2.6 Statistische Analyse

Die statistischen Analysen wurden mit SPSS-Version 27.0 (IBM, USA) und GraphPad Prism Software (GraphPad Software, Inc. USA) durchgeführt. Alle statistischen Tests waren zweiseitige Tests und das statistische Signifikanzniveau wurde als  $p < 0,05$  definiert.

Die Daten werden als Median mit 25. und 75. Perzentile, Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (SD) oder Anzahl und Prozentsatz dargestellt.

Bei einigen Daten wurde eine Umwandlung der Werte in den Logarithmus oder die Quadratwurzel durchgeführt, um eine Normalverteilung zur Durchführung parametrischer Tests zu schaffen.

Bei der Analyse von 2 normalverteilten Gruppen wurde der t-Test für unabhängige Stichproben genutzt. Der Kruskal-Wallis Test wurde für mehr als 2 unabhängige Stichprobengruppen verwendet bei nicht parametrischen Daten. Für mehr als 2 unabhängige Stichproben, welche normalverteilt sind, wurde die einfaktorielle Varianzanalyse ANOVA angewandt. In der post-hoc Analyse der einfaktoriellen Varianzanalyse der thrombozytären CXCL14 Werte für die Diagnosen wurde die Bonferroni-Korrektur zur Analyse der Gruppenunterschiede angewandt. Korrelationen von nicht normalverteilten Daten wurden mit dem Spearman's Rangkorrelationskoeffizienten ( $\rho$ ) bewertet. Normalverteilte Daten wurden mit dem Pearson's Korrelation ( $r$ ) analysiert. Eine multivariable lineare Regressionsanalyse wurde mit klinischen Kofaktoren durchgeführt. Das Überleben und die Prognose von Patienten mit einer KHK wurden anhand von Kaplan-Meier-Kurven analysiert. Die Log-rank-Analyse testet hierbei, die Nullhypothese, dass die Kurven, welche in Kaplan-Meier Kurven aufgetragen werden, sich nicht unterscheiden. Ist jedoch  $p < 0,05$  ist von der Alternativhypothese auszugehen, dass die Endpunkte vermehrt bei verschiedenen CXCL14 Werte auftreten, da die Kurven sich signifikant unterscheiden. Sobald hier mehrere Überlebenskurven betrachtet werden, wurde der „logrank test for trend“ verwendet. Außerdem wurde um die Zusammenhänge zwischen Überlebensendpunkten und auf Thrombozyten exprimierten sowie zirkulierenden CXCL14 zu untersuchen die Cox-Proportional-Hazard-Regression angewandt, wobei klinische Werte als Kovariablen

verwendet wurden. Hierbei wurden Quartilen genutzt, um den Vergleich der CXCL14 Werte in vier gleich großen Gruppen anzustellen. Zur Analyse von Konfundierungseffekten wurden Korrelationsanalysen und univariante Cox-Regressions-Analysen verwendet.

### 3. Ergebnisse

#### 3.1 Basischarakteristika und CXCL14

Für die Probanden und die einzelnen Diagnosegruppen wurden Basischarakteristika ermittelt. Hierzu zählen neben dem Alter, dem biologischen Geschlecht und der LVEF auch kardiovaskuläre Risikofaktoren (CVRF) wie arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus und aktives Rauchen. Außerdem wurde die Einnahme von Medikamenten bei Aufnahme ermittelt, welche für die kardiologische Therapie relevant sind. Es wurden weiter die Thrombozytenzahl, das mittlere Volumen der Thrombozyten und die Leukozytenzahl aus den Laborwerten bestimmt. Zur Analyse der p-Werte wurden die einfaktorielle Varianzanalyse und der Kruskal-Wallis Test verwendet. Die Werte sind der nachfolgenden Tabelle 2 zu entnehmen.

**Tabelle 2:** Basischarakteristika der eingeschlossenen Patienten mit Alter, Geschlecht, LVEF, kardiovaskulären Risikofaktoren, Medikamenten bei Aufnahme, Leukozytenzahl, Thrombozytenzahl und mittlerem Thrombozytenvolumen (Schories et al., 2023)

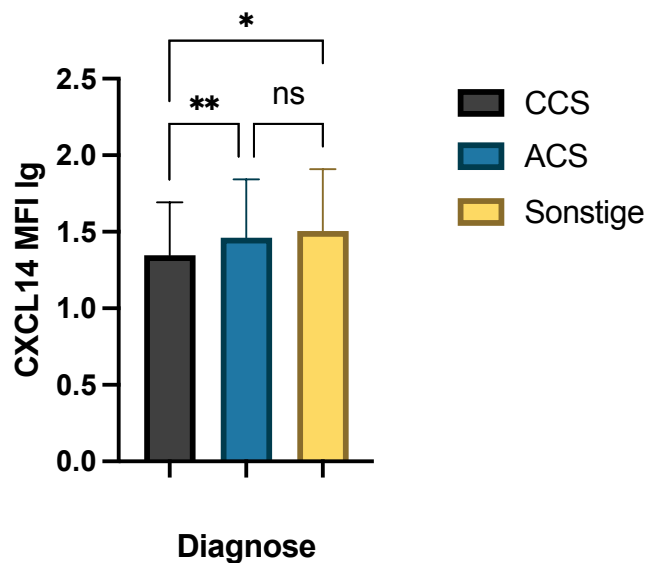
<sup>1</sup>(STEMI n=35; NSTEMI n=70; IAP n =106)

	<b>Gesamt (n=450)</b>	<b>CCS (n=177)</b>	<b>ACS (n=211)<sup>1</sup></b>	<b>Sonstige Diagnosen (n=62)</b>	<b>p-Wert</b>
Alter (Mittelwert±SD) (0 fehlend)	71 (±11)	73 (±10)	70 (±11)	69 (±12)	0,066
Geschlecht (männlich) (0 fehlend)	336 (74,7%)	144 (81,4%)	156 (73,9%)	36 (58,1%)	0,001
LVEF% (Mittelwert±SD) (58 fehlend)	52,74 (±10,3)	52,8 (±10,3)	53,1 (±10,2)	51,5 (±10,8)	0,636
	<b>CVRF (ja/nein) (2 fehlend)</b>				
Arterielle Hypertonie	376 (83,6 %)	154 (87,0%)	178 (84,4%)	44 (71,0%)	0,007

Hyperlipidämie	257 (57,1%)	113 (63,8%)	118 (55,9%)	26 (41,9%)	0,007
Diabetes mellitus	123 (27,3 %)	60 (33,9%)	52 (24,6%)	11 (17,7%)	0,02
Aktives Rauchen	136 (30,2%)	65 (36,7%)	66 (31,3%)	5 (8,1%)	<0,001
<b>Medikamente bei Aufnahme (ja/nein) (25 fehlend)</b>					
Acetylsalicylsäure	172 (38,2%)	77 (43,5%)	88 (41,7%)	7 (11,3%)	<0,001
Clopidogrel	43 (9,6%)	21 (11,9%)	21 (10,0%)	1 (1,6%)	0,07
Prasugrel	14 (3,1%)	11 (6,2%)	3 (1,4%)	0 (0,0%)	0,013
Ticagrelor	18 (4,0%)	10 (5,6%)	8 (3,8%)	0 (0,0%)	0,174
Orale Antikoagulation	69 (15,3%)	25 (14,1%)	28 (13,3%)	16 (25,8%)	0,042
ACE-Inhibitoren	92 (20,4%)	37 (20,9%)	47 (22,3%)	8 (12,9%)	0,219
AT1-Blocker	107 (23,8%)	46 (26,0%)	46 (21,8%)	15 (24,2%)	0,87
Ca-Kanal-Blocker	67 (14,9%)	24 (13,6%)	32 (15,2%)	11 (17,7%)	0,572
Beta-Blocker	187 (41,6%)	78 (44,1%)	83 (39,3%)	26 (41,9%)	0,958
Thiazide	47 (10,4%)	20 (11,3%)	21 (10,0%)	6 (9,7%)	0,968
Statine	193 (42,9%)	86 (48,6%)	90 (42,7%)	17 (27,4%)	0,027
Sacubitril/Valsartan (202 fehlend)	7 (1,6%)	5 (2,8%)	1 (0,5%)	1 (1,6%)	0,390
SGLT2 Inhibitoren (202 fehlend)	10 (2,2%)	9 (5,1%)	1 (0,5%)	0 (0,0%)	0,032
<b>Laborwerte bei Aufnahme (Mittelwert ±SD)</b>					
Thrombozytenzahl (*1000/ $\mu$ l) (10 fehlend)	225 (±76)	232 (±64)	233 (±85)	230 (±71)	0,04
Leukozytenzahl (1/ $\mu$ l) (10 fehlend)	8143 (±3085)	7684 (±2343)	8762 (±3684)	7298 (±2112)	<0,001
Mittleres Thrombozytenvolumen (fl) (12 fehlend)	10,2 (±1,0)	10,2 (±1,0)	10,2 (±1,0)	10,1 (±0,9)	0,829

### 3.2 CXCL14 und die Diagnose bei Aufnahme

Wenn man die Expression des CXCL14 auf den Thrombozyten für die verschiedenen Ausprägungen der koronaren Herzkrankheit auswertet, ist klar zu erkennen, dass für die Probanden, welche ohne eine KHK als Diagnose in die Studie eingeschlossen wurden die Expression des CXCL14 am ausgeprägtesten ist (Mittelwert MFI lg  $1.51 \pm 0.40$ ), gefolgt von Patienten mit einem ACS als Diagnose (Mittelwert MFI lg  $1.47 \pm 0.38$ ) und Patienten mit der Diagnose CCS hatten hier die niedrigsten Werte (Mittelwert MFI lg  $1.35 \pm 0.35$ ) (Schories et al., 2023). Wendet man nun die einfaktorielle Varianzanalyse an, ergibt sich mit  $p=0,002$  ein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen. In der post-hoc Analyse mit Bonferroni-Anpassung, welche aufgrund Mehrfachtestung durchgeführt wird, kann man Zusammenhänge bzw. Unterschiede zwischen den Ergebnissen der verschiedenen Diagnosegruppen herstellen. Im Vergleich von Patientenproben ohne KHK als Diagnose mit Patienten mit einem CCS ist eine klare Signifikanz zu erkennen, der p-Wert liegt hierbei bei  $p=0,012$ . Auch die Patienten, welche mit der Diagnose eines ACS aufgenommen wurden, unterscheiden sich signifikant von den Probanden mit Diagnose CCS, so liegt hier der p-Wert bei  $0,008$ . Zwischen Probanden mit einem ACS und sonstigen Diagnosen konnte kein signifikanter Unterschied in der Expression des CXCL14 auf der Oberfläche der Thrombozyten festgestellt werden. Der p-Wert lag hier bei  $1,0$  (siehe Abbildung 4) (Schories et al., 2023).



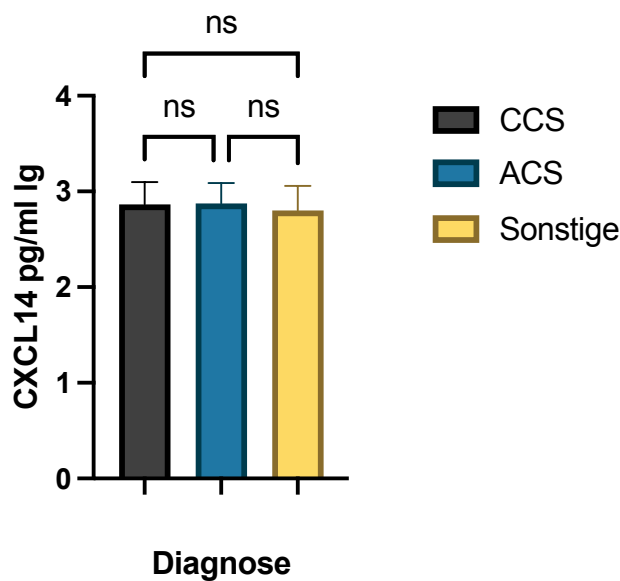
**Abbildung 4:** Thrombozytäres CXCL14 MFI lg und die Diagnose bei Aufnahme;  $p=0,008$ ,  $p=0,012$  (Schories et al., 2023)

Eine weitere Möglichkeit der Auswertung stellt hier der prozentuale Anteil der CXCL14 positiven Thrombozyten in der Durchflusszytometrie dar. Dafür wurde der Kruskal-Wallis Test verwendet, da es sich hierbei nicht um logarithmierte Werte handelt, also eine nicht-parametrische Analyse angewandt wird. Dabei zeigte sich mit einem  $p=0,008$  eine signifikante Abweichung der Diagnosegruppen. Hier stellte die Gruppe der Probanden mit sonstigen Diagnosen die Subgruppe mit den höchsten Werten dar, gefolgt von der Gruppe der ACS-Probanden und der CCS-Probanden (siehe Tabelle 3). Vergleicht man nun Diagnosegruppen unterscheiden sich sonstige Diagnosen und CCS signifikant ( $p=0,005$ ) und ACS verglichen mit CCS ( $p=0,021$ ). Hingegen nicht signifikant ist die Untergruppe der sonstigen Diagnosen verglichen mit der ACS-Gruppe ( $p=0,225$ ) (Schories et al., 2023).

**Tabelle 3:** Prozentwerte der CXCL14 positiven Thrombozyten für die Diagnosegruppen (Schories et al., 2023)

	<b>Sonstige Diagnose</b>	<b>ACS</b>	<b>CCS</b>
<b>Median des CXCL14-Prozentwertes und die 25. und 75. Perzentile</b>	63,2 (11,5/78,4)	59,0 (9,9/74,9)	34,2 (7,3/68,9)

Wenn hingegen die Diagnosen bei Aufnahme und die Plasma-Spiegel des zirkulierenden CXCL14 verglichen wurden, waren die Spiegel bei Patienten mit keiner KHK-Diagnose am niedrigsten (Mittelwert CXCL14 pg/ml  $\lg 2.80 \pm 0.26$ ), gefolgt von der Gruppe der Probanden mit CCS (Mittelwert CXCL14 pg/ml  $\lg 2.86 \pm 0.24$ ) und ACS-Probanden hatten die höchsten Spiegel (Mittelwert CXCL14 pg/ml  $\lg 2.87 \pm 0.21$ ). Hierbei ergaben sich jedoch keine signifikanten Zusammenhänge in der ANOVA Varianzanalyse mit einem  $p= 0,089$  (siehe Abbildung 5) (Schories et al., 2023).



**Abbildung 5:** CXCL14 pg/ml Ig im Plasma und die Diagnose bei Aufnahme (Schories et al., 2023)

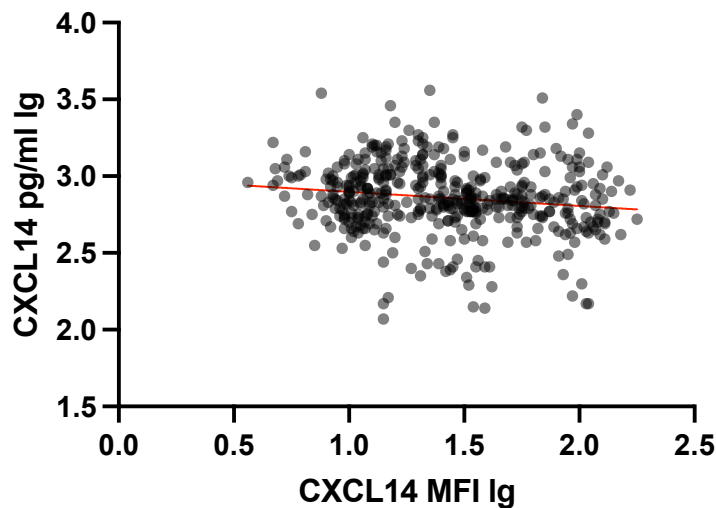
Für die in Abbildung 4 und 5 dargestellten univariablen Daten, wurde außerdem eine multiple lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Hierbei ist thrombozytäres CXCL14 aus Abbildung 4 und zirkulierendes CXCL14 aus Abbildung 5 die abhängige Variable und kardiovaskuläre Risikofaktoren und die Diagnosen stellen die unabhängigen Variablen dar. Dabei wird der Regressionskoeffizient im 95% Konfidenzintervall (KI) angegeben. Hierbei zeigt ein positiver Regressionskoeffizient eine positive Beziehung zwischen abhängiger Variable und unabhängiger Variable an, je näher der Regressionskoeffizient an 0 ist, desto schwächer ist diese Beziehung. Dick markierte Regressionskoeffizienten zeigen hier eine signifikante Beziehung mit einem p-Wert von  $<0,05$  an (siehe Tabelle 4).

**Tabelle 4:** Multiple lineare Regressionsanalyse für Abbildung 4 und 5. CXCL14 MFI Ig und zirkulierendes CXCL14 als abhängige Variable und kardiovaskuläre Risikofaktoren und die Aufnahme Diagnosen als unabhängige Variable; dick=  $p<0,05$  (Schories et al., 2023)

Abhängige Variable:	Regressionskoeffizient
CXCL14 MFI Ig (Abbildung 4)	(95% KI)
Alter	0,001 (-0,003-0,004)
Geschlecht	<b>0,13 (0,53-0,21)</b>
Arterielle Hypertonie	<b>-0,11 (-0,20- -0,01)</b>

Hyperlipidämie	0,03 (-0,04-0,10)
Diabetes mellitus	-0,04 (-0,11-0,04)
Raucher vs Nicht-Raucher	<b>-0,12 (-0,20- -0,05)</b>
Ex-Raucher vs Nicht-Raucher	<b>0,32 (0,18-0,46)</b>
ACS vs CCS	<b>0,11 (0,04-0,18)</b>
Sonstige Diagnose vs CCS	<b>0,14 (0,04-0,25)</b>
<b>Abhängige Variable: Zirkulierendes CXCL14 Ig (Abbildung 5)</b>	<b>Regressionskoeffizient (95% KI)</b>
Alter	-0,0020 (-0,0041-0,0001)
Geschlecht	-0,01 (0,07-0,04)
Arterielle Hypertonie	-0,03 (-0,10- 0,03)
Hyperlipidämie	0,01 (-0,04-0,06)
Diabetes mellitus	-0,01 (-0,06-0,04)
Raucher vs Nicht-Raucher	-0,01 (-0,04-0,06)
Ex-Raucher vs Nicht-Raucher	-0,08 (-0,17-0,01)
ACS vs CCS	0,01 (-0,04-0,06)
Sonstige Diagnose vs CCS	-0,07086 (-0,14175-0,00003)

Es zeigte sich bei Analyse mittels der Pearsons Korrelation, dass, wenn auch nur schwach, die Ausprägung des CXCL14 auf Thrombozyten invers mit den gemessenen Leveln des zirkulierenden CXCL14 korreliert (n=443,  $r=-0.150$ ), diese inverse Korrelation ist signifikant mit einem  $p=0.002$  (siehe Abbildung 6) (Schories et al., 2023). Dies konnte ebenfalls gezeigt werden, wenn für die Berechnung der prozentuale Anteil an CXCL14 positiven Thrombozyten und Werte des zirkulierenden CXCL14 herangezogen wurden, hierbei wurde eine Spearman Korrelation genutzt, da die Daten der prozentual CXCL14 positiven Thrombozyten einen nicht parametrischen Test erfordern. Es ergibt sich ein  $\rho=-0.143$  mit einem  $p=0.003$  (Schories et al., 2023).

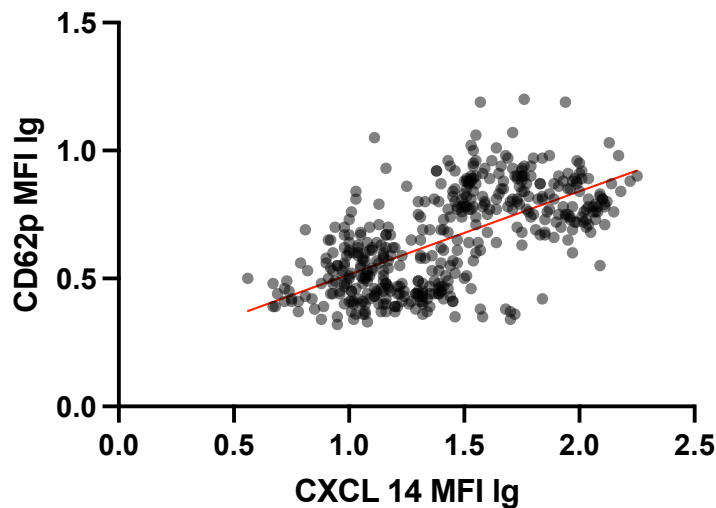


**Abbildung 6:** Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig und im Plasma zirkulierendes CXCL14 pg/ml;  $r=-0,150$ ,  $p=0,002$  Ig (Schories et al., 2023)

### 3.3 CXCL14 und weitere Biomarker

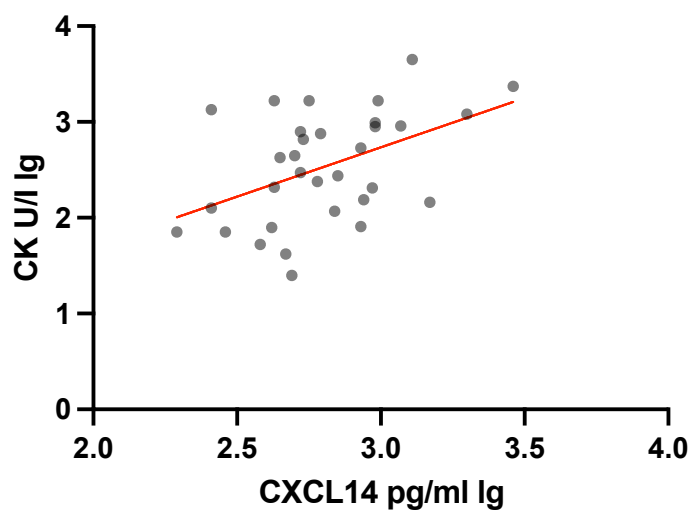
Es konnten außerdem Korrelationen für das auf der Oberfläche der Thrombozyten exprimierte CXCL14 und weitere Biomarker dargestellt werden. Ein signifikanter Zusammenhang ergab sich in der Analyse des thrombozytären CXCL14 und des Aktivierungsmarkers für Thrombozyten CD62P. Hierbei wurden beide Datensätze logarithmiert und deshalb die Pearson Korrelation durchgeführt. Der r-Wert lag bei  $r=0,636$  für  $n=447$ , daraus ergab sich ein p-Wert von  $p<0,001$  (siehe Abbildung 7). Somit geht eine erhöhte Expression von CXCL14 auf der Oberfläche der Thrombozyten mit einer erhöhten Expression von CD62p einher (Schories et al., 2023).

Außerdem zeigt auch der prozentuale Anteil der CXCL14 positiven Thrombozyten eine positive Korrelation mit CD62P in der Spearman Korrelation ( $\rho=0.582$ ,  $p<0.001$ ) (Schories et al., 2023).



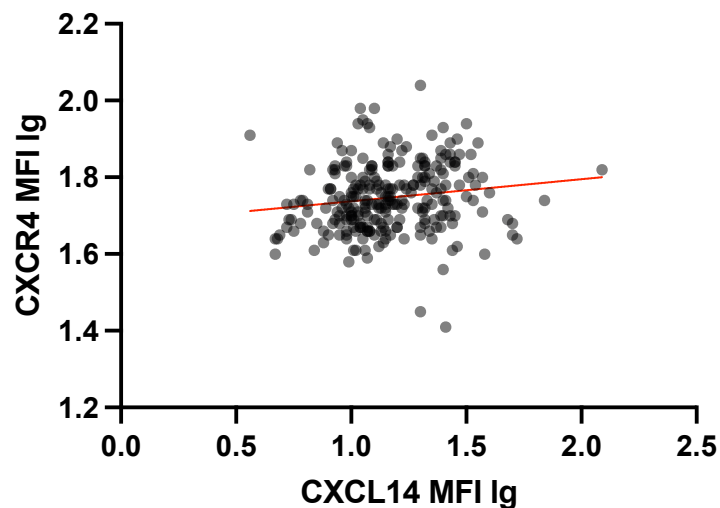
**Abbildung 7:** Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig und thrombozytäres CD62p MFI Ig;  $r=0,636$ ,  $p<0,001$  (Schories et al., 2023)

In der Untergruppe der STEMI-Patienten konnte eine positive Korrelation zwischen den Plasmaspiegeln des zirkulierenden CXCL14 und der im Serum gemessenen Kreatinkinase (CK) bei der Analyse gefunden werden. Die Kreatinkinase, stellt unter anderem einen Biomarker sowohl für den Untergang von Skelettmuskelzellen als auch von Herzmuskelzellen dar. Der Korrelationskoeffizient belief sich in der Pearson Korrelation auf  $r=0,462$  für  $n=32$ , was einen p-Wert von  $p=0,008$  ergibt (siehe Abbildung 8) (Schories et al., 2023).



**Abbildung 8:** CXCL14 Ig zirkulierend im Plasma und CK Ig zirkulierend im Plasma;  $r=0,462$ ,  $p=0,008$  (Schories et al., 2023)

In der weiteren Analyse fiel der positive Zusammenhang zwischen CXCL14 auf der Thrombozytenoberfläche und CXCR4 ebenfalls an der Oberfläche der Thrombozyten auf. Für die Expression von CXCR4 und CXCL14 auf Thrombozyten ergab sich ein Zusammenhang mit einem  $r=0,146$ , was einen p-Wert von  $p=0,020$  in der Korrelation nach Pearson ergibt bei einem  $n=252$  (siehe Abbildung 9). Hierbei ergab sich das geringere n, dadurch, dass erst in dem 2. Zeitraum der Datengewinnung von März-September 2020 die Expression des CXCR4 auf den Thrombozyten bestimmt wurde. Auch für den prozentualen Anteil CXCL14 positiver Thrombozyten und dem CXCR4 auf der Thrombozytenoberfläche konnte eine schwache Korrelation in der Korrelation nach Spearman nachgewiesen werden mit  $\rho=0.176$  und  $p=0.005$  (Schories et al., 2023).



**Abbildung 9:** Thrombozytäres CXCL14 MFI lg und thrombozytäres CXCR4 MFI lg;  $r=0,146$ ,  $p=0,020$  (Schories et al., 2023)

Um die Ergebnisse der weiteren Biomarker für die einzelnen Diagnosegruppen darzustellen, sind in Tabelle 5 der Median sowie die 25. und 75. Perzentile aufgeführt.

**Tabelle 5:** CXCR4 MFI, CD62p MFI und CK U/I für Diagnosegruppen; Darstellung: Median (25./75. Perzentile) (Schories et al., 2023)

	CCS	ACS	Sonstige Diagnosen
<b>CXCR4 MFI</b> (n=252)	36,0 (29,2/47,0)	34,2 (27,2/41,5)	33,1 (26,7/40,2)
<b>CD62p MFI</b> (n=447)	3,7 (2,8/5,9)	5,2 (3,2/7,1)	5,0 (3,4/6,4)
<b>CK U/I (n=360)</b>	98,5 (67,0/151,0)	112,0 (75,0/209,0)	102 (68/175)

Für die in Abbildung 6-9 dargestellten univariablen Daten wurde außerdem eine Analyse mit einer multiplen linearen Regression durchgeführt. Hierbei ist thrombozytäres CXCL14 aus Abbildung 6,7 und 9 die abhängige Variable und kardiovaskuläre Risikofaktoren, Diagnosen sowie zirkulierendes CXCL14, CD62P MFI lg und CXCR4 MFI lg die unabhängigen Variablen. In Abbildung 8 ist zirkulierendes CXCL14 die abhängige Variable und die CK die unabhängige Variable. Hierbei wird der Regressionskoeffizient im 95% Konfidenzintervall angegeben. Dick markierte Regressionskoeffizienten zeigen hier einen p-Wert von <0,05 an.

**Tabelle 6:** Multiple lineare Regressionsanalyse für Abbildung 6 bis 9 mit CXCL14 MFI lg und zirkulierendem CXCL14 als abhängige Variablen und kardiovaskuläre Risikofaktoren, Diagnosen sowie zirkulierendes CXCL14, CD62P MFI lg, CK U/I und CXCR4 MFI lg als unabhängige Variablen; dick=p<0,05; \*= Vorauswahl aufgrund geringer Fallzahl der STEMI-Patienten (Schories et al., 2023)

<b>Abhängige Variable:</b> <b>CXCL14 MFI lg (Abbildung 6)</b>	<b>Regressionskoeffizient</b> <b>(95% KI)</b>
Alter	0,00003 (-0,00317-0,00323)
Geschlecht	<b>0,12 (0,05-0,20)</b>
Arterielle Hypertonie	<b>-0,11 (-0,22- -0,02)</b>
Hyperlipidämie	0,03 (-0,04-0,10)
Diabetes mellitus	-0,03 (-0,11-0,04)
Raucher vs Nicht-Raucher	<b>-0,12 (-0,20- -0,05)</b>
Ex-Raucher vs Nicht-Raucher	<b>0,30 (0,17-0,44)</b>
ACS vs CCS	<b>0,12 (0,04-0,19)</b>
Sonstige Diagnose vs CCS	<b>0,13 (0,02-0,24)</b>

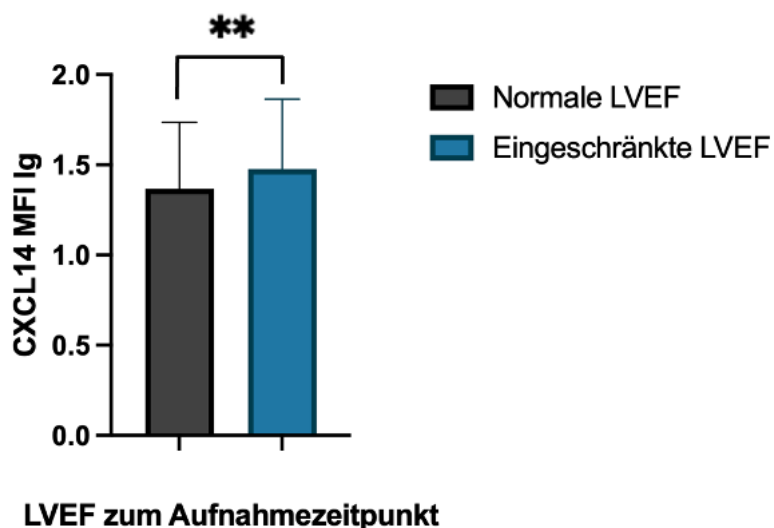
Zirkulierendes CXCL14 Ig	<b>-0,21 (-0,36- -0,07)</b>
<b>Abhängige Variable: CXCL14 MFI Ig (Abbildung 7)</b>	<b>Regressionskoeffizient (95% KI)</b>
Alter	0,001 (-0,001-0,004)
Geschlecht	<b>0,11 (0,05-0,18)</b>
Arterielle Hypertonie	-0,07 (-0,15-0,01)
Hyperlipidämie	0,04 (-0,02-0,09)
Diabetes mellitus	-0,03 (-0,09-0,03)
Raucher vs Nicht-Raucher	-0,06 (-0,12-0,01)
Ex-Raucher vs Nicht-Raucher	<b>0,15 (0,04-0,27)</b>
ACS vs CCS	0,02 (-0,04-0,08)
Sonstige Diagnose vs CCS	<b>0,09 (0,04-0,18)</b>
CD62p MFI Ig	<b>1,14 (0,99-1,28)</b>
<b>Abhängige Variable: Zirkulierendes CXCL14 Ig (Abbildung 8)</b>	<b>Regressionskoeffizient (95% CI)</b>
CK U/l Ig	<b>0,21 (0,06-0,36)*</b>
<b>Abhängige Variable: CXCL14 MFI Ig (Abbildung 9)</b>	<b>Regressionskoeffizient (95% CI)</b>
Alter	0,001 (-0,002-0,003)
Geschlecht	0,04 (-0,03-0,11)
Arterielle Hypertonie	-0,06 (-0,15-0,03)
Hyperlipidämie	-0,01 (-0,07-0,06)
Diabetes mellitus	-0,04 (-0,10-0,03)
Raucher vs Nicht-Raucher	0,03 (-0,04-0,09)
ACS vs CCS	-0,03 (-0,09-0,04)
Sonstige Diagnose vs CCS	-0,02 (-0,10-0,09)
CXCR4 MFI Ig	<b>0,35 (0,02-0,68)</b>

### 3.4 CXCL14 und die LVEF

Um die Zusammenhänge zwischen dem thrombozytären CXCL14, sowie dem im Plasma zirkulierenden CXCL14 und der Funktion des Herzens zu analysieren wurde die LVEF (linksventrikuläre Ejektionsfraktion) via transthorakaler Echokardiographie oder

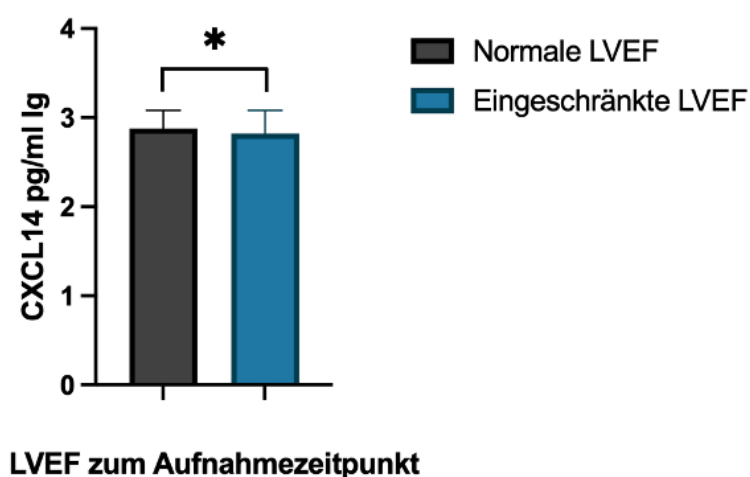
Herzkatheteruntersuchung ermittelt. Hierbei wurden initial n=381 Probanden nach eingeschränkter und normaler linksventrikulärer Funktion eingeteilt, wobei sich die Patienten wie folgend auf die Diagnosegruppen aufteilten: 149 Patienten hatten ein CCS, wobei 88 eine normale Funktion und 61 eine eingeschränkte linksventrikuläre Funktion aufwiesen. 179 hatten als Diagnose ein ACS, hierbei 108 mit uneingeschränkter und 71 mit eingeschränkter linksventrikulärer Funktion und 53 hatten keine KHK wobei 27 eine normale und 26 eine eingeschränkte linksventrikuläre Funktion hatten (Schories et al., 2023).

Für das auf den Oberflächen der Thrombozyten exprimierte CXCL14 bei Aufnahme konnte ein Zusammenhang mit einer eingeschränkten LVEF bei Aufnahme in die Studie, verglichen mit einer normalen LVEF, dargestellt werden. So wurde bei eingeschränkter LVEF bei Aufnahme vermehrt CXCL14 auf der Oberfläche exprimiert. Bei eingeschränkter LVEF ergab sich ein arithmetisches Mittel von MFI lg 1,48 für die logarithmische CXCL14 Expression auf der Thrombozytenoberfläche mit einer Standardabweichung von  $\pm 0.39$ , verglichen mit dem arithmetischen Mittel bei uneingeschränkter LVEF von CXCL14 MFI lg 1,37 und einer Standardabweichung von  $\pm 0.37$ . Hierbei zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang mit einem  $p=0,006$  im t-Test für unabhängige Stichproben (siehe Abbildung 10) (Schories et al., 2023).



**Abbildung 10:** Thrombozytäres CXCL14 MFI lg und LVEF bei Aufnahme;  $p=0,006$  (Schories et al., 2023)

Ebenso konnte für zirkulierendes CXCL14 zum Zeitpunkt der Aufnahme ein Zusammenhang dargestellt werden. Es ergab sich hier jedoch eine signifikant inverse Korrelation im Vergleich zu dem geschilderten Zusammenhang für CXCL14 auf der Oberfläche der Thrombozyten. Probanden mit eingeschränkter LVEF hatten bei Aufnahme niedrigere Werte an zirkulierendem CXCL14. Es ergab sich ein arithmetisches Mittel  $\pm$  SD von 2.82 pg/ml  $\pm$ 0.26 für zirkulierendes CXCL14 in Patienten mit eingeschränkter LVEF. Verglichen zeigten Patienten mit normaler LVEF für zirkulierendes CXCL14 ein Mittel  $\pm$  SD von 2,88 pg/ml  $\pm$ 0.20 (siehe Abbildung 11). Für diesen Zusammenhang ergibt sich ein  $p=0,029$  im t-Test für unabhängige Stichproben (Schories et al., 2023).



**Abbildung 11:** CXCL14 pg/ml Ig im Plasma und die LVEF bei Aufnahme;  $p=0,029$  (Schories et al., 2023)

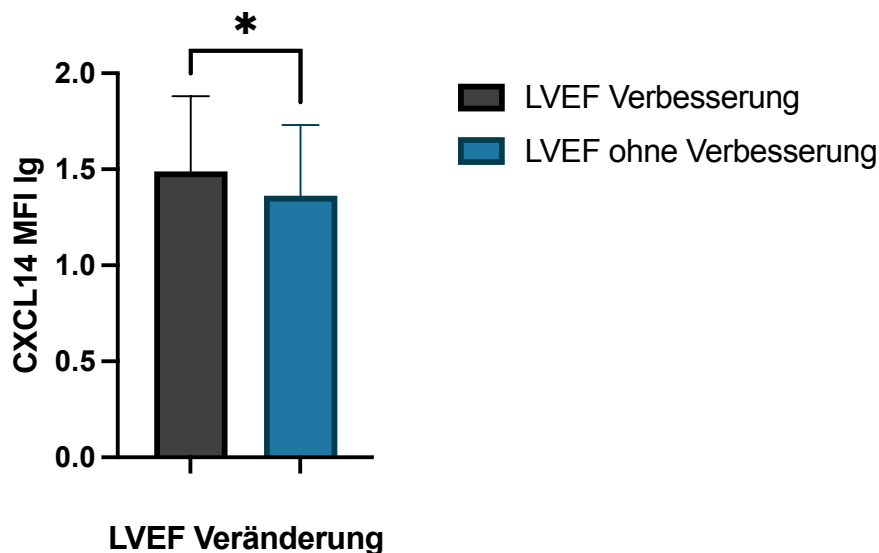
Für die in Abbildung 10 und 11 dargestellten univariablen Daten, wurde außerdem eine Analyse mit einer multiplen linearen Regression durchgeführt. Hierbei sind thrombozytäres CXCL14 aus Abbildung 10 und zirkulierendes CXCL14 aus Abbildung 11 die abhängige Variable und kardiovaskuläre Risikofaktoren, Diagnosen und die LVEF bei Aufnahme die unabhängigen Variablen. Der Regressionskoeffizient wird im 95% Konfidenzintervall angegeben. Dick markierte Regressionskoeffizienten zeigen hier einen  $p$ -Wert von  $<0,05$  an.

**Tabelle 7:** Multivariable Regressionsanalyse für Abbildung 10 und 11 mit CXCL14 MFI Ig und zirkulierendem CXCL14 als abhängige Variablen und kardiovaskuläre Risikofaktoren, Diagnosen und die LVEF als unabhängige Variablen; dick= p <0,05 (Schories et al., 2023)

<b>Abhängige Variable: CXCL14 MFI Ig (Abbildung 10)</b>	<b>Regressionskoeffizient (95% KI)</b>
Alter	-0,001 (-0,005-0,002)
Geschlecht	<b>0,10 (0,01-0,18)</b>
Arterielle Hypertonie	-0,10 (-0,20- 0,01)
Hyperlipidämie	0,02 (-0,06-0,09)
Diabetes mellitus	-0,02 (-0,11-0,06)
Raucher vs Nicht-Raucher	<b>-0,15 (-0,23- -0,06)</b>
Ex-Raucher vs Nicht-Raucher	<b>0,31 (0,16-0,45)</b>
ACS vs CCS	<b>0,10 (0,02-0,18)</b>
Sonstige Diagnose vs CCS	<b>0,17 (0,06-0,29)</b>
LVEF normal vs eingeschränkt	<b>0,076 (0,003-0,150)</b>
<b>Abhängige Variable Zirkulierendes CXCL14 Ig (Abbildung 11)</b>	<b>Regressionskoeffizient (95% KI)</b>
Alter	-0,002 (-0,004-0,001)
Geschlecht	0,02 (-0,03-0,08)
Arterielle Hypertonie	-0,05 (-0,11-0,02)
Hyperlipidämie	0,01 (-0,04-0,05)
Diabetes mellitus	-0,02 (-0,07-0,04)
Raucher vs Nicht-Raucher	0,01 (-0,05-0,06)
Ex-Raucher vs Nicht-Raucher	<b>-0,11 (-0,21-0,02)</b>
ACS vs CCS	0,01 (-0,04-0,06)
Sonstige Diagnose vs CCS	-0,09 (-0,17- -0,01)
LVEF normal vs eingeschränkt	<b>-0,051 (-0,099- -0,004)</b>

Bei n=171 Probanden, was 38% der Gesamtheit aller Studienteilnehmer darstellt, konnten nach mindestens 3 Monaten die LVEF, durch follow-up Echokardiographie bzw. nachfolgende echokardiographische Untersuchung oder Untersuchungen im Herzkatheterlabor im Zuge der Behandlung im Universitätsklinikum Tübingen, ermittelt werden. Wenn man nun die Veränderung der linksventrikulären Funktion in Form der LVEF betrachtet, konnte bei einigen Probanden eine Verbesserung, bei anderen keine

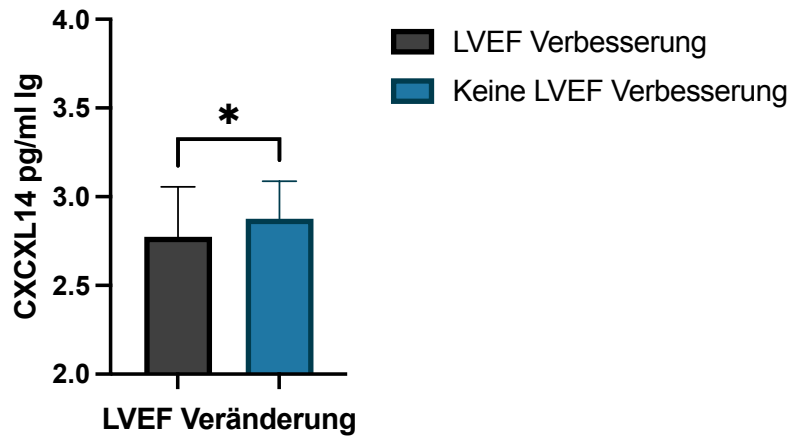
Veränderung und bei einigen eine Verschlechterung beobachtet werden. Diese Gruppen lassen sich nun wieder mit den CXCL14 Werten in Beziehung setzen. Bei n=50 Probanden konnte eine Verbesserung der LVEF mindestens 3 Monate nach Studieneinschluss festgestellt werden. Für n=121 konnte keine Veränderung oder eine Verschlechterung der LVEF erkannt werden. Hierbei zeigte sich, dass Probanden mit verbesserter LVEF bei Aufnahme höhere CXCL14 Werte auf Thrombozyten aufwiesen im Vergleich zu Probanden mit einer unveränderten oder verschlechterten LVEF. Dabei ergab sich für die Gruppe der LVEF-Verbesserung ein CXCL14 MFI Ig Mittelwert von 1,49 mit einer SD von  $\pm 0,39$  und für die Probandengruppe ohne Verbesserung von CXCL14 MFI Ig 1,36 und  $\pm 0,37$ . Hierbei ergibt sich im ungepaarten t-Test ein  $p=0,045$  (siehe Abbildung 12).



**Abbildung 12:** Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig bei Studienaufnahme und Verbesserung der LVEF nach mindestens 3 Monaten;  $p=0,045$

Bei Probanden mit LVEF-Verbesserung wurden ebenfalls niedrige Werte des im Plasma zirkulierenden CXCL14 bei Aufnahme nachgewiesen, wenn sie mit den Spiegeln der Patienten, welche unveränderte oder schlechtere LVEF-Werte in diesem Zeitraum zeigten, verglichen wurden. Die im Plasma zirkulierenden CXCL14 Ig Werte bei verbesserter LVEF zeigte einen Mittelwert von 2,775 pg/ml mit einer SD von  $\pm 0,28$ . Hingegen bei unveränderter oder schlechtere LVEF war der Mittelwert des im Plasma

zirkulierenden CXCL14 2,875 pg/ml und die SD  $\pm 0,21$ . Für diesen Zusammenhang ergab sich im ungepaarten t-Test ein  $p=0,012$  (siehe Abbildung 13).



**Abbildung 13:** CXCL14 pg/ml Ig im Plasma und die LVEF Veränderung nach min. 3 Monaten;  $p=0,012$

Für die in Abbildung 12 und 13 dargestellten univariablen Daten, wurde außerdem eine Analyse mit einer multiplen linearen Regression durchgeführt. Hierbei sind thrombozytäres CXCL14 aus Abbildung 12 und zirkulierendes CXCL14 aus Abbildung 13 die abhängige Variable und kardiovaskuläre Risikofaktoren, Diagnosen sowie die LVEF Veränderung die unabhängigen Variablen. Hierbei wird der Regressionskoeffizient im 95% Konfidenzintervall angegeben. Dick markierte Regressionskoeffizienten zeigen hier eine signifikante Beziehung mit einem  $p$ -Wert von  $<0,05$  an.

**Tabelle 8:** Multivariable Regressionsanalyse für thrombozytäres CXCL14 MFI Ig in Abbildung 12 und zirkulierendes CXCL14 in Abbildung 13, unabhängige Variablen sind kardiovaskuläre Risikofaktoren, Diagnosen und LVEF Veränderung; dick=  $p<0,05$

Abhängige Variable: CXCL14 MFI Ig (Abbildung 12)	Regressionskoeffizient (95% KI)
Alter	0,00 (-0,006-0,005)
Geschlecht	0,07 (-0,052-0,191)
Arterielle Hypertonie	-0,124 (-0,279- 0,032)
Hyperlipidämie	0,061 (-0,047-0,170)

Diabetes mellitus	-0,004 (-0,120-0,111)
Raucher vs Nicht-Raucher	<b>-0,130(-0,253- -0,008)</b>
Ex-Raucher vs Nicht-Raucher	<b>0,324 (0,101-0,547)</b>
ACS vs CCS	0,093 (-0,022-0,208)
Sonstige Diagnose vs CCS	<b>0,329 (0,147-0,510)</b>
LVEF Verbesserung vs keine Verbesserung	<b>0,122 (0,005-0,240)</b>
<b>Abhängige Variable</b>	<b>Regressionskoeffizient</b>
<b>Zirkulierendes CXCL14 Ig (Abbildung 13)</b>	<b>(95% KI)</b>
Alter	-0,002 (-0,006-0,001)
Geschlecht	-0,024 (-0,105-0,056)
Arterielle Hypertonie	-0,049 (-0,155- 0,056)
Hyperlipidämie	0,039 (-0,033-0,111)
Diabetes mellitus	-0,013 (-0,091-0,064)
Raucher vs Nicht-Raucher	0,55 (-0,255-0,053)
Ex-Raucher vs Nicht-Raucher	-0,101 (-0,026-0,137)
ACS vs CCS	0,063 (-0,013-0,139)
Sonstige Diagnose vs CCS	-0,058 (-0,179-0,064)
LVEF Verbesserung vs keine Verbesserung	<b>-0,118 (-0,196- -0,039)</b>

### 3.5 CXCL14 als prognostischer Marker

405 der Patienten wurden 360 Tage nach Studieneinschluss für ein follow-up befragt beziehungsweise anhand ihrer Arztbriefe aufgearbeitet. Hierbei wurden die Endpunkte der Studie ermittelt. Der primäre Endpunkt setzt sich zusammen aus Myokardinfarkt, Gesamtmortalität und ischämischer Schlaganfall. Zusammengefasst werden diese als kombinierter Endpunkt (KE) bezeichnet. Sekundäre Endpunkte sind MI oder Gesamtmortalität (Schories et al., 2023).

Für die Gruppe der KHK-Patienten (n=388) wurde die Anzahl an Ereignisse und Inzidenzrate pro 100 Patientenjahre berechnet (siehe Tabelle 9). Hierbei konnten nur Endpunkte für 350 Patienten bei thrombozytären CXCL14 Ig Werten ermittelt werden und für 346 bei zirkulierenden CXCL14 Werten. Der Grund hierfür waren technische

Schwierigkeiten und Schwierigkeiten bei Gewinnung der Nachsorge Daten (Schories et al., 2023).

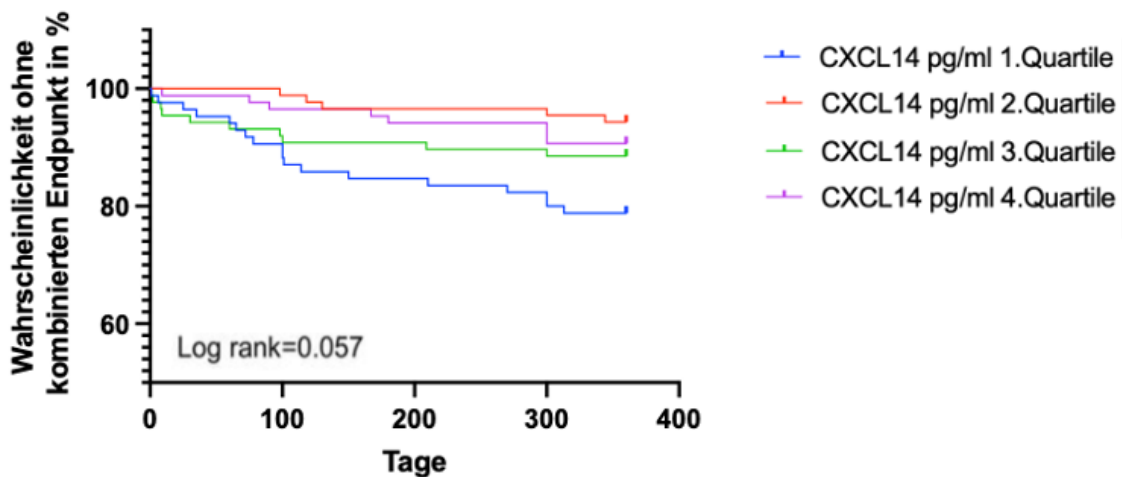
Dabei wurden die verschiedenen Endpunkte betrachtet und mit den CXCL14 Werten in Beziehung gesetzt. Dies wurde für CXCL14 auf der Oberfläche der Thrombozyten sowie für im Plasma zirkulierendes CXCL14 durchgeführt. Außerdem wurden hierbei die CXCL14 Werte durch Quartilen in 4 gleich große Gruppen aufgeteilt, welche hier Quartilen 1.- 4. genannt werden, dies dient zur statistischen Analyse. Dabei stellen Werte der 1. Quartile niedrigere Werte und Werte der 4. Quartile höhere Werte dar. Zur Veranschaulichung und Darstellung der eingetretenen Ereignisse beziehungsweise Endpunkte, wurde die Inzidenzrate eines Ereignisses pro 100 Patientjahre (PY) berechnet. Darüber hinaus gibt die number at risk, die Anzahl der Probanden zu verschiedenen Zeitpunkten für die verschiedenen Quartilen der CXCL14 Werte an. Die Werte der number at risk sind nochmal für den Vergleich der Quartilen des zirkulierenden CXCL14 für den kombinierten Endpunkt (siehe Tabelle 10) und die Gesamtmortalität (siehe Tabelle 11) gegen die Zeit aufgetragen. Zum Vergleich der Überlebenskurven wurde hier der „logrank test for trend“ verwendet, da mehrere Überlebenskurven betrachtet wurden. Kofaktoren werden hierbei nicht miteinbezogen. Die entsprechenden Werte sind Tabelle 9 zu entnehmen und die Kaplan-Meyer Kurven sind für zirkulierendes CXCL14 und den kombinierten Endpunkt in Abbildung 14 und für zirkulierendes CXCL14 und die Gesamtmortalität in Abbildung 15 dargestellt (Schories et al., 2023).

Für CXCL14 auf der thrombozytären Oberfläche konnte kein signifikanter Unterschied der Quartilen für die verschiedenen Endpunkte festgestellt werden (siehe Tabelle 9). Auch, wenn man hierfür die Prozentwerte der CXCL14 positiven Thrombozyten der Patienten betrachtet und die 4. Quartile der Werte mit den anderen 3 vergleicht, erhält man keinen signifikanten Zusammenhang (Log-rank  $p=0.260$ ) (Schories et al., 2023). Jedoch, wenn man die Quartilen der Werte des zirkulierenden CXCL14 vergleicht, war ein Trend, jedoch ohne eine Signifikanz, für eine schlechteres Prognose der Probanden in den Werten der ersten Quartile zu erkennen. Sowohl für den kombinierten Endpunkt mit einem  $p=0,057$  im Log-rank-Test (siehe Abbildung 14), als auch in der Gesamtsterblichkeit mit einem  $p=0,084$  (siehe Abbildung 15) (Schories et al., 2023).

**Tabelle 9:** Ereignisse und Inzidenzraten pro 100 PY in der KHK-Gruppe; Dargestellt werden die Events/number at risk/Inzidenzrate pro 100 Patientenjahren mit 95% Konfidenzintervall für die CXCL14 Quartilen, sowie den Log-rank p für den Zusammenhang zwischen den Quartilen der CXCL14 Werte und verschiedenen Endpunkten (Schories et al., 2023)

<sup>1</sup>1. Quartile=  $x < 1,10$ ; <sup>2</sup>2. Quartile  $\geq 1,10$  x  $< 1,40$ ; <sup>3</sup>3. Quartile  $\geq 1,40$  x  $< 1,70$ ; <sup>4</sup>4. Quartile  $x \geq 1,70$   
<sup>5</sup>1. Quartile=  $x < 2,75$ ; <sup>6</sup>2. Quartile  $\geq 2,75$  x  $< 2,85$ ; <sup>7</sup>3. Quartile  $\geq 2,85$  x  $< 3,00$ ; <sup>8</sup>4. Quartile  $x \geq 3,00$

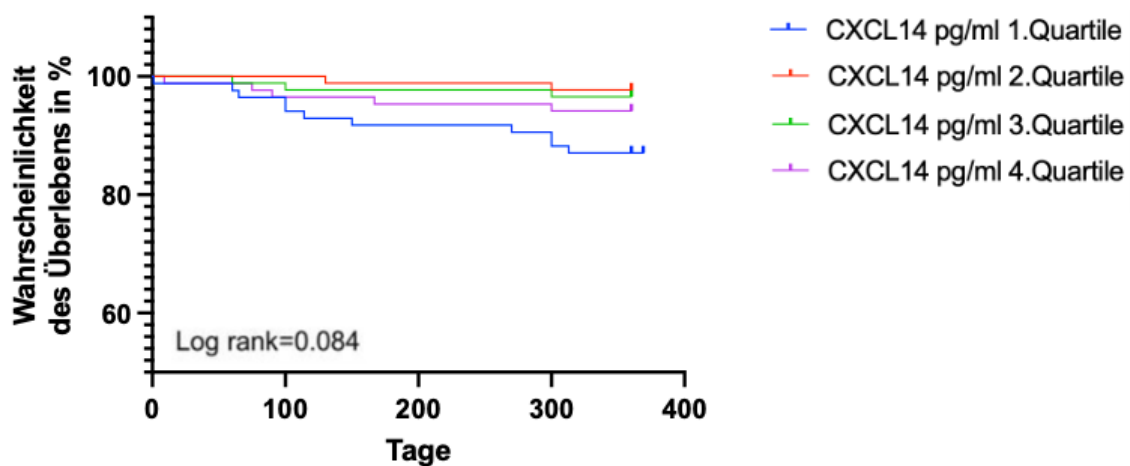
	<b>CXCL14 MFI lg 1. Quartile<sup>1</sup></b>	<b>CXCL14 MFI lg 2. Quartile<sup>2</sup></b>	<b>CXCL14 MFI lg 3. Quartile<sup>3</sup></b>	<b>CXCL14 MFI lg 4. Quartile<sup>4</sup></b>	<b>Log- rank p</b>
Kombinierter Endpunkt	10/88/11,4 (5,5/21,0)	9/89/10,1 (4,6/19,2)	10/86/11,6 (5,6/21,3)	12/87/13,8 (7,1/24,1)	0,88
Gesamtmortalität	7/88/8,0 (3,2/16,5)	6/89/6,7 (2,5/14,6)	4/86/4,7 (1,3/12,0)	4/87/4,6 (1,3/11,8)	0,74
Myokardinfarkt	2/88/2,3 (0,3/8,3)	3/89/3,4 (0,7/9,9)	7/86/8,1 (3,3/16,7)	4/87/4,6 (1,3/11,8)	0,29
Schlaganfall	1/88/1,1 (0,0/6,1)	0/89/0,0 (0,0/4,1)	1/86/1,2 (0,0/6,7)	4/87/4,6 (1,3/11,8)	0,11
	<b>CXCL14 pg/ml lg 1. Quartile<sup>5</sup></b>	<b>CXCL14 pg/ml lg 2. Quartile<sup>6</sup></b>	<b>CXCL14 pg/ml lg 3. Quartile<sup>7</sup></b>	<b>CXCL14 pg/ml lg 4. Quartile<sup>8</sup></b>	<b>Log- rank p</b>
Kombinierter Endpunkt	18/85/21,2 (12,6/33,5)	5/88/5,7 (1,9/13,3)	10/87/11,5 (5,5/21,2)	8/86/9,3 (4,0/18,3)	0,057
Gesamtmortalität	11/85/12,9 (6,5/23,1)	2/88/2,3 (0,3/8,3)	3/87/3,4 (0,7/9,9)	5/86/5,8 (1,9/13,5)	0,084
Herzinfarkt	7/85/8,1 (3,3/16,7)	2/88/3,5 (0,4/12,6)	5/87/5,8 (1,9/13,5)	2/86/2,3 (0,3/8,3)	0,16
Schlaganfall	2/85/2,4 (0,3/8,7)	1/88/1,1 (0,0/6,1)	2/87/2,3 (0,3/8,3)	1/86/1,2 (0,0/6,7)	0,86



**Abbildung 14:** Kaplan-Meier Kurven für Quartile 1.-4. des zirkulierenden CXCL14 für den KE mit dem p-Wert des Log-rank-Tests (Schories et al., 2023)

**Tabelle 10:** Numbers at risk der Quartilen des zirkulierenden CXCL14 über die Zeit bei Betrachtung des kombinierten Endpunktes (Schories et al., 2023)

	0 Tage	100 Tage	200 Tage	300 Tage
1. Quartile	85	77	72	70
2. Quartile	88	87	85	85
3. Quartile	87	80	79	78
4. Quartile	86	83	81	81



**Abbildung 15:** Kaplan-Meier Kurven für Quartile 1.-4. des zirkulierenden CXCL14 für die Gesamt mortalität mit dem p-Wert des Log-rank-Tests (Schories et al., 2023)

**Tabelle 11:** Numbers at risk der Quartilen des zirkulierenden CXCL14 über die Zeit bei Betrachtung der Gesamtmortalität (Schories et al., 2023)

	0 Tage	100 Tage	200 Tage	300 Tage
1. Quartile	85	82	79	77
2. Quartile	88	88	88	87
3. Quartile	87	86	86	85
4. Quartile	86	83	82	82

Es wurde außerdem eine multivariable Cox-regressions-Analyse mit den Quartilen der CXCL14 Werte auf der Thrombozytenoberfläche und den Quartilen des zirkulierenden CXCL14 als Prädiktoren, sowie klinischen Faktoren durchgeführt. Dies wurde sowohl für den kombinierten Endpunkt als auch für die Gesamtmortalität und den Myokardinfarkt als abhängige Variablen berechnet. Hierbei diente bei zirkulierendem CXCL14 die Werte der 1. Quartile zum Vergleich und bei dem auf Thrombozyten exprimierten CXCL14 die Werte der 4. Quartile (siehe Tabelle 12) (Schories et al., 2023). Dabei wird die Proportional Hazards Survival Regression verwendet, hier stellen Alter, Geschlecht, ACS vs. CCS, arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Raucher vs Nicht-Raucher, Ex-Raucher vs Nicht-Raucher, LVEF und die Quartilen der CXCL14 Werte unabhängige Variablen dar. Bei dem Vergleich der Quartilen des Plasmaspiegels des zirkulierenden CXCL14 fällt auf, dass die erste Quartile verglichen mit der 4. Quartile eine Hazards Ratio von 2,53 für einen kombinierten Endpunkt hat. Hierbei ergibt sich ein p-Wert von 0,031 (siehe Tabelle 12) (Schories et al., 2023). Die Hazard Ratio gibt hier ein Risiko für das Eintreten eines im Endpunkt definierten Events an, eine Hazard Ratio von 1 würde keinen Unterschied zwischen den verschiedenen Gruppen bedeuten.

Jedoch zeigte der Vergleich der Werte der ersten Quartile des zirkulierenden CXCL14 mit denen der 2. und 3. Quartile keine signifikanten Abweichungen der Hazard Ratio in Bezug auf die verschiedenen Endpunkte. Außerdem konnte im Vergleich der Quartilen für das auf Thrombozyten exprimierte CXCL14 keine signifikanten Hazard Ratios gezeigt werden (siehe Tabelle 12) (Schories et al., 2023).

**Tabelle 12:** Multifaktorielle Cox-PH Regressions-Analyse für verschiedene Endpunkte, zirkulierendes CXCL14 und CXCL14 auf der Thrombozytenoberfläche, sowie Alter, Geschlecht, ACS vs. CCS, arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Raucher vs Nicht-Raucher, Ex-Raucher vs Nicht-Raucher und LVEF als Kofaktoren; Mit Angabe der hazard ratio und p-Werte (Schories et al., 2023)

	<b>Zirkulierendes CXCL14  (1. Quartile vs 4. Quartile)</b>	<b>Zirkulierendes CXCL14  (1. Quartile vs 3. Quartile)</b>	<b>Zirkulierendes CXCL14  (1.Quartile vs 2. Quartile)</b>
Kombinierter Endpunkt	2,53 (1,09-5,89)  p=0,031	0,98 (0,37-2,63)  p=0,98	1,24 (0,49-3,14)  p=0,65
Gesamtmortalität	2,05 (0,70-6,01)  p=0,19	0,94 (0,27-3,24)  p=0,94	0,59 (0,14-2,46)  p=0,47
Myokardinfarkt	3,92 (0,81-18,9)  p=0,089	0,95 (0,13-6,76)  p=0,96	2,59 (0,50-13,36)  p=0,26
	<b>Thrombozytäres CXCL14  (4. Quartile vs 1. Quartile)</b>	<b>Thrombozytäres CXCL14  (4. Quartile vs 2. Quartile)</b>	<b>Thrombozytäres CXCL14  (4. Quartile vs 3. Quartile)</b>
Kombinierter Endpunkt	0,74 (0,32-1,73),  p= 0,49	0,76 (0,33-1,58),  p=0,52	0,84 (0,37-1,90)  p=0,67
Gesamtmortalität	1,61 (0,47-5,49)  p=0,54	1,49 (0,43-5,12)  p=0,53	1,18 (0,32-4,38)  p=0,81
Myokardinfarkt	0,53 (0,10-2,93)  p=0,47	0,90 (0,20-4,08)  p=0,89	1,62 (0,47-5,23)  p=0,44

Um herauszufinden, ob bestimmte Faktoren sowohl den Spiegel des zirkulierenden CXCL14 und die Oberflächenexpression des CXCL14 auf Thrombozyten als auch die Endpunkte des Studienmodells wie den kombinierten Endpunkt und die sekundären Endpunkte Gesamtmortalität und Myokardinfarkte beeinflussen, wurde der Konfundierungseffekt für diese Faktoren ermittelt. Hierfür wurden für CXCL14 Korrelationen und für Endpunkte univariable Cox Regressionsanalysen angewandt (siehe Tabelle 13) (Schories et al., 2023).

Dabei konnte ein Konfundierungseffekt für das Alter bei zirkulierendem CXCL14 und die Gesamtmortalität gezeigt werden. Für die LVEF konnte sowohl bei zirkulierendem als auch auf Oberflächen exprimierten CXCL14 für die Gesamtmortalität ein Konfundierungseffekt gezeigt werden. Für Diabetes mellitus konnte ein Konfundierungseffekt bei thrombozytärem CXCL14 und Gesamtmortalität und den kombinierten Endpunkt festgestellt werden (Schories et al., 2023).

**Tabelle 13:** Darstellung möglicher Konfundierungseffekte zwischen CXCL14, klinischen Faktoren und den Endpunkten; fett:  $p \leq 0.05$ , Unterstrichen:  $p \leq 0.10$  (Schories et al., 2023)

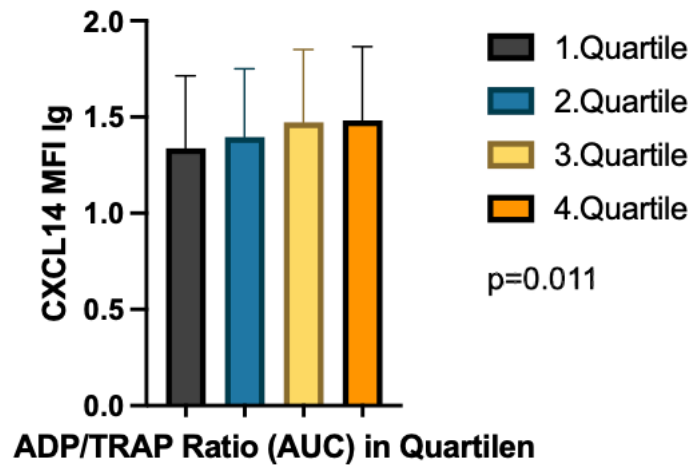
	Einflussgröße		Endpunkt		
	Thrombozyten CXCL14 lg	Zirkulierendes CXCL14 lg	Kombinierter Endpunkt	Gesamtmortalität	MI
<b>Alter</b>	0,52	<b>0,047</b>	0,351	<b>0,019</b>	0,596
Aufnahmediagnose	<b>0,002</b>	<u>0,089</u>	0,105	0,671	0,113
Geschlecht	<b>0,004</b>	0,901	0,903	0,891	0,567
<u>LVEF</u>	<b>0,006</b>	<b>0,022</b>	0,219	<u>0,070</u>	0,220
Hyperlipidämie	0,671	0,687	<b>0,023</b>	<u>0,065</u>	<u>0,091</u>
Arterielle Hypertonie	<b>0,004</b>	0,320	0,262	0,374	0,322
Rauchen	<b>&lt;0,001</b>	0,123	0,249	0,906	0,586
<u>Diabetes mellitus</u>	<u>0,066</u>	0,629	<b>0,011</b>	<b>0,027</b>	0,136

### 3.6 Analyse der Thrombozytenaggregation

Um die Aktivierung der Thrombozyten zu analysieren, wurden Proben mit Vollblut der Patienten im Multiplate® Analyzer (Roche diagnostics) mit verschiedenen Reagenzien getestet. Dies dient unter anderem dazu, die meist pharmakologische Hemmung der Thrombozytenaggregation zu beurteilen, wodurch sich eventuell Rückschlüsse auf die Hemmung der Chemokin Freisetzung, also auch der CXCL14 Freisetzung ziehen lassen. Hierfür wird die Thrombozytenaggregation nach Stimulation durch die Area under the curve quantifiziert (Schories et al., 2023).

Hierbei steht besonders die Hemmung mittels P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren im Fokus, da sie über die Blockade des ADP-Rezeptors eine Thrombozytenaggregation beeinträchtigen. Zu ihnen gehören u.a. Clopidogrel, Prasugrel, Ticagrelor, wobei Prasugrel und Ticagrelor potenter sind. Wir untersuchten das Aggregationsprofil im Multiplate®-Impedanzaggregometrie-Datensatz von n=446 Patienten. Hierbei wurde eine Stimulation mit Thrombinrezeptor-aktivierendem Peptid (TRAP) und ADP durchgeführt. Die Stimulation mit TRAP bewirkt eine vollständige Aktivierung und kann nicht vollständig von P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren aufgehoben werden. Hingegen wird bei der Stimulation mit ADP der inhibitorische Effekt der P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren deutlicher sichtbar. Daraus ergibt sich ebenfalls, dass die TRAP-AUCs fast immer höher sind als die ADP-AUCs, da es zu einer stärkeren Aktivierung der Thrombozyten kommt. Da jedoch die hier gemessenen AUC-Werte keine absoluten Werte darstellen, sondern nur relative Werte, müssen sie auch dementsprechend betrachtet werden. Hierfür haben wir den Quotienten aus ADP und TRAP gebildet, dabei entspricht ein höherer Quotient einer stärkeren Aktivierung durch ADP (Schories et al., 2023).

Wenn man nun dieses Verhältnis mit den thrombozytären CXCL14 Werten ins Verhältnis setzt, erhält man einen Zusammenhang zwischen einer hohen CXCL14 Expression und einer ADP Aktivierung. Hierfür wurden die Betrachtung der ADP/TRAP Ratio durch Quartilen gewählt. Es wurde hier eine Varianzanalyse oder ANOVA-Testung zum Vergleich bei mehr als 2 Gruppen durchgeführt. Dabei ergab sich eine signifikante Korrelation mit einem p-Wert von 0,011. Dies ist in Abbildung 16 zu erkennen (Schories et al., 2023).



**Abbildung 16:** Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig aufgetragen gegen die Quartilen der ADP(AUC)/TRAP(AUC) Ratio;  $p=0,011$  (Schories et al., 2023)

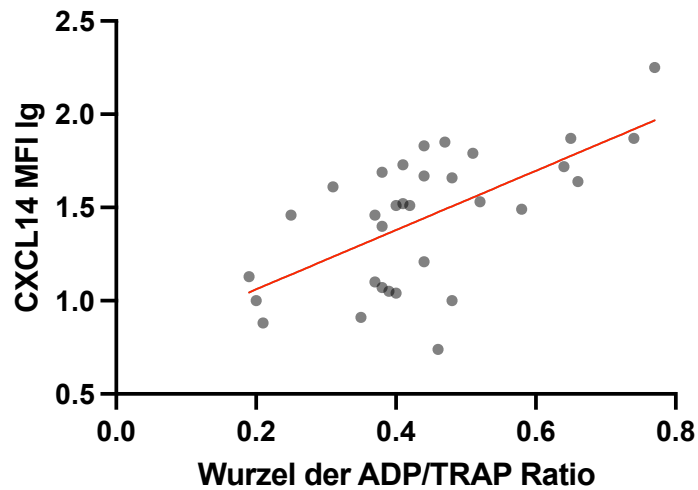
Für Patienten mit der Diagnose CCS, konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen der Behandlung mit oder ohne den verschiedenen P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren und den Werten des CXCL14 auf der Thrombozytenoberfläche gefunden werden (Schories et al., 2023).

Jedoch konnten wir bei Patienten, welche mit einem der potenteren P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren Prasugrel oder Ticagrelor behandelt wurden, signifikant niedrigere Werte der Wurzel des ADP/TRAP Quotienten und somit eine niedrigere Thrombozyten-Aktivierung im Vergleich zu Patienten, welche mit dem weniger potenten Clopidogrel behandelt wurden, feststellen ( $p<0,0001$ ) (siehe Abbildung 17) (Schories et al., 2023).



**Abbildung 17:** Wurzel der ADP(AUC)/TRAP(AUC) Ratio für Clopidogrel und potentere P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren;  $p<0,0001$  (Schories et al., 2023)

Des Weiteren konnte eine starke Korrelation zwischen den Thrombozyten assoziierten CXCL14 Werten und der Aktivierung der Thrombozyten, sprich der Wurzel des ADP/TRAP Quotienten, bei Patienten nachgewiesen werden, welche mit starken P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren behandelt wurden (n=32). Hierbei ergab sich für ein  $r=0,6246$  ein p-Wert von  $<0,0001$  (siehe Abbildung 18) (Schories et al., 2023).



**Abbildung 18:** Thrombozytäres CXCL14 MFI Ig über der Wurzel der ADP/TRAP Ratio für Probanden mit potenten P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren;  $r=0,6246$ ,  $p<0,0001$  (Schories et al., 2023)

## 4. Diskussion

### 4.1 Fragestellung und Hauptergebnisse

Aufgrund der Konzeption der durchgeführten Studie mit einer klinischen Kohorte, ist eine der zentralen Fragestellungen, wie sich die Expression des CXCL14 auf den Thrombozyten, sowie zirkulierend im Plasma in Bezug auf die Ausprägung der KHK verhält? Hier konnten wir zeigen, dass Patienten mit einem ACS oder keiner KHK im Vergleich zu Patienten mit einem CCS eine höhere Expression auf Thrombozyten aufwiesen.

Eine weitere Fragestellung war der Zusammenhang des exprimierten und des sezernierten CXCL14, sowie der Zusammenhang zwischen CXCL14 und dem Rezeptor CXCR4. Hier zeigte sich, dass das CXCL14, welches auf Thrombozyten exprimiert wird und das im Plasma zirkulierende eine inverse Korrelation aufwiesen. Für CXCR4 auf Thrombozyten und CXCL14 auf Thrombozyten zeigte sich eine positive Korrelation.

Außerdem stellt sich die Frage, welche Rolle das Chemokin CXCL14 in der Pathophysiologie der KHK einnimmt. Möglicherweise können unsere Ergebnisse, die zeigen, dass die Expression des CXCL14 auf Thrombozyten mit CD62P dem Marker der Aktivierung der Thrombozyten korreliert oder dass im Plasma zirkulierendes CXCL14 mit der CK in STEMI Patienten korreliert, hier Denkanstöße liefern.

Darüber hinaus stellten wir uns die Frage nach der Regeneration der Herzfunktion im Zusammenhang mit CXCL14. Hier zeichnet sich ab, dass bei Aufnahme ein höheres thrombozytäres CXCL14 mit einer eingeschränkten LVEF und vermehrt zirkulierendes CXCL14 mit normaler LVEF einher geht. Eine Verbesserung der LVEF trat häufiger bei erhöhter Expression des CXCL14 auf Thrombozyten und verminderten zirkulierenden CXCL14 Werten auf. Ein weiterer wichtiger Aspekt bei unserer Studie stellte der Zusammenhang von CXCL14 und der Regeneration dar. Hierbei konnte für Werte der 1. Quartile des zirkulierenden CXCL14 verglichen mit denen der 4. Quartile des zirkulierenden CXCL14 ein häufigeres Auftreten eines kombinierten Endpunktes aufgezeigt werden. Jedoch war bei Betrachtung aller Quartilen lediglich ein Trend ohne signifikanten Zusammenhang zu erkennen.

Im Folgenden sollen diese Ergebnisse differenzierter betrachtet werden und mögliche Zusammenhänge dargestellt werden.

## 4.2 CXCL14 und Thrombozyten

Es konnte bereits in Voruntersuchungen gezeigt werden, dass Thrombozyten CXCL14 exprimieren und eine Quelle für CXCL14 darstellen (Witte et al., 2017). Dafür sprechen auch unsere Ergebnisse, dass die Werte des auf den Thrombozyten exprimierten CXCL14 invers mit den im Plasma zirkulierenden Werten des CXCL14 korrelieren (Schories et al., 2023). Dies legt die Vermutung nahe, dass aus Thrombozyten stammendes CXCL14 je nach Aktivierung an der Oberfläche exprimiert wird oder in den umgebenden Blutkreislauf sezerniert wird. Es hat sich jedoch in Studien bereits gezeigt, dass Thrombozyten Aktivierung *in vitro*, sowohl zum Anstieg der CXCL14-Expression, als auch der CXCL14 Sekretion geführt hat (Witte et al., 2017). Es muss jedoch beachtet werden, dass das CXCL14 im Blutplasma aus vielen weiteren zellulären Quellen stammt und die aktivierten Thrombozyten hier nur einen gewissen Anteil der CXCL14 Quellen darstellen, wodurch die CXCL14 Werte aus den ELISAs nicht rein auf Thrombozyten zurückzuführen sind. Eine weitere mögliche Erklärung für unser Ergebnis könnte ein Binden des zirkulierenden CXCL14 an der Zelloberfläche der Thrombozyten sein. Außerdem wird bei unseren Ergebnissen die Art und das Ausmaß der Aktivierung der Thrombozyten nicht beachtet.

Um ein Maß der Aktivierung der Thrombozyten zu messen, bestimmten wir die CD62P Expression auf der Oberfläche der Thrombozyten. CD62P oder P-Selektin wird vermehrt bei Degranulation von  $\alpha$ -Granulae in die Zellmembran eingebaut und zeigt deshalb eine erhöhte Expression bei Aktivierung und Degranulation. Bei unseren Messungen zeigte sich eine signifikant positive Korrelation von CD62P mit dem auf den Thrombozyten exprimierten CXCL14. Auch die Prozentwerte der CXCL14 positiven Thrombozyten zeigten eine signifikante positive Korrelation mit CD62P auf (Schories et al., 2023). Dies deutet darauf hin, dass bei vermehrter Degranulation der Thrombozyten auch vermehrt CXCL14 exprimiert wird. Dies könnte durch eine allgemeine vermehrte Aktivierung der Thrombozyten zu erklären sein, wodurch es nicht nur zu einer vermehrten Degranulation der  $\alpha$ -Granulae kommt, sondern auch zu einer vermehrten Expression des Chemokins CXCL14. Zu diesen Ergebnissen passt, dass es bei verminderter ADP/TRAP Ratio, sprich verminderter Aktivierung der Thrombozyten durch ADP, beispielsweise durch P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren, zu niedrigerer Expression von CXCL14 auf Thrombozyten kommt (siehe

Abbildung 16). Es wurde bereits beschrieben, dass isolierte Thrombozyten bei Aktivierung vermehrt CXCL14 in ihre Umgebung, sprich im physiologischen Fall dem Blutplasma freisetzen (Witte et al., 2017). In unseren Messungen konnte hier kein signifikanter Zusammenhang für im Blut zirkulierendes CXCL14 dargestellt werden, das könnte wiederum damit erklärt werden, dass das CXCL14 im Blutplasma von vielen weiteren zellulären Quellen wie beispielsweise Fibroblasten sezerniert wird (Lu et al., 2016) und der thrombozytäre Anteil hierbei keinen signifikanten Einfluss hat.

In Vorarbeiten war die Frage nach den Rezeptoren, welche mit CXCL14 interagieren, noch Teil der aktuellen wissenschaftlichen Diskussion. Jedoch konnte zuletzt gezeigt werden, dass CXCL14 auf die Migration der Monozyten über CXCR4 wirkt und bei CXCR4-Blockade diese Migration unterdrückt werden kann (Witte et al., 2017). Außerdem wurde gezeigt, dass CXCL14 ebenfalls über eine Interaktion mit CXCR4 auf Thrombozyten wirkt und auch hier eine Migration induziert. Dabei konnte sowohl bei murinen als auch bei humanen Plättchen aus induzierten pluripotenten Stammzellen dieser Mechanismus durch eine CXCR4 Defizienz ausgesetzt werden (Witte et al., 2021). Es kann also von CXCR4 als ein Rezeptor des CXCL14 ausgegangen werden. Wir bestimmten nun ebenso die Expression des CXCR4 auf den Oberflächen der Thrombozyten und verglichen dies mit dem an der Oberfläche der Thrombozyten exprimierten CXCL14. Hierbei konnte eine signifikante positive Korrelation hergestellt werden (Schories et al., 2023). Der Zusammenhang könnte durch eine vermehrte Expression von CXCR4 auf Thrombozyten, welche auch vermehrt CXCL14 exprimieren, erklärt werden. Dies könnte beispielsweise bei aktivierten Thrombozyten der Fall sein, da bereits bestätigt wurde, dass eine Aktivierung von Thrombozyten zu verstärkter CXCL14 Expression führt (Witte et al., 2017). Da CXCL14 über den Rezeptor CXCR4 Auswirkungen auf die Monozyten Migration hat, könnte diese Interaktion eine Rolle bei der immunologischen Funktion der Blutplättchen spielen. Außerdem könnte die Korrelation für eine autokrine und parakrine Interaktion von CXCL14 und CXCR4 auf Thrombozyten sprechen, beispielsweise in der primären Hämostase und Thrombusbildung. Dass CXCL14 hier eine Rolle spielt, zeigte sich daran, dass im murinen Modell CXCL14-defiziente Thrombozyten vermindert Thromben bilden (Witte et al., 2021). Interessanterweise konnte durch eine Hemmung auch für CXCR4 gezeigt

werden, dass der Rezeptor eine wichtige Rolle in der Thrombusbildung spielt, denn die Hemmung bewirkte eine verminderte Thrombozytenaggregation (Walsh et al., 2015). Für das Chemokin CXCL12 konnte sogar dieses autokrine Zusammenspiel mit CXCR4 auf Thrombozyten bei Thrombusformation gezeigt werden (Walsh et al., 2015). So könnte auch hier die vermehrte Expression von CXCL14 und CXCR4 besonders bei Aktivierung durch gegenseitige Interaktion zu einer Thrombozytenaggregation führen. Da auch für CXCL14 eine thrombusfördernde Eigenschaft gezeigt werden konnte, könnte hier eine ähnliche Wirkung der beiden Chemokine am CXCR4 Rezeptor vermutet werden. Jedoch muss limitierend angemerkt werden, dass wir keinen direkten Nachweis einer Interaktion von CXCL14 und CXCR4 wie die Vorstudien erbrachten, sondern nur eine Korrelation in der Expression beobachten konnten.

#### 4.3 CXCL14 und die koronare Herzkrankheit

Ein wichtiger Teil dieser Dissertation war die Bestimmung der verschiedenen CXCL14 Werte bei Probanden mit unterschiedlichen Ausprägungen der KHK. Es gab bereits einige Voruntersuchung, welche darauf hinweisen, dass CXCL14 eine Rolle in der Pathophysiologie der KHK zu Teil wird (Witte et al., 2021, Witte et al., 2017). So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass CXCL14, welches von den Thrombozyten freigesetzt wird, ein pro-inflammatorisches Milieu hervorruft, welches sich wiederum auf die Rekrutierung von Monozyten auswirkt (Witte et al., 2017, Witte et al., 2021, Kurth et al., 2001). Diese pro-inflammatorischen Eigenschaften des CXCL14 könnten sich auch auf die Entwicklung der koronaren Herzkrankheit auswirken, jedoch auch auf die Regeneration nach einem ischämischen Ereignis am Herzmuskel, beispielsweise einem ACS, was einen hoch inflammatorischen Prozess darstellt (Anzai, 2018). Außerdem wird dem CXCL14 eine angiostatische Eigenschaft zugeschrieben. So konnte durch CXCL14, welches von Thrombozyten freigesetzt wurde, in einem *in vitro* scratch-assay die endotheliale Proliferation und die Migration der Endothelzellen, um diese Wunde zu verschließen, gehemmt werden (Witte et al., 2017). Auch diese Eigenschaft könnte nach einem ACS in Bezug auf die Regeneration des Myokards zu tragen kommen.

Wir verglichen die Expression von CXCL14 auf Thrombozyten und die Spiegel im Plasma für die verschiedenen Diagnosegruppen. Dabei konnten wir in unseren Ergebnissen aufzeigen, dass die Expression von CXCL14 auf Thrombozyten bei Patienten, welche mit der Aufnahmediagnose ACS aufgenommen wurden, signifikant höher ist, verglichen mit Werten der Patienten mit der Aufnahmediagnose CCS. Das ACS umfasst ein akutes Geschehen mit meist stärkerer Herzgewebeschädigung aufgrund eines plötzlichen Koronarverschlusses. Die erhöhte Expression in diesem klinischen Patientenkollektiv unterstützt die These, dass CXCL14 besonders in akuten Situationen, in denen es vermehrt zu Aktivierung kommt, von CXCL14 exprimierenden Zellen wie beispielsweise Thrombozyten exprimiert wird. Dieser Anstieg könnte darauf hindeuten, dass CXCL14 Expression auf den Oberflächen der Thrombozyten besonders in akuterer Situationen z.B. dem ACS eine Rolle in der Pathophysiologie spielen könnte. Jedoch ist hierfür weitere Forschung besonders auf molekularer und zellulärer Ebene notwendig, um diese Hinweise weiter zu verfolgen. Unsere Ergebnisse zeigten auch, dass Patienten, welche keine KHK als Aufnahmediagnose besaßen eine signifikant höhere Expression von CXCL14 auf ihren Thrombozyten besitzen, verglichen mit den CCS-Patienten. Hierbei ist es wichtig die Kohorte der Patienten ohne KHK als Diagnose zu betrachten. Sie stellt erstens die kleinste Subgruppe der Aufnahmediagnosen mit einem Anteil von 13,8 % und einem n von 62 dar. Zweitens zählten zu ihren Diagnosen Klappenfehler, Myokarditiden, nicht-ischämischen Kardiomyopathien und hypertensiven Krisen, dies sind zum Teil ebenfalls akute Krankheitsbilder, welche zu einem plötzlichen Myokarduntergang führen können und damit ebenfalls Stimuli für die Expression von CXCL14 liefern könnten. Es ist davon auszugehen, dass die erhöhte CXCL14 Expression mit vermehrter Thrombozyten Aktivierung einhergeht. Leider stellen die zugrundeliegenden Krankheitsbilder in der nicht-KHK Gruppe ebenfalls komplexe Pathophysiologien dar, weshalb keine klare Aussage über das Zusammenwirken mit CXCL14 getroffen werden kann. Außerdem gilt es zu bedenken, dass es auch am CCS-Patientenkollektiv liegen könnte, dass dieses eine signifikant niedrigere CXCL14 Expression als die anderen beiden Patientengruppen aufzeigt. Die CCS ist eine chronische Krankheit, welche im klinischen Alltag und auch bei unseren Probanden über Jahre behandelt wurde. So sind viele Patienten mit diesem Krankheitsbild oft multipharmakologisch in Behandlung. Zu häufigen Medikamenten gehören hier

beispielsweise die Thrombozytenaggregationshemmer Acetylsalicylsäure oder P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren. Da ein ACS hingegen oft ein Initialereignis darstellt, welches zuvor nicht pharmakologisch behandelt wurde, sind diese Patienten tendenziell weniger pharmakologisch kontrolliert. Außerdem kann auf ein ACS, welches oft eine duale Plättchenhemmung nach sich zieht, ein CCS folgen.

Bei der Untersuchung der CCS-Gruppe konnte kein Unterschied der CXCL14 Expression für Behandlung mit P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren festgestellt werden. Jedoch konnten wir zeigen, dass eine Hemmung mit den potenteren Ticagrelor und Prasugrel im Vergleich zu Clopidogrel mit einer niedrigeren ADP/TRAP Ratio also einer niedrigeren Plättchen Aktivierung über ADP einher geht. Für die Gruppe der Patienten, welche mit Ticagrelor oder Prasugrel behandelt wurden, konnte eine Korrelation zwischen der ADP/TRAP Ratio und CXCL14 auf den Thrombozyten gezeigt werden. Diese Ergebnisse legen nahe, dass eine medikamentöse Hemmung der Thrombozyten über P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren eine verminderte Expression von CXCL14 auf den Thrombozyten bewirkt.

Beim Vergleich von CXCL14 Plasmawerten mit den verschiedenen Gruppen der Aufnahmediagnosen konnten im Gegensatz zum CXCL14 auf der Oberfläche der Thrombozyten keine signifikanten Ergebnisse beobachtet werden. Dies ist möglicherweise wieder damit zu erklären, dass CXCL14 im Plasma aus unterschiedlichsten Quellen stammt, welche nicht nur bei Aktivierung eine Sekretion durchführen, sondern dies kontinuierlich stattfindet. Damit lässt sich erklären, warum es hier keine signifikanten Unterschiede zwischen akuten und weniger akuten Krankheitsbildern gibt. Es lässt sich eventuell sogar vermuten, dass die Wirkung von CXCL14 auf Thrombozyten eher lokal also parakrin oder autokrin stattfindet.

Außerdem untersuchten wir in der Subgruppe der STEMI Patienten, welche eine schwere Ausprägung des ACS darstellt, die Werte der Kreatinkinase. Die CK stellt ein überwiegend in Muskelzellen vorkommendes Enzym dar. Es ist deshalb beim Untergang von Muskelzellen, im Fall des STEMI von Herzmuskelzellen, erhöht (Cabaniss, 1990). Wir konnten zeigen, dass eine signifikante positive Korrelation zwischen CXCL14 im Plasma und den CK-Werten besteht. Durch diesen Zusammenhang lassen sich noch keine konkreten Aussagen treffen, jedoch legt er nahe, dass es bei einem akuten ischämischen Ereignis am Myokard mit zunehmender Schwere, vermehrt zu einer Aktivierung

CXCL14 sezernierender Zellen kommt und deshalb vermehrt CXCL14 sezerniert wird. Dies könnte durch die inflammatorischen Prozesse bedingt sein. Jedoch muss angemerkt werden, dass in dieser Subgruppe mit n=32 die Stichprobengröße recht klein ist und darunter auch die statistische Aussagekraft leidet.

#### 4.4 CXCL14 und die linksventrikuläre Ejektionsfraktion

In weiteren Untersuchungen konnten wir die LVEF unserer Probanden ermitteln und diese mit unseren Messungen der CXCL14 Werte in Beziehung setzten. So konnten wir zeigen, dass Probanden mit eingeschränkter LVEF bei Aufnahme in die Studie, verglichen zu normaler LVEF eine signifikant höhere Expression von CXCL14 auf Thrombozyten zeigten. In Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, dass CXCL14 anti-angiogenetische Eigenschaften besitzt (Shellenberger et al., 2004) und beispielsweise die Migration von HUVECs *in vitro* in einem Wundheilungssessay hemmt (Witte et al., 2017). Außerdem spielt CXCL14 eine Rolle in der Thrombusbildung (Witte et al., 2021). Auch wenn noch nicht völlig klar ist wie die Wirkung von zirkulierendem CXCL14 und dem auf den Thrombozyten exprimierten CXCL14 sich unterscheiden und es hierfür weiterführende Untersuchungen benötigt, so könnte man dennoch vermuten, dass die beschriebenen Eigenschaften des CXCL14 zu einer schlechteren Regeneration bei Schädigung des Herzens beitragen könnten und dadurch eine schlechtere Pumpfunktion des linken Ventrikels mitbedingen könnten, beispielsweise bei chronisch ischämischer Herzkrankheit. Jedoch würde es hier weitere Untersuchungen zur Wirkweise benötigen, ob sich CXCL14 auf der Oberfläche der Thrombozyten anders verhält als zirkulierendes. Besonders bei Betrachtung der nachfolgenden Ergebnisse.

Für Werte des zirkulierenden CXCL14 konnten wir hierzu einen signifikanten inversen Zusammenhang darstellen. Probanden mit eingeschränkter LVEF bei Aufnahme zeigten niedrigere Werte des zirkulierenden CXCL14, verglichen zu Probanden mit normaler LVEF. In Voruntersuchungen konnte gezeigt werden, dass eine niedrige Expression des CXCL14 Rezeptors CXCR4 auf Thrombozyten mit einer schlechteren Prognose bei Patienten mit KHK einhergeht (Rath et al., 2015). Hier könnte sich der Zusammenhang vermuten lassen, dass Probanden, welche eine schlechtere LVEF-Funktion und dadurch

auch eine schlechtere Prognose besitzen vermindert CXCR4 auf Plättchen exprimieren und eben auch verminderte Spiegel des Liganden CXCL14 besitzen. Auch unsere Ergebnisse zu CXCL14 und Prognose würden für diesen Zusammenhang sprechen. Da CXCL14 anti-angiogenetische, inflammatorische oder Thrombus fördernde Eigenschaften besitzt, könnte man aber auch einen Gegenregulationsmechanismus vermuten. Die Eigenschaften des CXCL14 sprechen eher für ein regenerationshemmende und prognoseverschlechternde Interaktionen. Niedrige Spiegel bei verminderter LVEF könnten eine reflektorische Herunterregulation bedeuten.

Bei den Follow-up echokardiographischen Untersuchungen konnten wir feststellen, dass Probanden, welche nach 3 Monaten eine Verbesserung der LVEF zeigten, bei Studienaufnahme eine signifikant höhere Expression des CXCL14 auf den Thrombozyten besaßen. Somit zeigten Probanden tendenziell eine bessere Regeneration der linksventrikulären Funktion, wenn sie höhere CXCL14 Werte exprimierten (siehe Abbildung 12). Eine Erklärung dafür könnte sein, dass wie bereits zuvor gezeigt Probanden, welche bei Studieneinschluss eine schlechtere LVEF zeigten, eine höhere CXCL14 Expression hatten. Dadurch haben diese Probanden vermehrt Potential eine Verbesserung in der LVEF zu durchlaufen, da ihre LVEF niedriger ist. Es lassen sich jedoch auch Vermutungen über die Zusammenhänge zwischen CXCL14 Expression und linksventrikulärer Regeneration anstellen. In unserem Probandenkollektiv zeigten auf Thrombozyten exprimiertes und zirkulierendes CXCL14 eine signifikante inverse Korrelation, sprich erhöhte CXCL14 Werte auf Thrombozyten gehen mit niedrigeren zirkulierenden CXCL14 Werten einher. Auch diesen Zusammenhang konnten wir in Bezug auf die LVEF darstellen, denn Probanden mit LVEF-Verbesserung und linksventrikuläre Regeneration zeigten niedrigere Werte des zirkulierenden CXCL14 (siehe Abbildung 13). Die bereits beschriebenen inflammatorischen und anti-angiogenetischen Eigenschaften, welche dementsprechend weniger im Blutkreislauf und dem Gewebe vorhanden sind, könnten zur besseren Regeneration der LVEF und des Myokards beitragen. Hier könnten jedoch weitere Untersuchungen zur Wirkweise des CXCL14 im Blutkreislauf und auf der Thrombozytenoberfläche bzw. in der direkten Umgebung der Thrombozyten Aufschluss bringen. Es wirkt jedoch so, dass bei akuten Ereignissen, welche beispielsweise oft eine eingeschränkte LVEF bedingen das thrombozytäre CXCL14 erhöht ist, da hier eine Aktivierung der Thrombozyten

stattgefunden hat und das Chemokin lokal wirkt. Wird jedoch ein längerer Zeitraum betrachtet, ist es das zirkulierende CXCL14, welches Korrelationen und eventuell auch Kausalitäten aufzeigt.

#### 4.5 CXCL14 und die Prognose von KHK-Patienten

Betrachtet man nun die Events, Inzidenzrate und dadurch auch die number at risk pro 100 Patientenjahre für den kombinierten Endpunkt, die Gesamtmortalität und Herzinfarkte, so konnte für den Zusammenhang mit den einzelnen Quartilen der auf den Thrombozyten exprimierten CXCL14 Werte keine signifikanten Beziehungen beobachtet werden (siehe Tabelle 9). Die Prognose der Patienten ist ein multifaktorielles Geschehen und die vermutlich lokale Wirkung des thrombozytären CXCL14 spielt hier wahrscheinlich nur eine untergeordnete nicht signifikante Rolle.

Diese Betrachtung wurde ebenfalls für die einzelnen Quartilen der Werte des zirkulierenden CXCL14 angefertigt. Auch hier konnte keine signifikante Beziehung zwischen Werten einer einzelnen Quartilen und einem Endpunkt gezeigt werden. Wenn man nun jedoch die einzelnen Werte der Events, Inzidenzraten pro 100 Patientenjahren oder den p-Wert des entsprechenden Log-rank-Tests betrachtet, so ist ein möglicher Trend erkennbar, welcher für den kombinierten Endpunkt fast die Signifikanz erreicht. Dieser Trend zeigt vermeintlich vermehrt Events des kombinierten Endpunktes und der Gesamtmortalität bei Probanden mit Werten in der ersten Quartile des zirkulierenden CXCL14, also bei niedrigen CXCL14 Werten. Dieser Trend könnte also eine vermeintlich schlechtere Prognose für Patienten mit niedrigeren Spiegeln an zirkulierendem CXCL14 andeuten. Es ist jedoch festzuhalten, dass es sich hierbei lediglich um einen Trend handelt, der keine statistische Signifikanz besitzt, weshalb weitere Untersuchung in diese Richtung erforderlich wären.

Zum Vergleich einzelner Quartilen der CXCL14 Werte in Kombination mit klinischen Kofaktoren wurde eine Cox-Regressionsanalyse angefertigt, bei der die Werte der 1. Quartile des zirkulierenden CXCL14 mit den Werten der übrigen Quartilen verglichen wurden. Hierbei zeigte der Vergleich der Werte der 1. Quartile mit denen der 4. Quartile des zirkulierenden CXCL14 für den kombinierten Endpunkt, dass es für Patienten mit

zirkulierenden CXCL14 Werten in der 1. Quartile signifikant wahrscheinlicher war einen kombinierten Endpunkt zu erfahren als Patienten mit Werten des zirkulierenden CXCL14 in der 4. Quartile (siehe Tabelle 12). Jedoch werden hierbei nur Werte der 4. Quartile mit Werten der 1. Quartile, sowie klinischen Kofaktoren verglichen.

Interessanterweise konnte in Voruntersuchungen gezeigt werden, dass Patienten mit einer KHK eine höhere Wahrscheinlichkeit für Gesamtmortalität sowie den kombinierten Endpunkt Tod oder Myokardinfarkt besitzen, wenn sie geringere Spiegel von CXCR4 auf ihren Thrombozyten exprimieren (Rath et al., 2015).

CXCR4 gilt als ein Rezeptor für CXCL14 und CXCL12. CXCL12 oder SDF-1 ist bei STEMI Patienten im Plasma vermindert (Stellos et al., 2011), jedoch auf den Thrombozyten der Patienten mit ACS vermehrt exprimiert (Stellos et al., 2009). Interessanterweise gibt es verschiedene Beobachtungen dazu, wie sich CXCL12 und CXCL14 am CXCR4 Rezeptor verhalten. Einerseits konnten ein vermutlich allosterische Aktivierung der Interaktion von CXCL12 und CXCR4 durch CXCL14 bei primären humanen lymphoiden Zellen und ihrer Chemotaxis gezeigt werden (Collins et al., 2017). Andererseits wurde gezeigt, dass CXCL14 sich hemmend auf die CXCL12-CXCR4 Interaktion auswirkt, hier hemmte es die Chemotaxis bestimmter lymphoider Zelllinien durch Internalisierung des CXCR4 Rezeptors (Hara and Tanegashima, 2014, Tanegashima et al., 2013). Hier würde es weitere Untersuchungen auf zellulärer Ebene benötigen, um das Zusammenwirken der Chemokine und CXCR4 weiter zu verstehen. Jedoch angenommen CXCL14 und CXCL12 haben einen allosterisch synergistische Effekt, dann ist es interessant, dass zirkulierendes CXCL14 bei unseren Probanden mit schlechterem Outcome vermindert war. Ebenso sind CXCR4 Rezeptoren auf Thrombozyten der KHK-Patienten mit schlechterem Outcome vermindert. Diese Ergebnisse zusammengenommen, könnten darauf hindeuten, dass das Zusammenspiel von Plasma Chemokinen CXCL14 und CXCL12 mit dem Rezeptor CXCR4 auf den Thrombozyten eine Rolle in der Prognoseminderung spielen. Über welchen Mechanismus dies abläuft lässt sich derzeit nur vermuten und erfordert weitere Untersuchungen. Vorstellbar wäre aber auch hier, dass es sich um einen Gegenregulationsmechanismus handeln könnte, bei den bereits beschriebenen möglichen anti-regeneratorischen Eigenschaften des CXCL14. Dabei würde CXCL14 herunterreguliert werden, um eine bessere Regeneration zu gewährleisten, da Probanden

mit tendenziell stärkerem Regenerationspotential aufgrund schlechterer Funktion, wahrscheinlich auch eine schlechtere Prognose besitzen, könnte es zu diesem Zusammenhang kommen. Chemokine sind oft Teil eines komplexen Gleichgewichts von Stimuli, die auf Zellen und Gewebe wirken, weshalb eine Gegenregulation durchaus vorstellbar wäre. Wenn man unsere Kohorte betrachtet, fällt auf, dass, wie bereits beschrieben, Patienten mit verminderter LVEF auch niedrigere Spiegel des zirkulierenden CXCL14 besaßen und damit durchaus dazu neigen könnten eher den kombinierten Endpunkt zu erreichen und eine schlechtere Prognose zu besitzen. Um diese Mechanismen im Hintergrund zu verstehen, benötigt es jedoch weitere zellphysiologische und klinische Studien.

#### 4.6 CXCL14 Expression und Einflussfaktoren

Unsere Ergebnisse in den multivariablen Regressionsanalysen deuten darauf hin, dass CXCL14, welches auf Thrombozyten exprimiert wird vermehrt durch klinische Risikofaktoren sowie grundlegende epidemiologische Faktoren beeinflusst wird, wohingegen Plasma CXCL14 dadurch weniger beeinflusst wird. Als Beispiel sind hier der signifikante Einfluss von Geschlecht oder Raucherstatus auf thrombozytäres CXCL14 zu nennen. Das Zusammenwirken zwischen diesen Störfaktoren und den Werten des thrombozytären CXCL14 ist nicht vollständig geklärt und würde weitere Untersuchungen benötigen. Für im Plasma zirkulierendes CXCL14 ergaben sich hier weniger potenzielle Störfaktoren. Jedoch muss auch bedacht werden, dass stets, uns nicht bekannte und nicht getestete Faktoren Einfluss über Störeffekte auf die Ergebnisse nehmen können.

Außerdem konnten wir in der Betrachtung der Thrombozyten Aktivierung durch den ADP/TRAP Quotienten, zeigen, dass ein höherer Quotient, sprich eine stärkere Aktivierung mit höheren CXCL14 Expressionen auf den Thrombozyten einher geht (siehe Abbildung 16). Somit sollten bei der Betrachtung der CXCL14 Expression auch die Medikation in Form der Thrombozytenaggregationshemmung durch P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren in die Betrachtung miteinbezogen werden. Wie bereits beschrieben, liefern diese Daten indirekt einen Hinweis darauf, dass durch eine stärkere Inhibition es zu einer

verminderten Plättchenaktivierung kommt und dadurch zu einer verminderten CXCL14 Expression. Was wiederum dafür spricht, dass die Betrachtung von CXCL14 exprimiert auf Thrombozyten, anfällig dafür ist durch die Aktivierung von Thrombozyten beeinflusst zu werden. Die Aktivierung wird durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst. Um diesen Ergebnissen gerecht zu werden, sollten in zukünftigen Untersuchungen weiterhin die Betrachtung der Medikation mit P2Y<sub>12</sub>-Inhibitoren miteinbezogen werden.

#### 4.7 Studienlimitationen

Die durchgeführte Studie zeigt einige Limitationen. So konzentrierten wir uns in unserer Studie hauptsächlich auf die Expression des CXCL14 auf Thrombozyten, jedoch sind Thrombozyten nicht die einzigen zirkulierenden Zellen, die CXCL14 exprimieren. Auch bestimmte Leukozyten können besonders nach Aktivierung CXCL14 exprimieren (Frederick et al., 2000), dies wurde in unseren Untersuchungen nicht beachtet und sollte für zukünftige Studien miteinbezogen werden. Besonders das zirkulierende CXCL14 kann viele zelluläre Quellen haben und dadurch lassen sich nur schwer Rückschlüsse auf Kausalitäten ziehen (Schories et al., 2023).

Bei der Betrachtung der Patientengruppe ohne KHK als Aufnahmediagnose muss bedacht werden, dass dieses Patientenkollektiv ebenfalls durch das Herzkatheterlabor in die Studie eingeschlossen wurden und deshalb zugrundeliegende Erkrankungen wie Klappenfehlern, Myokarditis, nicht-ischämischen Kardiomyopathien und hypertensiven Krisen vorliegen. Der unbekannte Zusammenhang der verschiedenen Pathologien und den CXCL14 Werten erschwert den Vergleich mit den CXCL14 Werten des KHK-Patientenkollektives, weshalb zur Analyse der Prognose nur Daten der KHK-Patienten verwendet wurden.

In unseren Betrachtungen wurden keine Experimente zu Angiogenese durchgeführt, da hierfür die anti-angiogenetischen Eigenschaften des CXCL14 bereits beschrieben wurden. Die Beurteilung der Angiogenese in unserem Probandenkollektiv hätte die Ausmaße unserer Studie überschritten. Jedoch muss festgehalten werden, dass der

Einfluss auf die Angiogenese öfter als potenzielle Erklärung genutzt wurde, jedoch nicht experimentell dargestellt wurde (Schories et al., 2023).

Dies gilt auch für die Interaktion des CXCL14 und des Rezeptors CXCR4, wir konnten die jeweilige Expression der beiden zeigen und in Beziehung setzen, jedoch wurde die Interaktion der beiden nicht mehr experimentell dargestellt. Diese Interaktion wurde aber bereits in Voruntersuchungen durch verschiedene Methoden dargestellt (Witte et al., 2021) und man hätte für die Analyse weitere Blutproben benötigt, die von uns aus verschiedenen Gründen nicht akquiriert wurden. Insbesondere für die Interaktion zwischen CXCL12, CXCL14 und CXCR4 ergaben Vorexperimente verschiedene Ergebnisse, hierfür sollten weiterführende Untersuchungen durchgeführt werden.

In der statistischen Analyse können wir selbst nach sorgfältiger Berücksichtigung und Bereinigung aller potenziellen Störfaktoren nicht garantieren, dass unbekannt Variablen, die nicht in unsere Analyse einbezogen wurden, die Ergebnisse nicht beeinflusst haben.

Generell lässt sich zum Studiendesign anmerken, dass es vorteilhaft gewesen wäre, für die gesamte Probandengruppe die gleichen klinischen sowie laborchemischen Daten zu erheben, insbesondere im Hinblick auf die Analyse von LVEF, Prognose und Endpunkten. Aufgrund der Infrastruktur war dies jedoch nicht möglich, da keine weiteren personellen sowie materiellen Ressourcen für dieses Projekt zur Verfügung standen. Bedingt durch begrenzte personelle Ressourcen wurde nur ein Anteil der potenziellen Patienten in die Studie aufgenommen, was die Möglichkeit einer Verzerrung und eines Selektionsbias begünstigen könnte (Schories et al., 2023). Außerdem ist zu erwähnen, dass Daten, welche bereits von Alexander Witte in einem anderen Zeitraum gewonnen wurden, in diesem Projekt mitverwendet wurden. Für zukünftige Projekte wäre es hierfür einfacher die Datengewinnung über einen einzigen Zeitraum stattfinden zu lassen, um eine Kontinuität zu gewährleisten. Des Weiteren konnten für 10 % der Probanden keine Nachsorge Daten für die Endpunkte gewonnen werden. Für zukünftige Projekte wäre es sehr erstrebenswert CXCL14 Messungen in zeitlichen Abständen in größerem Stil durchzuführen, um die Entwicklung der Werte zu beurteilen. Hierfür ist es sinnvoll zu planen, wie Nachfolgeuntersuchungen mit der Gewinnung von Biomarkerproben koordiniert werden könnten.

Grundsätzlich ist bei der Studie noch eine weitere Einschränkung zu beachten. Aufgrund ihres translationalen, klinischen Charakters bedarf es weiterer grundlegender

experimenteller Untersuchungen in CXCL14-defizienten zellulären Systemen oder Mausmodellen, um adäquate Erklärungen für die klinischen Befunde zu liefern. Dies könnte mit aus induzierten pluripotenten Stammzellen gewonnenen Thrombozyten durchgeführt werden oder mit Megakaryozyten-Thrombozyten Linien, gewonnen aus spezifischen CXCL14-defizienten Mäusen (Schories et al., 2023).

## 5. Zusammenfassung

Die koronare Herzerkrankung stellt in Wohlstandsgesellschaften eine häufige und schwerwiegende Erkrankung dar, welche mit hoher Mortalität und Morbidität einher geht. In der Pathophysiologie der Erkrankung sind komplexe inflammatorische Prozesse von Bedeutung. Dabei spielen auch Thrombozyten eine wichtige Rolle, besonders durch ihre inflammatorische Wirkweise u.a. durch Expression und Sekretion von Chemokinen. Eines dieser Chemokine stellt CXCL14 dar. Bisherige Untersuchungen lassen vermuten, dass CXCL14 eine Rolle in der Pathophysiologie der koronaren Herzerkrankung spielt. Dies führt zur Fragestellung dieser Dissertation: Gibt es eine Assoziation zwischen dem auf den Thrombozytenoberflächen exprimierten oder im Plasma zirkulierenden CXCL14 und der Ausprägung der symptomatischen KHK, der linksventrikulären Ejektionsfraktion und der Prognose der KHK-Patienten? Diese Arbeit untersuchte dabei ein klinisches Probandenkollektiv.

Um sich dieser Frage anzunehmen, führten wir eine prospektive Kohortenstudie mit 450 Patienten durch, welche die Indikation zur Koronarangiographie erhalten hatten. Hierbei wurden Blutproben entnommen und mittels Fluoreszenz-aktivierter Durchflusszytometrie die Biomarker CXCL14, CXCR4 und CD62P untersucht, sowie CXCL14 in Plasmaproben mittels ELISA analysiert. LVEF-Werte wurden soweit möglich bei Aufnahme und nach mindestens 3 Monaten gewonnen und Nachsorge Gespräche zu Endpunkten nach 360 Tagen geführt.

In der Analyse der Daten zeigte sich, dass Probanden mit einem CCS eine niedrigere CXCL14 Expression auf den Thrombozyten besitzen, verglichen mit Patienten mit einem ACS und Patienten ohne KHK. Patienten mit eingeschränkter LVEF zeigen eine höhere CXCL14 Expression auf Thrombozyten und niedrigere Werte des zirkulierenden CXCL14. Eine LVEF Verbesserung hingegen zeigt einen Zusammenhang mit einer höheren CXCL14 Expression und niedrigeren zirkulierenden Werten. CXCL14 Expression korreliert mit Thrombozyten Aktivierung und Expression des CXCL14 Rezeptors CXCR4 auf Thrombozyten. Außerdem waren niedrigere Werte des zirkulierenden CXCL14 mit einer schlechteren Prognose assoziiert.

Wir konnten mit unserer Arbeit einen Zusammenhang zwischen CXCL14 Expression und Ausprägung der KHK erkennen. Ergebnisse, die sich in Erkenntnisse aus vorangegangenen Arbeiten wie der Zusammenhang zwischen CXCL14 und der Thrombozyten Aktivierung und der Zusammenhang zwischen CXCL14 und CXCR4 einreihen, konnten hier für ein klinisches Patientenkollektiv dargestellt werden. Außerdem zeigten sich Zusammenhänge für die linksventrikuläre Funktion und die Veränderung der linksventrikulären Funktion sowie der Prognose. Über die Ursache dieser Zusammenhänge lassen sich momentan nur Vermutungen anstellen und es benötigt dafür weitere experimentelle Studien, um die Rolle des CXCL14 in der Pathophysiologie zu verstehen, sowie weitere klinische Untersuchungen. Wir hoffen mit dieser Arbeit einen Beitrag zum Verständnis des Zusammenhangs zwischen CXCL14 und kardiovaskulären Erkrankungen geleistet zu haben und Anstöße für weitere Forschungsprojekte geliefert zu haben.

## 6. Literaturliste

- ABBOTT, J. D., HUANG, Y., LIU, D., HICKEY, R., KRAUSE, D. S. & GIORDANO, F. J. 2004. Stromal cell-derived factor-1alpha plays a critical role in stem cell recruitment to the heart after myocardial infarction but is not sufficient to induce homing in the absence of injury. *Circulation*, 110, 3300-5.
- AMBROSE, J. A. & BARUA, R. S. 2004. The pathophysiology of cigarette smoking and cardiovascular disease: an update. *J Am Coll Cardiol*, 43, 1731-7.
- ANZAI, T. 2018. Inflammatory Mechanisms of Cardiovascular Remodeling. *Circ J*, 82, 629-635.
- BAIGENT, C., BLACKWELL, L., COLLINS, R., EMBERSON, J., GODWIN, J., PETO, R., BURING, J., HENNEKENS, C., KEARNEY, P., MEADE, T., PATRONO, C., RONCAGLIONI, M. C. & ZANCHETTI, A. 2009. Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials. *Lancet*, 373, 1849-60.
- BAIGENT, C., KEECH, A., KEARNEY, P. M., BLACKWELL, L., BUCK, G., POLLICINO, C., KIRBY, A., SOURJINA, T., PETO, R., COLLINS, R. & SIMES, R. 2005. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet*, 366, 1267-78.
- BOYLAN, M. J., LYTLE, B. W., LOOP, F. D., TAYLOR, P. C., BORSH, J. A., GOORMASTIC, M. & COSGROVE, D. M. 1994. Surgical treatment of isolated left anterior descending coronary stenosis. Comparison of left internal mammary artery and venous autograft at 18 to 20 years of follow-up. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 107, 657-62.
- BUNDESÄRZTEKAMMER (BÄK), K. B. K., ARBEITSGEMEINSCHAFT DER WISSENSCHAFTLICHEN MEDIZINISCHEN FACHGESELLSCHAFTEN (AWMF). 2022. Nationale VersorgungsLeitlinie Chronische KHK, Version 6.0. 2022 [Zitiert: 2024-07-13]. DOI: 10.6101/AZQ/000491. [www.leitlinien.de/khk](http://www.leitlinien.de/khk).
- BYRNE, R. A., ROSSELLO, X., COUGHLAN, J. J., BARBATO, E., BERRY, C., CHIEFFO, A., CLAEYS, M. J., DAN, G.-A., DWECK, M. R., GALBRAITH, M., GILARD, M., HINTERBUCHNER, L., JANKOWSKA, E. A., JÜNI, P., KIMURA, T., KUNADIAN, V., LEOSDOTTIR, M., LORUSSO, R., PEDRETTI, R. F. E., RIGOPOULOS, A. G., RUBINI GIMENEZ, M., THIELE, H., VRANCKX, P., WASSMANN, S., WENGER, N. K., IBANEZ, B. & GROUP, E. S. D. 2023. 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes: Developed by the task force on the management of acute coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal*, 44, 3720-3826.

- CABANISS, C. D. 1990. Creatine Kinase. In: WALKER, H. K., HALL, W. D. & HURST, J. W. (eds.) *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*. Boston: Butterworths, Kapitel 32, Copyright © 1990, Butterworth Publishers, a division of Reed Publishing.
- CATAPANO, A. L., GRAHAM, I., DE BACKER, G., WIKLUND, O., CHAPMAN, M. J., DREXEL, H., HOES, A. W., JENNINGS, C. S., LANDMESSER, U., PEDERSEN, T. R., REINER, Ž., RICCARDI, G., TASKINEN, M. R., TOKGOZOGLU, L., VERSCHUREN, W. M. M., VLACHOPOULOS, C., WOOD, D. A., ZAMORANO, J. L. & COONEY, M. T. 2016. 2016 ESC/EAS Guidelines for the Management of Dyslipidaemias. *Eur Heart J*, 37, 2999-3058.
- CATTANEO, M. 2015. P2Y12 receptors: structure and function. *J Thromb Haemost*, 13 Suppl 1, S10-6.
- CHACKO, M., SARMA, P. S., HARIKRISHNAN, S., ZACHARIAH, G. & JEEMON, P. 2020. Family history of cardiovascular disease and risk of premature coronary heart disease: A matched case-control study. *Wellcome Open Res*, 5, 70.
- CHATTERJEE, M., SEIZER, P., BORST, O., SCHÖNBERGER, T., MACK, A., GEISLER, T., LANGER, H. F., MAY, A. E., VOGEL, S., LANG, F. & GAWAZ, M. 2014. SDF-1 $\alpha$  induces differential trafficking of CXCR4-CXCR7 involving cyclophilin A, CXCR7 ubiquitination and promotes platelet survival. *Faseb j*, 28, 2864-78.
- CHOUDHURY, T., WEST, N. E. & EL-OMAR, M. 2016. ST elevation myocardial infarction. *Clin Med (Lond)*, 16, 277-82.
- COLLET, J. P., THIELE, H., BARBATO, E., BARTHÉLÉMY, O., BAUERSACHS, J., BHATT, D. L., DENDALE, P., DOROBANTU, M., EDVARDBSEN, T., FOLLIGUET, T., GALE, C. P., GILARD, M., JOBS, A., JÜNI, P., LAMBRINOU, E., LEWIS, B. S., MEHILLI, J., MELIGA, E., MERKELY, B., MUELLER, C., ROFFI, M., RUTTEN, F. H., SIBBING, D. & SIONTIS, G. C. M. 2021. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J*, 42, 1289-1367.
- COLLINS, P. J., MCCULLY, M. L., MARTÍNEZ-MUÑOZ, L., SANTIAGO, C., WHEELDON, J., CAUCHETEUX, S., THELEN, S., CECCHINATO, V., LAUFER, J. M., PURVANOV, V., MONNEAU, Y. R., LORTAT-JACOB, H., LEGLER, D. F., UGUCCIONI, M., THELEN, M., PIGUET, V., MELLADO, M. & MOSER, B. 2017. Epithelial chemokine CXCL14 synergizes with CXCL12 via allosteric modulation of CXCR4. *Faseb j*, 31, 3084-3097.
- CORAZZI, T., LEONE, M., MAUCCI, R., CORAZZI, L. & GRESELE, P. 2005. Direct and irreversible inhibition of cyclooxygenase-1 by nitroaspirin (NCX 4016). *J Pharmacol Exp Ther*, 315, 1331-7.

- CUSHING, S. D., BERLINER, J. A., VALENTE, A. J., TERRITO, M. C., NAVAB, M., PARHAMI, F., GERRITY, R., SCHWARTZ, C. J. & FOGELMAN, A. M. 1990. Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 87, 5134-8.
- DÖRING, Y., PAWIG, L., WEBER, C. & NOELS, H. 2014. The CXCL12/CXCR4 chemokine ligand/receptor axis in cardiovascular disease. *Front Physiol*, 5, 212.
- EBBELING, L., ROBERTSON, C., MCNICOL, A. & GERRARD, J. M. 1992. Rapid ultrastructural changes in the dense tubular system following platelet activation. *Blood*, 80, 718-23.
- FANAROFF, A. C. & RAO, S. V. 2016. Antiplatelet Therapy in Percutaneous Coronary Intervention. *Interv Cardiol Clin*, 5, 221-237.
- FREDERICK, M. J., HENDERSON, Y., XU, X., DEAVERS, M. T., SAHIN, A. A., WU, H., LEWIS, D. E., EL-NAGGAR, A. K. & CLAYMAN, G. L. 2000. In vivo expression of the novel CXC chemokine BRAK in normal and cancerous human tissue. *Am J Pathol*, 156, 1937-50.
- GAUDINO, M., BENEDETTO, U., FREMES, S., BIONDI-ZOCCAI, G., SEDRAKYAN, A., PUSKAS, J. D., ANGELINI, G. D., BUXTON, B., FRATI, G., HARE, D. L., HAYWARD, P., NASSO, G., MOAT, N., PERIC, M., YOO, K. J., SPEZIALE, G., GIRARDI, L. N. & TAGGART, D. P. 2018. Radial-Artery or Saphenous-Vein Grafts in Coronary-Artery Bypass Surgery. *N Engl J Med*, 378, 2069-2077.
- GAWAZ, M. 2004. Role of platelets in coronary thrombosis and reperfusion of ischemic myocardium. *Cardiovasc Res*, 61, 498-511.
- GAWAZ, M., LANGER, H. & MAY, A. E. 2005. Platelets in inflammation and atherogenesis. *J Clin Invest*, 115, 3378-84.
- GHOSHAL, K. & BHATTACHARYYA, M. 2014. Overview of platelet physiology: its hemostatic and nonhemostatic role in disease pathogenesis. *ScientificWorldJournal*, 2014, 781857.
- GÖSSWAL, A., SCHIENKIEWITZ, A., NOWOSSADECK, E. & BUSCH, M. A. 2013. [Prevalence of myocardial infarction and coronary heart disease in adults aged 40-79 years in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 56, 650-5.
- GRYGLEWSKI, R. J., BOTTING, R. M. & VANE, J. R. 1988. Mediators produced by the endothelial cell. *Hypertension*, 12, 530-48.
- HARA, T. & TANEGASHIMA, K. 2014. CXCL14 antagonizes the CXCL12-CXCR4 signaling axis. *Biomol Concepts*, 5, 167-73.

- HAWRYLOWICZ, C. M., HOWELLS, G. L. & FELDMANN, M. 1991. Platelet-derived interleukin 1 induces human endothelial adhesion molecule expression and cytokine production. *J Exp Med*, 174, 785-90.
- HEROLD, G. 2024. *Innere Medizin 2024*, Berlin, Boston, De Gruyter, 237-259.
- HROMAS, R., BROXMEYER, H. E., KIM, C., NAKSHATRI, H., CHRISTOPHERSON, K., 2ND, AZAM, M. & HOU, Y. H. 1999. Cloning of BRAK, a novel divergent CXC chemokine preferentially expressed in normal versus malignant cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 255, 703-6.
- HUGHES, C. E. & NIBBS, R. J. B. 2018. A guide to chemokines and their receptors. *Febs j*, 285, 2944-2971.
- JAMESON, J. L., FAUCI, A. S., KASPER, D. L., HAUSER, S. L., LONGO, D. L. & LOSCALZO, J. 2018. *Harrison's Principles of Internal Medicine, 20e*. New York, NY: McGraw-Hill Education, 1850-1890.
- KIEFER, F. & SIEKMANN, A. F. 2011. The role of chemokines and their receptors in angiogenesis. *Cell Mol Life Sci*, 68, 2811-30.
- KLEIST, A. B., GETSCHMAN, A. E., ZIAREK, J. J., NEVINS, A. M., GAUTHIER, P. A., CHEVIGNÉ, A., SZPAKOWSKA, M. & VOLKMAN, B. F. 2016. New paradigms in chemokine receptor signal transduction: Moving beyond the two-site model. *Biochem Pharmacol*, 114, 53-68.
- KNUUTI, J., WIJNS, W., SARASTE, A., CAPODANNO, D., BARBATO, E., FUNCK-BRENTANO, C., PRESCOTT, E., STOREY, R. F., DEATON, C., CUISSET, T., AGEWALL, S., DICKSTEIN, K., EDVARDBSEN, T., ESCANED, J., GERSH, B. J., SVITIL, P., GILARD, M., HASDAI, D., HATALA, R., MAHFOUD, F., MASIP, J., MUNERETTO, C., VALGIMIGLI, M., ACHENBACH, S. & BAX, J. J. 2020. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur Heart J*, 41, 407-477.
- KOLBER, M. R. & SCRIMSHAW, C. 2014. Family history of cardiovascular disease. *Can Fam Physician*, 60, 1016.
- KOUPENOVA, M., CLANCY, L., CORKREY, H. A. & FREEDMAN, J. E. 2018. Circulating Platelets as Mediators of Immunity, Inflammation, and Thrombosis. *Circ Res*, 122, 337-351.
- KOUZELI, A., COLLINS, P. J., METZEMAEKERS, M., MEYRATH, M., SZPAKOWSKA, M., ARTINGER, M., STRUYF, S., PROOST, P., CHEVIGNE, A., LEGLER, D. F., EBERL, M. & MOSER, B. 2020. CXCL14 Preferentially Synergizes With Homeostatic Chemokine Receptor Systems. *Front Immunol*, 11, 561404.
- KUFAREVA, I., SALANGA, C. L. & HANDEL, T. M. 2015. Chemokine and chemokine receptor structure and interactions: implications for therapeutic strategies. *Immunol Cell Biol*, 93, 372-83.

- KURTH, I., WILLIMANN, K., SCHAEPLI, P., HUNZIKER, T., CLARK-LEWIS, I. & MOSER, B. 2001. Monocyte selectivity and tissue localization suggests a role for breast and kidney-expressed chemokine (BRAF) in macrophage development. *J Exp Med*, 194, 855-61.
- LAPAR, D. J., FILARDO, G., CROSBY, I. K., SPEIR, A. M., RICH, J. B., KRON, I. L. & AILAWADI, G. 2014. The challenge of achieving 1% operative mortality for coronary artery bypass grafting: a multi-institution Society of Thoracic Surgeons Database analysis. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 148, 2686-96.
- LECKA, J., RANA, M. S. & SÉVIGNY, J. 2010. Inhibition of vascular ectonucleotidase activities by the pro-drugs ticlopidine and clopidogrel favours platelet aggregation. *Br J Pharmacol*, 161, 1150-60.
- LEFRANÇAIS, E., ORTIZ-MUÑOZ, G., CAUDRILLIER, A., MALLAVIA, B., LIU, F., SAYAH, D. M., THORNTON, E. E., HEADLEY, M. B., DAVID, T., COUGHLIN, S. R., KRUMMEL, M. F., LEAVITT, A. D., PASSEGUÉ, E. & LOONEY, M. R. 2017. The lung is a site of platelet biogenesis and a reservoir for haematopoietic progenitors. *Nature*, 544, 105-109.
- LINDEMANN, S., KRÄMER, B., SEIZER, P. & GAWAZ, M. 2007. Platelets, inflammation and atherosclerosis. *J Thromb Haemost*, 5 Suppl 1, 203-11.
- LINDEN, M. D. 2013. Platelet physiology. *Methods Mol Biol*, 992, 13-30.
- LÓPEZ, J. A., ANDREWS, R. K., AFSHAR-KHARGHAN, V. & BERNDT, M. C. 1998. Bernard-Soulier syndrome. *Blood*, 91, 4397-418.
- LU, J., CHATTERJEE, M., SCHMID, H., BECK, S. & GAWAZ, M. 2016. CXCL14 as an emerging immune and inflammatory modulator. *J Inflamm (Lond)*, 13, 1.
- MACH, F., BAIGENT, C., CATAPANO, A. L., KOSKINAS, K. C., CASULA, M., BADIMON, L., CHAPMAN, M. J., DE BACKER, G. G., DELGADO, V., FERENC, B. A., GRAHAM, I. M., HALLIDAY, A., LANDMESSER, U., MIHAYLOVA, B., PEDERSEN, T. R., RICCARDI, G., RICHTER, D. J., SABATINE, M. S., TASKINEN, M.-R., TOKGOZOGLU, L., WIKLUND, O. & GROUP, E. S. D. 2019. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal*, 41, 111-188.
- MAERKI, C., MEUTER, S., LIEBI, M., MÜHLEMANN, K., FREDERICK, M. J., YAWALKAR, N., MOSER, B. & WOLF, M. 2009. Potent and broad-spectrum antimicrobial activity of CXCL14 suggests an immediate role in skin infections. *J Immunol*, 182, 507-14.
- MASSBERG, S., BRAND, K., GRÜNER, S., PAGE, S., MÜLLER, E., MÜLLER, I., BERGMEIER, W., RICHTER, T., LORENZ, M., KONRAD, I., NIESWANDT,

- B. & GAWAZ, M. 2002. A critical role of platelet adhesion in the initiation of atherosclerotic lesion formation. *J Exp Med*, 196, 887-96.
- MAUSE, S. F., VON HUNDELSHAUSEN, P., ZERNECKE, A., KOENEN, R. R. & WEBER, C. 2005. Platelet microparticles: a transcellular delivery system for RANTES promoting monocyte recruitment on endothelium. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 25, 1512-8.
- MCGILL, H. C., JR., MCMAHAN, C. A., ZIESKE, A. W., TRACY, R. E., MALCOM, G. T., HERDERICK, E. E. & STRONG, J. P. 2000. Association of Coronary Heart Disease Risk Factors with microscopic qualities of coronary atherosclerosis in youth. *Circulation*, 102, 374-9.
- MILLER, M. C. & MAYO, K. H. 2017. Chemokines from a Structural Perspective. *Int J Mol Sci*, 18.
- MORICE, M. C., SERRUYS, P. W., SOUSA, J. E., FAJADET, J., BAN HAYASHI, E., PERIN, M., COLOMBO, A., SCHULER, G., BARRAGAN, P., GUAGLIUMI, G., MOLNÁR, F. & FALOTICO, R. 2002. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N Engl J Med*, 346, 1773-80.
- MOSER, B., WOLF, M., WALZ, A. & LOETSCHER, P. 2004. Chemokines: multiple levels of leukocyte migration control. *Trends Immunol*, 25, 75-84.
- NABEL, E. G. & BRAUNWALD, E. 2012. A tale of coronary artery disease and myocardial infarction. *N Engl J Med*, 366, 54-63.
- NASSAR, T., SACHAIS, B. S., AKKAWI, S., KOWALSKA, M. A., BDEIR, K., LEITERSDORF, E., HISS, E., ZIPOREN, L., AVIRAM, M., CINES, D., PONCZ, M. & HIGAZI, A. A. 2003. Platelet factor 4 enhances the binding of oxidized low-density lipoprotein to vascular wall cells. *J Biol Chem*, 278, 6187-93.
- NEUMANN, F. J., SOUSA-UVA, M., AHLSSON, A., ALFONSO, F., BANNING, A. P., BENEDETTO, U., BYRNE, R. A., COLLET, J. P., FALK, V., HEAD, S. J., JÜNI, P., KASTRATI, A., KOLLER, A., KRISTENSEN, S. D., NIEBAUER, J., RICHTER, D. J., SEFEROVIC, P. M., SIBBING, D., STEFANINI, G. G., WINDECKER, S., YADAV, R. & ZEMBALA, M. O. 2018. 2018 ESC/EACTS Guidelines on myocardial revascularization. *Eur Heart J*, 40, 87-165.
- NIBBS, R. J. & GRAHAM, G. J. 2013. Immune regulation by atypical chemokine receptors. *Nat Rev Immunol*, 13, 815-29.
- NIESWANDT, B. & WATSON, S. P. 2003. Platelet-collagen interaction: is GPVI the central receptor? *Blood*, 102, 449-61.
- ORSÓ, E. & SCHMITZ, G. 2017. Lipoprotein(a) and its role in inflammation, atherosclerosis and malignancies. *Clin Res Cardiol Suppl*, 12, 31-37.

- PADILLA, J., JENKINS, N. T., LEE, S., ZHANG, H., CUI, J., ZUIDEMA, M. Y., ZHANG, C., HILL, M. A., PERFIELD, J. W., 2ND, IBDAH, J. A., BOOTH, F. W., DAVIS, J. W., LAUGHLIN, M. H. & RECTOR, R. S. 2013. Vascular transcriptional alterations produced by juvenile obesity in Ossabaw swine. *Physiol Genomics*, 45, 434-46.
- PAOLETTI, R., GOTTO, A. M., JR. & HAJJAR, D. P. 2004. Inflammation in atherosclerosis and implications for therapy. *Circulation*, 109, Ii20-6.
- PARK, S. J., KIM, Y. H., PARK, D. W., YUN, S. C., AHN, J. M., SONG, H. G., LEE, J. Y., KIM, W. J., KANG, S. J., LEE, S. W., LEE, C. W., PARK, S. W., CHUNG, C. H., LEE, J. W., LIM, D. S., RHA, S. W., LEE, S. G., GWON, H. C., KIM, H. S., CHAE, I. H., JANG, Y., JEONG, M. H., TAHK, S. J. & SEUNG, K. B. 2011. Randomized trial of stents versus bypass surgery for left main coronary artery disease. *N Engl J Med*, 364, 1718-27.
- PATRONO, C., RODRÍGUEZ, L. A. G., LANDOLFI, R. & BAIGENT, C. 2005. Low-Dose Aspirin for the Prevention of Atherothrombosis. *New England Journal of Medicine*, 353, 2373-2383.
- PORST, M., LIPPE, E. V., LEDDIN, J., ANTON, A., WENGLER, A., BREITKREUZ, J., SCHÜSSEL, K., BRÜCKNER, G., SCHRÖDER, H., GRUHL, H., PLAS, D., BARNES, B., BUSCH, M. A., HALLER, S., HAPKE, U., NEUHAUSER, H., REITZLE, L., SCHEIDT-NAVE, C., SCHLOTMANN, A., STEPPUHN, H., THOM, J., ZIESE, T. & ROMMEL, A. 2022. The Burden of Disease in Germany at the National and Regional Level. *Dtsch Arztebl Int*, 119, 785-792.
- RATH, D., CHATTERJEE, M., BORST, O., MÜLLER, K., LANGER, H., MACK, A. F., SCHWAB, M., WINTER, S., GAWAZ, M. & GEISLER, T. 2015. 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, 719-28.
- RATH, D., CHATTERJEE, M., BORST, O., MÜLLER, K., STELLOS, K., MACK, A. F., BONGARTZ, A., BIGALKE, B., LANGER, H., SCHWAB, M., GAWAZ, M. & GEISLER, T. 2013. 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. *European Heart Journal*, 35, 386-394.
- RENDU, F. & BROHARD-BOHN, B. 2001. The platelet release reaction: granules' constituents, secretion and functions. *Platelets*, 12, 261-73.
- RODZLAN HASANI, W. S., MUHAMAD, N. A., HANIS, T. M., MAAMOR, N. H., WEE, C. X., OMAR, M. A., GANAPATHY, S. S., ABDUL KARIM, Z. & MUSA, K. I. 2023. The burden of premature mortality from cardiovascular diseases: A systematic review of years of life lost. *PLoS One*, 18, e0283879.
- ROLLINS, B. J. 1997. Chemokines. *Blood*, 90, 909-28.

- RUMBAUT, R. E. & THIAGARAJAN, P. 2010. Integrated Systems Physiology: from Molecule to Function to Disease. *Platelet-Vessel Wall Interactions in Hemostasis and Thrombosis*. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences, DOI:10.4199/C00007ED1V01Y201002ISP004
- SABIK, J. F., 3RD, BLACKSTONE, E. H., GILLINOV, A. M., BANBURY, M. K., SMEDIRA, N. G. & LYTLE, B. W. 2006. Influence of patient characteristics and arterial grafts on freedom from coronary reoperation. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 131, 90-8.
- SALOGNI, L., MUSSO, T., BOSISIO, D., MIROLO, M., JALA, V. R., HARIBABU, B., LOCATI, M. & SOZZANI, S. 2009. Activin A induces dendritic cell migration through the polarized release of CXC chemokine ligands 12 and 14. *Blood*, 113, 5848-56.
- SANDOVAL, Y. & JAFFE, A. S. 2019. Type 2 Myocardial Infarction: JACC Review Topic of the Week. *J Am Coll Cardiol*, 73, 1846-1860.
- SANG, Y., ROEST, M., DE LAAT, B., DE GROOT, P. G. & HUSKENS, D. 2021. Interplay between platelets and coagulation. *Blood Rev*, 46, 100733.
- SCHAERLI, P., WILLIMANN, K., EBERT, L. M., WALZ, A. & MOSER, B. 2005. Cutaneous CXCL14 targets blood precursors to epidermal niches for Langerhans cell differentiation. *Immunity*, 23, 331-42.
- SCHELLER, B., HEHRLEIN, C., BOCKSCH, W., RUTSCH, W., HAGHI, D., DIETZ, U., BÖHM, M. & SPECK, U. 2008. Two year follow-up after treatment of coronary in-stent restenosis with a paclitaxel-coated balloon catheter. *Clin Res Cardiol*, 97, 773-81.
- SCHÖMIG, A., NEUMANN, F. J., KASTRATI, A., SCHÜHLEN, H., BLASINI, R., HADAMITZKY, M., WALTER, H., ZITZMANN-ROTH, E. M., RICHARDT, G., ALT, E., SCHMITT, C. & ULM, K. 1996. A randomized comparison of antiplatelet and anticoagulant therapy after the placement of coronary-artery stents. *N Engl J Med*, 334, 1084-9.
- SCHORIES, C., MARTUS, P., GUAN, T., HENES, J. K., WITTE, A., MÜLLER, K., GEISLER, T., CHATTERJEE, M., GAWAZ, M. & RATH, D. 2023. Platelet versus plasma CXCL14, coronary artery disease, and clinical outcomes. *Res Pract Thromb Haemost*, 7, 100165.
- SEGERS, V. F., TOKUNOU, T., HIGGINS, L. J., MACGILLIVRAY, C., GANNON, J. & LEE, R. T. 2007. Local delivery of protease-resistant stromal cell derived factor-1 for stem cell recruitment after myocardial infarction. *Circulation*, 116, 1683-92.
- SHELLENBERGER, T. D., WANG, M., GUJRATI, M., JAYAKUMAR, A., STRIETER, R. M., BURDICK, M. D., IOANNIDES, C. G., EFFERSON, C. L., EL-NAGGAR, A. K., ROBERTS, D., CLAYMAN, G. L. & FREDERICK, M. J.

2004. BRAK/CXCL14 is a potent inhibitor of angiogenesis and a chemotactic factor for immature dendritic cells. *Cancer Res*, 64, 8262-70.
- SMITH, W. L., DEWITT, D. L. & GARAVITO, R. M. 2000. Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev Biochem*, 69, 145-82.
- SPENCE, J. D., URQUHART, B. L. & BANG, H. 2016. Effect of renal impairment on atherosclerosis: only partially mediated by homocysteine. *Nephrol Dial Transplant*, 31, 937-44.
- STATISTISCHES BUNDESAMT. 2023a. *Sterbefälle durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen insgesamt 2022* [Online]. Verfügbar: <https://www.destatis.de/DE/Themen/GesellschaftUmwelt/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/sterbefaelle-herz-kreislauf-erkrankungen-insgesamt.html> [Besucht 03.08.2024 18:17].
- STATISTISCHES BUNDESAMT. 2023b. *Todesursachen 2022: Anteil der an COVID-19-Verstorbenen rückläufig (Pressemitteilung Nr. 441 vom 15. November 2023)* [Online]. Statistisches-Bundesamt Verfügbar: [https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2023/11/PD23\\_441\\_23211.html](https://www.destatis.de/DE/Presse/Pressemitteilungen/2023/11/PD23_441_23211.html) [Besucht 03.08.2024 18:17].
- STELLOS, K., BIGALKE, B., LANGER, H., GEISLER, T., SCHAD, A., KÖGEL, A., PFAFF, F., STAKOS, D., SEIZER, P., MÜLLER, I., HTUN, P., LINDEMANN, S. & GAWAZ, M. 2009. 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, 584-93.
- STELLOS, K., RUF, M., SOPOVA, K., KILIAS, A., RAHMANN, A., STAMATELOPOULOS, K., JORBENADZE, R., GEISLER, T., GAWAZ, M. & BIGALKE, B. 2011. Plasma levels of stromal cell-derived factor-1 in patients with coronary artery disease: effect of clinical presentation and cardiovascular risk factors. *Atherosclerosis*, 219, 913-6.
- STENBERG, P. E., MCEVER, R. P., SHUMAN, M. A., JACQUES, Y. V. & BAINTON, D. F. 1985. A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation. *J Cell Biol*, 101, 880-6.
- STONE, G. W., ELLIS, S. G., COX, D. A., HERMILLER, J., O'SHAUGHNESSY, C., MANN, J. T., TURCO, M., CAPUTO, R., BERGIN, P., GREENBERG, J., POPMA, J. J. & RUSSELL, M. E. 2004. A polymer-based, paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med*, 350, 221-31.
- TANEGASHIMA, K., SUZUKI, K., NAKAYAMA, Y., TSUJI, K., SHIGENAGA, A., OTAKA, A. & HARA, T. 2013. CXCL14 is a natural inhibitor of the CXCL12-CXCR4 signaling axis. *FEBS Lett*, 587, 1731-5.
- THIELE, H., NEUMANN-SCHNIEDEWIND, P., JACOBS, S., BOUDRIOT, E., WALTHER, T., MOHR, F. W., SCHULER, G. & FALK, V. 2009. Randomized

comparison of minimally invasive direct coronary artery bypass surgery versus sirolimus-eluting stenting in isolated proximal left anterior descending coronary artery stenosis. *J Am Coll Cardiol*, 53, 2324-31.

TUZCU, E. M., KAPADIA, S. R., TUTAR, E., ZIADA, K. M., HOBBS, R. E., MCCARTHY, P. M., YOUNG, J. B. & NISSEN, S. E. 2001. High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenagers and young adults: evidence from intravascular ultrasound. *Circulation*, 103, 2705-10.

ULVMAR, M. H., HUB, E. & ROT, A. 2011. Atypical chemokine receptors. *Exp Cell Res*, 317, 556-68.

VAN DIS, I., GELEIJNSE, J. M., KROMHOUT, D., BOER, J., BOSHUIZEN, H. & VERSCHUREN, W. M. 2013. Do obesity and parental history of myocardial infarction improve cardiovascular risk prediction? *Eur J Prev Cardiol*, 20, 793-9.

VARGA-SZABO, D., PLEINES, I. & NIESWANDT, B. 2008. Cell adhesion mechanisms in platelets. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 28, 403-12.

VON HUNDELSHAUSEN, P., WEBER, K. S., HUO, Y., PROUDFOOT, A. E., NELSON, P. J., LEY, K. & WEBER, C. 2001. RANTES deposition by platelets triggers monocyte arrest on inflamed and atherosclerotic endothelium. *Circulation*, 103, 1772-7.

WALLENTIN, L., BECKER, R. C., BUDAJ, A., CANNON, C. P., EMANUELSSON, H., HELD, C., HORROW, J., HUSTED, S., JAMES, S., KATUS, H., MAHAFFEY, K. W., SCIRICA, B. M., SKENE, A., STEG, P. G., STOREY, R. F., HARRINGTON, R. A., FREIJ, A. & THORSÉN, M. 2009. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 361, 1045-57.

WALSH, T. G., HARPER, M. T. & POOLE, A. W. 2015. SDF-1 $\alpha$  is a novel autocrine activator of platelets operating through its receptor CXCR4. *Cell Signal*, 27, 37-46.

WHITE, J. G. & CLAWSON, C. C. 1980. The surface-connected canalicular system of blood platelets--a fenestrated membrane system. *Am J Pathol*, 101, 353-64.

WITTE, A., CHATTERJEE, M., LANG, F. & GAWAZ, M. 2017. Platelets as a Novel Source of Pro-Inflammatory Chemokine CXCL14. *Cell Physiol Biochem*, 41, 1684-1696.

WITTE, A., ROHLFING, A. K., DANNENMANN, B., DICENTA, V., NASRI, M., KOLB, K., SUDMANN, J., CASTOR, T., RATH, D., BORST, O., SKOKOWA, J. & GAWAZ, M. 2021. The chemokine CXCL14 mediates platelet function and migration via direct interaction with CXCR4. *Cardiovasc Res*, 117, 903-917.

WIVIOTT, S. D., BRAUNWALD, E., MCCABE, C. H., MONTALESCOT, G., RUZYLLO, W., GOTTLIEB, S., NEUMANN, F. J., ARDISSINO, D., DE SERVI, S., MURPHY, S. A., RIESMEYER, J., WEERAKKODY, G., GIBSON,

- C. M. & ANTMAN, E. M. 2007. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 357, 2001-15.
- WU, M. Y., LI, C. J., HOU, M. F. & CHU, P. Y. 2017. New Insights into the Role of Inflammation in the Pathogenesis of Atherosclerosis. *Int J Mol Sci*, 18.
- YEBOAH, J., MCCLELLAND, R. L., POLONSKY, T. S., BURKE, G. L., SIBLEY, C. T., O'LEARY, D., CARR, J. J., GOFF, D. C., GREENLAND, P. & HERRINGTON, D. M. 2012. Comparison of novel risk markers for improvement in cardiovascular risk assessment in intermediate-risk individuals. *Jama*, 308, 788-95.
- YOSHIE, O., IMAI, T. & NOMIYAMA, H. 2001. Chemokines in immunity. *Adv Immunol*, 78, 57-110.
- ZARUBA, M. M., THEISS, H. D., VALLASTER, M., MEHL, U., BRUNNER, S., DAVID, R., FISCHER, R., KRIEG, L., HIRSCH, E., HUBER, B., NATHAN, P., ISRAEL, L., IMHOF, A., HERBACH, N., ASSMANN, G., WANKE, R., MUELLER-HOECKER, J., STEINBECK, G. & FRANZ, W. M. 2009. Synergy between CD26/DPP-IV inhibition and G-CSF improves cardiac function after acute myocardial infarction. *Cell Stem Cell*, 4, 313-23.
- ZLOTNIK, A. & YOSHIE, O. 2000. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity*, 12, 121-7.
- ZLOTNIK, A. & YOSHIE, O. 2012. The chemokine superfamily revisited. *Immunity*, 36, 705-16.
- ZLOTNIK, A., YOSHIE, O. & NOMIYAMA, H. 2006. The chemokine and chemokine receptor superfamilies and their molecular evolution. *Genome Biol*, 7, 243.

## **7. Erklärung zum Eigenanteil**

Diese Doktorarbeit wurde in der Medizinischen Universitätsklinik Tübingen, Abteilung für Innere Medizin III, unter Betreuung von Apl. Prof. Dr. med. Dr. med. univ. Dominik Rath durchgeführt. Die Konzeption der Studie erfolgte durch Prof. Dr. med. Meinrad Gawaz und Apl. Prof. Dr. med. Dr. med. univ. Dominik Rath.

Die Versuche wurden nach Einarbeitung durch Apl. Prof. Dr. med. Dr. med. univ. Dominik Rath und Dr. rer. nat. Madhumita Chatterjee von mir eigenständig mit Unterstützung von Klaudia Posavec, Dr. med Tianyun Guan und Lydia Laptev durchgeführt.

Freundlicherweise wurden mir FACS-Patientendaten von 196 Patienten, welche von November 2015 bis April 2017 durch Apl. Prof. Dr. med. Dr. med. univ. Dominik Rath und PhD Alexander Witte gewonnen wurden, für diese Arbeit zur Verfügung gestellt. Diese Daten wurden unter der Projektnummer: 270/2011BO1 der Ethikkommission erhoben. Die übrigen 254 FACS-Patientendaten wurden selbstständig im Zeitraum März 2020 - September 2020 gewonnen unter der Projektnummer: 238/2018BO2. Außerdem wurden Daten von Patienten verwendet, welche aus logistischen Gründen keine schriftliche Einwilligungserklärung abgegeben hatten, jedoch bereits Daten aus dem klinischen Alltag vorhanden waren, hierfür lautet die Projektnummer: 478/2022BO2.

Die Patientendaten sowie die Ergebnisse der Echokardiographie und der Herzkatheteruntersuchung wurden mir von der Abteilung für Innere Medizin III des Universitätsklinikums Tübingen zur Verfügung gestellt.

Die Nachbefragung der Patienten erfolgte durch mich mit freundlicher Unterstützung von Jessica Kristin Henes.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung eigenständig und mit Unterstützung von Apl. Prof. Dr. med. Dr. med. univ. Dominik Rath und Prof. Dr. Peter Martus.

Teile der Arbeit wurden bereits veröffentlicht (siehe 8. Veröffentlichung).

Ich versichere, die Dissertation selbständig verfasst zu haben und keine weiteren als die aufgeführten Quellen verwendet zu haben. Die Revision des Manuskripts erfolgte selbständig und durch Apl. Prof. Dr. med. Dr. med. univ. Dominik Rath.

Christoph Maria Schories

## 8. Veröffentlichung

Teile dieser Arbeit sind bereits veröffentlicht worden:

SCHORIES, C., MARTUS, P., GUAN, T., HENES, J. K., WITTE, A., MÜLLER, K., GEISLER, T., CHATTERJEE, M., GAWAZ, M. & RATH, D. 2023. Platelet versus plasma CXCL14, coronary artery disease, and clinical outcomes. *Res Pract Thromb Haemost*, 7, 100165. DOI: 10.1016/j.rpth.2023.100165.

Das Recht auf Verwendung der publizierten Daten beruht auf der „Creative commons attribution license“, welche unter <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/> (Stand 05.08.2024 17:37 Uhr) einzusehen ist.

## 9. Danksagung

Mein aufrichtiger Dank gilt besonders meinem Doktorvater Apl. Prof. Dr. med. Dr. med. univ. Dominik Rath, der mir durch die Bereitstellung des Themas, durch stetige Betreuung und Förderung meine Dissertation überhaupt erst ermöglichte.

Außerdem möchte ich Dr. rer. nat. Madhumita Chatterjee für die Betreuung und die Anleitung in labormedizinischen Arbeitsweisen danken.

Ein besonderer Dank gilt auch Lydia Laptev, die eine große Hilfe bei der Probenverarbeitung und der Thrombozytenaggregationsanalyse war. Klaudia Posavec, die mich tatkräftig bei den ELISA Analysen unterstützte. Dr. med. Tianyun Guan gilt ebenfalls mein aufrichtiger Dank, da Sie eine große Hilfe bei dieser Arbeit darstellte. Außerdem möchte ich Prof. Martus für die Beratung der statistischen Analyse danken.

Ich bin dankbar für eure Unterstützung, eure konstruktive Kritik und die durchweg harmonische Zusammenarbeit.

Zu guter Letzt möchte ich mich bei meiner Familie und bei meinen Freunden bedanken. Vielen Dank euch für euer Interesse, eure Unterstützung und eure immer offenen Ohren für mich.