

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

**Einfluss von MMP2 Polymorphismen auf die Prognose
von Patienten mit kardiovaskulärer Erkrankung in
einem 3-Jahres-Follow-up**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangen des Doktorgrades
der Zahnheilkunde**

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

vorgelegt von

Lente, Nina Patricia

2021

Dekan:

Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter:

Professor Dr. T. Geisler

2. Berichterstatter:

Professor Dr. F. Fend

Tag der Disputation:

29.04.2021

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1. Abkürzungen	7
2. Einleitung	7
2.1 Die koronare Herzerkrankung	7
2.1.2 <i>KHK von damals bis heute</i>	9
2.1.2 <i>Arteriosklerose</i>	13
2.1.3 <i>Chronisches Koronarsyndrom</i>	14
2.1.4 <i>Akutes Koronarsyndrom</i>	15
2.2 Thrombozyten	16
2.2.1 <i>Entdeckung</i>	16
2.2.2 <i>Morphologie</i>	20
2.2.3 <i>Adhäsion und Aggregation</i>	22
2.2.4 <i>Gerinnungsaktivierung</i>	23
2.3 Matrix-Metalloproteinasen.....	24
2.3.1 <i>MMP2</i>	26
2.3.2 <i>MMP2 bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen</i> ..	27
2.3.3 <i>Einzelnukleotid-Polymorphismen</i>	29
2.3.4 <i>Einzelnukleotid-Polymorphismen im MMP2- Gen</i>	31
3. Fragestellung	32
4. Material und Methoden	33
4.1 Patientencharakteristika.....	33
4.2 MMP2-Polymorphismen.....	34
4.3 Follow- up	34
4.4 Statistische Analyse	35
5. Ergebnisse	37
5.1 Basischarakteristika	37
5.1.1 <i>rs2241145</i>	37
5.1.2 <i>rs2285053</i>	38
5.1.3 <i>rs2287076</i>	39
5.1.4 <i>rs243865</i>	40
5.1.5 <i>rs7201</i>	41
5.2 Ereignisse	42
5.3 Kaplan-Meier-Kurven	46
5.4 Cox- Regression	59
6. Diskussion	62
7. Zusammenfassung	67

8. Literaturverzeichnis	68
9. Erklärung zum Eigenanteil.....	80
10. Danksagung	81

1. Abkürzungen

ADP: Adenosindiphosphat

AP: Angina Pectoris

ASS: Acetylsalicylsäure

AT: Angiotensin

ATP: Adenosinriphosphat

BARC: Bleeding Academic Research Consortium

DNA: Desoxyribonukleinsäure

EDTA: Ethylendiamintetraessigsäure

EKG: Elektrokardiogramm

GP: Glykoprotein

KHK: Koronare Herzkrankheit

LVEF: Linksventrikuläre Ejektionsfraktion

MMP: Matrix-Metalloproteasen

PAGE: Polyacrylamid Gelelektrophorese

PCI: Transluminale koronare Angioplastie

SDS: Natrium-Dodecyl-Sulfat (Natriumlaurylsulfat)

SNP: Single-Nukleotid-Polymorphismus (Einzelnukleotid-Polymorphismus)

STEMI/ NSTEMI: ST-elevation myocardial infarction (ST-Hebungsinfarkt)

TIMP: Tissue inhibitors of metalloproteinases (Gewebehemmer der MMP)

TNF: Tumor-Nekrose-Faktor

TPO: Thrombopoietin

vWF: Von-Willebrand-Faktor

2. Einleitung

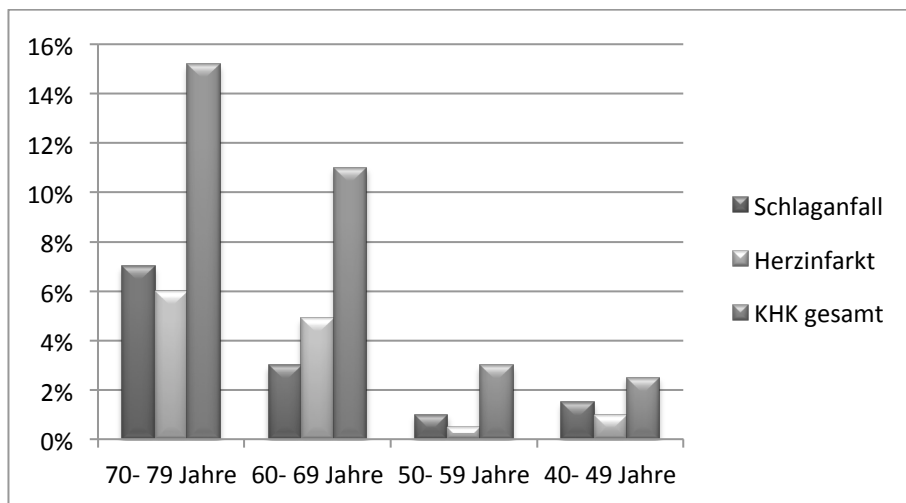
2.1 Die koronare Herzerkrankung

Die koronare Herzerkrankung (KHK) entsteht durch die Atherosklerose im Bereich der Herz-Kranzgefäße. Dies führt zu einer Minderversorgung des Herzmuskels mit Sauerstoff. Die Krankheit äußert sich als Symptomatik der Angina Pectoris. Grundsätzlich wird bei der koronaren Herzkrankheit zwischen der chronischen und der akuten Form unterschieden.¹

Das Risiko, an einer KHK zu erkranken ist wie bei den meisten komplexen Krankheiten ein Zusammenspiel zwischen genetischen Faktoren und dem Lebensstil.² Bereits 1951 bewies eine Studie, dass die KHK erblich ist.³ Eine schwedische Verlaufsstudie mit 20.000 Zwillingen bewies das erhöhte Risiko einer Vererbung bei engen Verwandten, wobei eine Vererbung auf ca. 50% geschätzt wird.^{4,5} Eine weitere Studie untersuchte das menschliche Genom auf genetische Varianten und fand heraus, dass Einzelnukleotid-Polymorphismen die sich in der Nähe von regulatorischen Bereichen befinden, zu 60% an der Vererbung einer KHK beteiligt sind. Diese SNPs sind besonders häufig in Histonen vorzufinden und vornehmlich in aktiven Ables- und Promoterregionen lokalisiert, welche einen großen Teil des genetischen Risikos für eine KHK ausmachen. Diese Signale kommen besonders in Geweben wie Fett-, Gehirn- und Milzzellen vor.⁶

Die koronare Herzerkrankung stellt bei beiden Geschlechtern die häufigste Todesursache dar. Die Lebenszeitprävalenz beträgt 9,2% bei 40-79-Jährigen und zählt somit zu den wichtigsten Volkskrankheiten.⁷ Im Jahr 2016 starben laut statistischem Bundesamt 13,3% aller Todesfälle der Frauen und 15,6% aller Todesfälle der Männer an der koronaren Herzerkrankung (Abbildung 1).

1 a)



1 b)

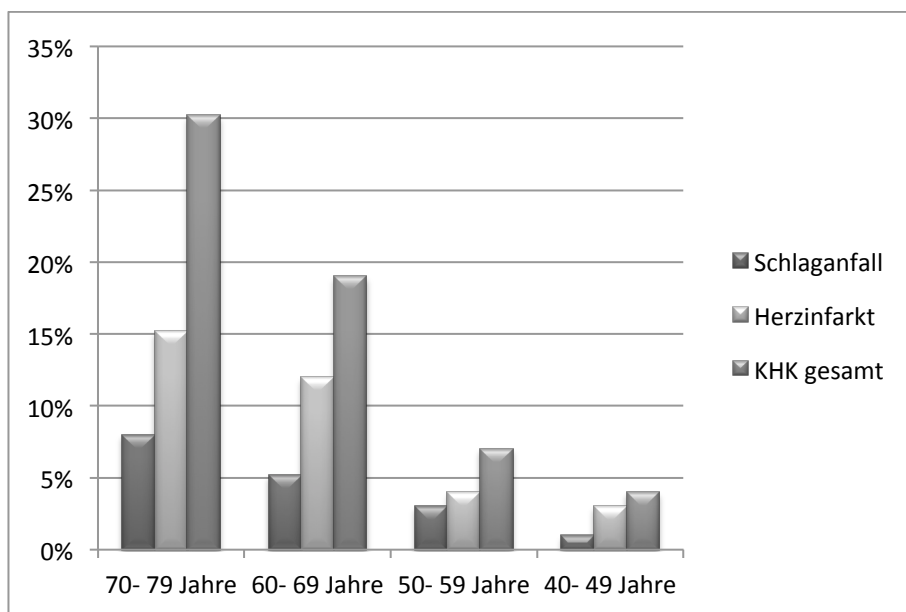


Abbildung 1: Anteil der diagnostizierten Herzerkrankungen bei gleichaltriger Bevölkerung der a) Frauen und b) Männer. Etwa 30% der 70-79 jährigen Männer und 15% der Frauen leiden unter der koronaren Herzkrankheit. Grafik modifiziert von Robert Koch- Institut 2013, Studie DEGS1, Erhebung 2008-2011

2.1.2 KHK von damals bis heute

Die koronare Herzerkrankung ist seit 15 Jahren die häufigste Todesursache weltweit. Als Grund wurden lange Zeit die modernen Lebensumstände verantwortlich gemacht. Eine Studie bewies jedoch, dass diese Krankheit bereits sehr alt ist. Es wurden 137 Mumien aus vier verschiedenen Regionen der Welt mittels Computertomographie untersucht. In 37% der Mumien wurden Anzeichen einer Atherosklerose gefunden. Diese Untersuchung führte zu der Überlegung, dass der Grund für diese Erkrankung eine viel grundlegendere Veranlagung sein muss.⁸

Ein medizinisches Dokument aus dem alten Ägypten, bekannt als das Ebers Papyrus, welches auf 3000 Jahre vor Christus datiert wird, besagte bereits: „Wenn ein Mann angibt Schmerzen in der Brust zu haben, welche in den Arm und den Magen ausstrahlen, dann sei der Tod nahe.“⁹

Im 7. Jahrhundert schrieb der arabische Poet Qais ibn Al-Mulawah in seiner Liebesgeschichte „Majnoon Lila“ über seine große Liebe Lila. Kurz bevor er starb, schrieb er ein letztes Gedicht, welches der arabische Kardiologe Dr. H.A. Hajar Albinali später ins Englische übersetzte und feststellte, dass dieses Gedicht durch Ausdrücke wie „Mein Herz ist fest beschlagnahmt von einer Vogelkralle“ oder „...fest gedrückt“ eine genaue Beschreibung einer akuten Angina Pectoris darstellt. Er schloss aus dem Gedicht, dass der Autor an der KHK litt und an einem Myokardinfarkt starb.¹⁰

Zur Zeit des römischen Reiches beschrieb Galen (131-201 n.Chr.) erstmals das Herz. Dabei war er überzeugt, dass das Herz das Blut durch kleine Poren ansaugt.¹¹ Erst 1628 erkannte der britische Physiker William Harvey diesen Fehler, indem er feststellte, dass das Blut im Körper zirkuliert.¹²

Leonardo da Vinci (1452-1519) beschrieb als Erster die Atherosklerose, indem er erläuterte, dass bei älteren Menschen der Blutfluss durch Verdickung der Gefäßwandschichten erschwert ist.¹³ Da Vincis Wissen über Anatomie hatte er dem Anatomieprofessor Marcantonio della Torre aus Pisa zu verdanken, welcher ihn dazu veranlasste, die Bilder für seine anatomischen Texte zu malen (Abbildung 2).¹⁴

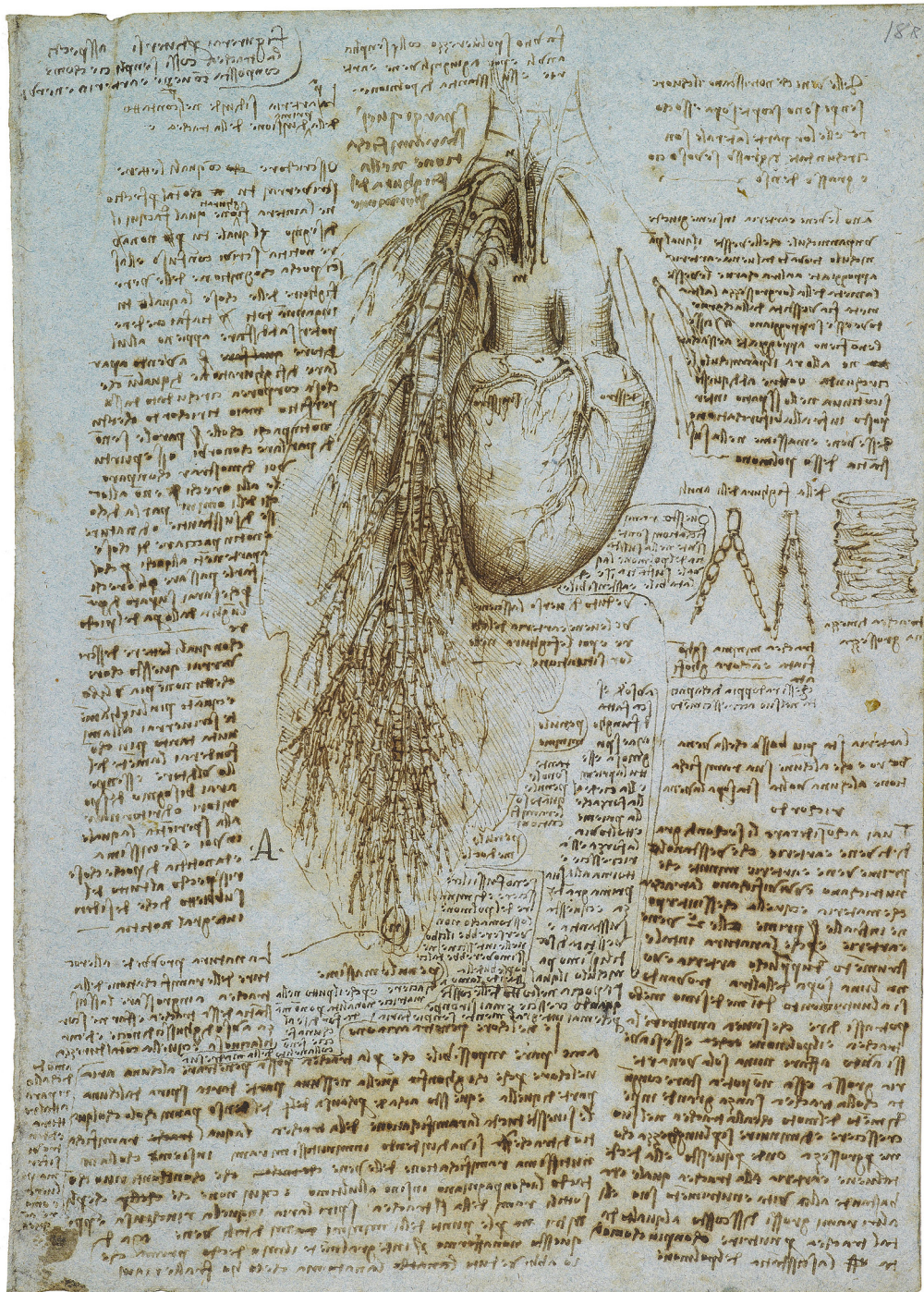


Abbildung 2: Leonardo da Vincis Zeichnungen über die Anatomie des Herzens mit freundlicher Genehmigung des Royal Collection Trust/ © Her Majesty Queen Elizabeth II 2020 aus Leonardo da Vinci: Corpus of the anatomical drawings in the Collection of her Majesty the Queen at Windsor Castle. 4 vols, London, 162¹⁵

Es war William Heberden, der mit seinem Artikel „Some Account of a Disorder oft the Breast“ im Jahr 1768 in London die Aufmerksamkeit der Medizin auf das Krankheitsbild der Angina Pectoris lenkte. Er beschrieb die Symptomatik des Brustschmerzes bei Anstrengung oder mentalem Stress.¹⁶

Der italienische Anatom Giovanni Morgagni beschrieb 1761 als Erster die sklerotischen Veränderungen der Arterien. Edward Jenner und sein Kollege Caleb Parry stellten den Zusammenhang zwischen dem Brustschmerz und den sklerosierten Arterien her. Dennoch war die Erkrankung immer noch nur von pathologischem Interesse.¹⁷

1799 entdeckte der Brite Caleb Hillier Parry die Ursache für die Angina Pectoris. Bei der Autopsie eines Schafes entdeckt er eine sandige Substanz in den Arterien. Er war der Erste, der den Mechanismus der ischämischen Herzerkrankungen korrekt beschrieb, dennoch wurde seine Entdeckung über 100 Jahre ignoriert. Bei der Autopsie des dänischen Künstlers Bertel Thorvaldsen wurde schließlich das erste Mal eine Plaqueruptur als Todesursache festgestellt.¹³

Ende des 18. Jahrhunderts dominierten zwei Theorien die Pathophysiologie der Atherosklerose. Carl von Rokitanskys Theorie besagte, dass die Ablagerungen im Inneren der Arterienwand primär von Fibrin und anderen Blutbestandteilen herrühren und nicht einem eitrigen Prozess entstammen. Rudolf Virchow hingegen erforschte die Pathogenese auf zellulärer Ebene. Zum ersten Mal benutzte er den Begriff „Endarteritis deformans“. Dieser Ausdruck beschreibt die Ursache der Ablagerung als einen entzündlichen Prozess der Intima. Die fibröse Verdickung stellt eine Folge der Proliferation der Gewebezellen der Intima dar, welche auf mechanischer Reizung beruht.¹⁸

Diese Hypothese stellte die Grundlage für Russel Ross' „Response-to-injury-Theorie“ dar, welche besagt, dass die Schäden einer Atherosklerose ein Ergebnis der Verletzung des Endothels der Arterie ist, gefolgt von Adhäsion, Aggregation und Ablösen von Thrombozyten.¹⁹

Ende des 19. Jahrhunderts entdeckten Kardiologen, dass ein Verschluss einer Koronararterie ein Flattern der Ventrikel zur Folge hat, was schnell zum Tod führt.²⁰

Der Pathologe Ludvig Hektoen folgerte 1879, dass der Myokardinfarkt die Folge der Koronarthrombose ist.²¹ James B. Herrick begann 1919 Myokardinfarkte mittels Elektrokardiographie zu diagnostizieren und verordnetet als Therapie strenge Bettruhe. Diese Maßnahmen galten bis Mitte des 20. Jahrhunderts als Standardtherapie.²²

Im 19. Jahrhundert führte der französische Physiologe Claude Bernard die erste Katheteruntersuchung an Tieren durch, um den Blutdruck zu messen.²³ Das war der Grundstein für die erste Katheteruntersuchung am Menschen. Werner Forssmann führte sie im Jahr 1929 an sich selbst durch.²⁴ Dank dieser Entdeckung wurde 1958 die koronare Arteriographie und Ventrikulographie entwickelt, welche von da an zur Standarddiagnostik gehörten.²⁵ Um Patienten heilen zu können, schritt die Entwicklung der Eingriffe am offenen Herzen schnell voran, bis die invasive Behandlungsmethode aufkam. 1979 veröffentlichte Andreas Grüntzig seine Studie und galt seitdem als Vater der perkutanen, nicht-invasiven Kardiologie.²⁶

Zunächst wurden Arterien mittels der Ballon-Angioplastie erweitert, um dann Metallstents platzieren zu können. Heutzutage werden medikamentenfreisetzende Stents verwendet, um eine Stenose zu behandeln.²⁷ Das erste Medikament zur Behandlung von akuten Myokardinfarkten war die Streptokinase, da die von ihr induzierte Fibrinolyse einen Zusammenbruch des Fibringerüsts zur Folge hat. Eine italienische Studie mit mehr als 10.000 Patienten brachte den Beweis für die reduzierte Sterblichkeit durch die Therapie mit Streptokinase.²⁸

Bereits seit 1970 wurden Langzeitstudien zur Erforschung von Medikamenten durchgeführt. Es wurde bewiesen, dass Aspirin, Beta-Blocker und ACE-Hemmer die Todesrate bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung senken.²⁹ Bei Patienten mit großen Infarkten konnten Defibrillatoren, kardiale Resynchronisationstherapien sowie ein künstliches Herzunterstützungssystem die Prognose deutlich verbessern.^{30,31,32}

2.1.2 Arteriosklerose

Die KHK entsteht durch die Manifestation der Atherosklerose in den Koronargefäßen. Als Atherosklerose bezeichnet man die inflammatorische, systemische Erkrankung der Arterien vom muskulären und elastischen Typ. Die Ursache dieser Erkrankung liegt in der endothelialen Dysfunktion, welche durch verschiedene Faktoren ausgelöst wird. Dazu zählen unter anderem Diabetes mellitus, Nikotinabusus, ein hoher Cholesterinspiegel oder eine genetische Vorbelastung.³³

Dieser Endothelschaden ist verantwortlich für die Anlagerung von Thrombozyten, welche spezifische Rezeptoren für Lipoprotein niederer Dichte exprimieren. Die mit Lipoprotein niederer Dichte beladenen Thrombozyten werden anschließend von Monozyten, welche an der Endothelwand anlagern, aufgenommen. Dadurch differenzieren sich die Monozyten zunächst zu Makrophagen und dann zu Schaumzellen. Diese Differenzierung wird begünstigt durch die von Thrombozyten aufgenommenen Phospholipide des verletzten Endothels. So kommt es zur Bildung von atherosklerotischen Plaques (Abbildung 2).

Zunächst entstehen streifenartige, reversible Fetteinlagerungen, welche sich zu fibrinösen Plaques weiterentwickeln und irreversibel sind.^{34,35} Kommt es nun zu einem akuten Event, wie zum Beispiel einer Plaqueruptur, liegt das thrombogene Subendothel frei. Es folgt die Adhäsion von Thrombozyten, welche die Gerinnungskaskade in Gang setzen und verschiedene Mediatoren, wie zum Beispiel Vasokonstriktoren, ADP und Thromboxan aktivieren. Hinzu kommt das aktivierte Thrombin und der Gewebefaktor, welche im Bereich der Ruptur Thrombozyten akkumulieren.

Die Folge ist die Bildung eines intravasalen Thrombus, welcher zum akuten Gefäßverschluss und somit zu einem akuten Koronarsyndrom führen kann.³⁶

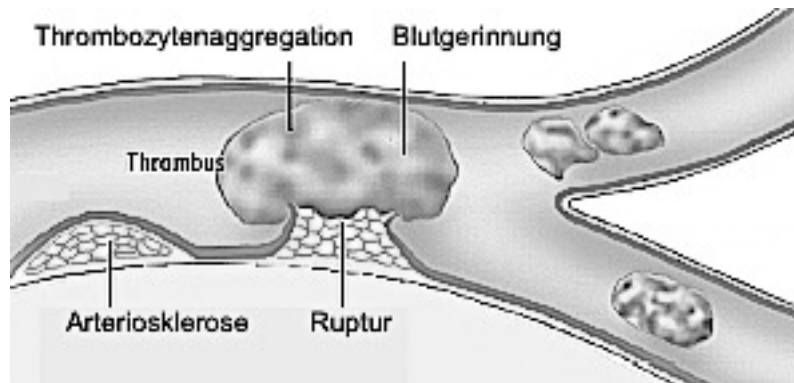


Abbildung 3: Schema der Arteriosklerose mit Thrombusbildung. Modifiziert nach „Aktuelle Therapie des Herzinfarkts“ von Lutz Hein, Freiburg, Ausgabe 20/2006 der pharmazeutischen Zeitung.³⁷

2.1.3 Chronisches Koronarsyndrom

Die stabile Form der koronaren Herzerkrankung (früher stabile KHK) ist nur vermeintlich stabil. In den meisten Fällen verläuft sie unbemerkt progredient. Um auf den chronischen Charakter der Erkrankung aufmerksam zu machen, wurde im August 2019 der Begriff „chronisches Koronarsyndrom“ eingeführt. Die verschiedenen Erscheinungsformen werden in drei Gruppen aufgeteilt:

1. Verdacht auf stenosierende KHK, 2. Bekannte stenosierende KHK,
3. Mikrovaskuläre Erkrankung.³⁸

Das chronische Koronarsyndrom ist auf die koronare Atherosklerose zurückzuführen, welche zunächst symptomlos verläuft. Im fortgeschrittenen Stadium treten, ausgelöst durch Belastung, phasenweise die typischen Beschwerden einer Angina Pectoris auf.³⁹ Zu diesen zählen drei Charakteristika, nämlich erstens der retrosternale Schmerz von kurzer Dauer, zweitens ausgelöst durch körperliche oder psychische Belastung, welcher drittens in Ruhe und/oder nach wenigen Minuten nach Nitratapplikation zurückgeht. Sind nur zwei der drei Symptome erfüllt, lautet die Diagnose atypische Angina Pectoris. Ist nur einer oder keiner der Punkte erfüllt, handelt es sich um eine nicht-angiöse thorakale Symptomatik (Tabelle 1). Die Belastbarkeit wird nach der Canadian Vascular Society nach Schweregrad in

Klasse 1 bis 4 eingeteilt. Zur klaren Diagnosefindung werden üblicherweise ein Belastungs-EKG oder eine Stressechokardiographie sowie Blutuntersuchungen zur Messung des Troponin- und Kreatininwertes empfohlen.⁴⁰

Typische Angina Pectoris	<ol style="list-style-type: none"> 1. retrosternaler Brustdruck 2. durch körperliche Betätigung/emotionaler Stress 3. schnelle Besserung durch Ruhe und/oder Nitrate
Atypische Angina Pectoris	Erfüllt zwei der Charakteristika
Nicht-angiöser Brustschmerz	Erfüllt keine/ nur eines der Charakteristika

Tabelle 1: klinische Klassifikation von Brustschmerzen. Modifiziert nach DGK-Leitlinie „Management der stabilen koronaren Herzkrankheit“ 2013, 9⁴¹

2.1.4 Akutes Koronarsyndrom

Das akute Koronarsyndrom beschreibt die Phasen der koronaren Herzerkrankung, die als lebensbedrohlich einzustufen sind. Dazu zählen die instabile Angina Pectoris, der akute Myokardinfarkt und der plötzliche Herztod. Da die Übergänge zwischen diesen Krankheitsbildern fließend sind, wird mit Hilfe des EKG-Befundes eingeteilt in Patienten mit und ohne ST-Streckenhebung.

Das akute Koronarsyndrom ohne ST-Hebung äußert sich durch typische thorakale Schmerzen in Ruhe, welche länger als 20 Minuten andauern und ein 12-Kanal-EKG ohne ST-Hebungen aufweist. Des Weiteren wird der Troponinwert gemessen, welcher eine große Rolle für das Infarktrisiko der nächsten 30 Tage spielt. Im Falle des akuten Koronarsyndroms ohne ST-Hebung ist der Wert erhöht. Liegt der Wert im Normalbereich lautet die Diagnose instabile Angina Pectoris.⁴²

Beim akuten Koronarsyndrom mit ST-Hebung geben die Patienten ebenfalls thorakale Ruheschmerzen länger als 20 Minuten an. Das EKG dieser Patienten zeigt eine ST-Streckenhebung von $\geq 0,1$ mV in mindestens zwei

zusammenhängenden Extremitätenableitungen oder $\geq 0,2$ mV in mindestens zwei zusammenhängenden Brustwandableitungen oder einen Linksschenkelblock mit infarkttypischer Symptomatik.⁴³

2.2 Thrombozyten

2.2.1 Entdeckung

Im Jahre 1865 wurden die Thrombozyten das erste Mal von Max Schultze erwähnt. Schultze erkannte durch die Benutzung des „beheizbaren Objektisches“, dass das menschliche Blut mehrere zelluläre Bestandteile enthält und dass diese die Fähigkeit haben, zu phagozitieren. In diesem Zusammenhang erwähnte er außerdem einen Blutbestandteil, welchen er „Kügelchen“ nannte. Er ging davon aus, dass diese Kügelchen zu den normalen Bestandteilen des Blutes zählen, da er sie in seinem eigenen Blut vorfand sowie auch in anderen Personen verschiedenen Alters.⁴⁴

Julius Bizzozero erforschte die von ihm als „Plättchen“ benannten Blutbestandteile genauer. Er lieferte eine präzise Beschreibung und machte wertvolle Experimente zur Funktion der Plättchen.⁴⁵ Er beschrieb diese dritte, zusätzlich zu den weißen und roten Blutkörperchen existierende Art von Zellen als ovale oder runde, dünne Plättchen, welche 2-3 mal dünner sind als die roten Blutkörperchen.⁴⁶ Außerdem beschrieb er die Schwierigkeit, diese Plättchen außerhalb vom Körper darzustellen ohne dass diese verklumpen. Des Weiteren bewies er, dass sie weder einen Zellkern besitzen, noch Hämoglobin enthalten. In seinen Experimenten beschrieb Bizzozero die Fähigkeit der Plättchen, ihre Form bei Verletzungen einer Gefäßwand zu ändern und sich zu einer Masse zu verbinden, welche die Wunde verschließt. Er fasste zusammen, dass diese Entdeckung bereits einen großen Beitrag zur Erklärung der Thrombose sowie der Gerinnung liefert.⁴⁶ Bizzozero war außerdem der Meinung, dass die Plättchen, ebenso wie die Erythrozyten und die Leukozyten dem Knochenmark entstammen. Diese Theorie konnte er jedoch nicht belegen.⁴⁶

Erst James Homer Wright erkannte, dass die von ihm entdeckten Megakaryozyten die Vorläuferzellen der Blutplättchen sind.⁴⁷ William Osler erkannte im Jahr 1886, dass Thrombozyten eine Rolle bei Thrombose spielen, da er sie in atherosklerotischen Aorten und an betroffenen Herzklappen fand.⁴⁸

Als Zucker et al. im Jahr 1954 das Blutserum untersuchten, wurde herausgefunden, dass Thrombozyten sekretorische Zellen sind, welche Serotonin lagern und freisetzen. Außerdem wurde erkannt, dass Thrombin, Kollagen und ADP starke Plättchenaktivatoren sind.

Es wurde bekannt, dass Kofaktoren wie der von Willebrand Faktor und Fibrinogen in die Plättchenaggregation involviert sind.⁴⁹ Studien über Gerinnselrückbildung ergaben, dass Thrombozyten als erste Zellen, welche nicht zu Muskelzellen zählen, Aktin und Myosin enthalten.^{50,51}

Im Jahre 1910 wurden einige Therapien entwickelt, um die Thrombozytopenie zu behandeln, unter anderem durch die Thrombozytentransfusion.⁵²

Radioaktive Strahlung, Strahlentherapie und zu der Zeit neu erforschte Chemotherapie führten zu einer erhöhten Sterberate durch Blutverlust, weshalb die Transfusionstherapie weiter verbessert wurde. Die Thrombozytentransfusion ist somit ein wesentlicher Bestandteil für den Erfolg der Chemotherapie.⁵³

1994 gelang es, das Glykoprotein Thrombopoietin (TPO) darzustellen und zu vervielfachen.⁵⁴ Bizzozero fand 1881 heraus, dass TPO die Plättchenanzahl in Tieren und Menschen durch Verbesserung der Proliferation und Überlebensrate der Megakaryozyten erhöht.⁴⁶

1976-1977 erkannten Moncada und Weksler, dass Endothelzellen, welche die Blutgefäße auskleiden und verhindern, dass Thrombozyten mit den Gefäßwänden reagieren, einen Stoff namens Prostaglandin I₂ (Prostacyclin) produzieren.^{55,56}

Anschließend wurde herausgefunden, dass Endothelzellen Stickstoffmonoxid (NO) freisetzen, welches die Thrombozyten hemmt und synergistisch zu Prostacyclin wirkt.^{57,58,59} Außerdem wurde eine endotheliale ADPase entdeckt, welche den Plättchenaktivator ADP schnell in seine inaktive Form AMP umwandeln kann.⁶⁰ Die Rezeptoren der Plättchen wurden vorerst auf ihr

biochemisches Ansprechverhalten reduziert, später wurde herausgefunden, dass sie intrazelluläres Ca^{++} freisetzen können.⁶¹

Die oberflächlichen Glykoproteine der Thrombozyten konnten durch die Erfindung des Natriumlaurylsulfats (SDS) löslich gemacht und durch die Polyacrylamid Gelelektrophorese (PAGE) getrennt werden. Dies war ein wichtiger Fortschritt in der Erforschung der Rezeptoren.⁶²

Ebenso wichtig in der Erforschung der Oberflächenrezeptoren von Thrombozyten war die Durchflusszytometrie. Dadurch wurde es möglich, die Bindung von Antikörpern an Rezeptoren von Thrombozyten zu untersuchen.⁶³

Durch die Erfindung der Polymerase-Kettenreaktion war es Ende des 20. Jahrhunderts möglich geworden, kleine mRNA zu untersuchen.⁶⁴

1967 wurde die Rolle der Thrombozyten bei arterieller Thrombose erkannt. Mustard et al. injizierten ADP in die Herzen von Schweinen und beobachtete Ischämien und Arrhythmien.⁶⁵ Des Weiteren wurde erkannt, dass Acetylsalicylsäure (ASS) einen antithrombotischen Effekt nicht nur bei Tieren, sondern auch beim Menschen erwirkt.⁶⁴

In Frankreich fanden Tuong et al. im Jahre 1974 heraus, dass Thienopyridine und Furoypyridine entzündungshemmende Wirkungen haben und die Plättchenaggregation nach Verabreichung von ADP in Ratten hemmen.⁶⁶ Aus dem Derivat von Thienopyridine wurde später, bekannt mit dem Namen Ticlopidin, ein effektiver Thrombozytenaggregationshemmer, welcher die Aggregation durch ADP hemmt und die Bindung von Fibrinogen an $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$ verhindert.⁴⁶

1998 wurde ein weiteres Thienopyridinderivat mit dem Namen Clopidogrel eingesetzt, welches im Vergleich zu Ticlopidin weitaus weniger Nebenwirkungen verursachte. Es wurde in Kombination mit ASS eingesetzt, um In-Stent-Thrombosen nach Koronarstentimplantation zu vermeiden.^{67,68}

Trotzdem erlitten einige Patienten wiederkehrende atherothrombotische Ereignisse. Dies könnte der großen Reichweite pharmakodynamischer Reaktionen von Clopidogrel geschuldet sein. Das der dritten Generation von Thienopyridine entstammende Prasugrel erzielt schneller und wirksamer einen antithrombotischen Effekt als Clopidogrel, vor allem bei Ischämien und In-Stent-

Thrombosen. Gleichzeitig erhöht es jedoch das Blutungsrisiko, weshalb es bevorzugt bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom und vernachlässigbarem Blutungsrisiko eingesetzt wird.⁶⁹

Ein weiterer Thrombozytenaggregationshemmer ist Ticagrelor. Es ist kein Derivat von Thienopyridine, sondern ein oral wirkendes, reversibel an den Thrombozytenrezeptor P2Y₁₂ bindender Antagonist. Es weist eine schnell einsetzende Wirkung und eine kurze Halbwertszeit auf, weshalb es eine gute Alternative zu den Thienopyridinderivaten darstellt, vor allem wenn eine schnelle Hemmung der Plättchenaggregation indiziert ist.⁷⁰ Die Hemmer der GP IIb/IIIa Rezeptoren wie Abciximab, Eptifibatid und Tirofiban hemmen die letzte Stufe der Thrombozytenaktivierung.⁷¹ Vor allem bei Patienten mit perkutaner Koronarintervention oder akutem Koronarsyndrom konnten ischämische Komplikationen vermindert werden. Sie zeigen eine starke gerinnungshemmende Wirkung, erhöhen jedoch das Blutungsrisiko, weshalb die Gabe nur bei Hochrisikopatienten empfohlen wird.^{72,73}

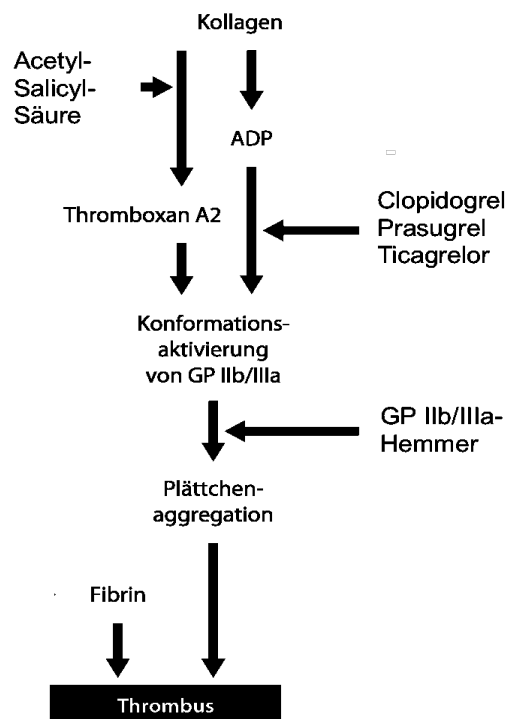


Abbildung 4: Ansatzpunkte von Thrombozytenaggregationshemmern modifiziert nach den Leitlinien für das Management von akuten Koronarsyndromen bei Patienten ohne persistierende ST-Hebung der europäischen Gesellschaft für Kardiologie. Eur Heart J 2011; 32:2999-3054⁷⁴

2.2.2 Morphologie

Thrombozyten sind die kleinsten zellulären Bestandteile des Blutes.⁴⁶ Ihre diskoide Ruheform besitzt eine mittlere Größe von $3,1 \mu\text{m}^2$ und eine Dicke von $1 \mu\text{m}$.⁷⁵ Sie entstammen den Megakaryozyten, welche sich aus pluripotenten Stammzellen entwickeln. Gebildet werden die Thrombozyten im Knochenmark, ihre vollständige Form entwickeln sie jedoch erst, während sie schon im Blut zirkulieren.^{76,77} Dort verbleiben sie 7-10 Tage und werden dann vom retikuloendothelialen System der Milz abgebaut.^{78,79}

Ein Thrombozyt lässt sich in 4 Zonen einteilen (Abbildung 5). Die periphere Zone bilden die Plasmamembran und die Oberfläche. Hier befinden sich die Membranphospholipide, welche bei Stimulation die Membranfluidität steigern.^{80,81}

In der Glykokalix sind Glykoproteine situiert, welche die Adhäsion der Thrombozyten an das Subendothel oder an andere Zellen über Liganden vermitteln.⁸² Dazu zählen unter anderem das GPIb, welches der Rezeptor für den vWF darstellt, und das Integrin $\alpha\text{IIb}\beta_3$, welches für die Aggregation der Thrombozyten sorgt.^{83,84,85}

In der strukturellen Zone bilden Strukturproteine das Membranskelett, welches die Zelle im Ruhezustand stabilisiert. Wird der Thrombozyt aktiviert, sorgt der darauffolgende Ca^{2+} -Einstrom für die Polymerisation der löslichen monomeren G-Aktin zu seiner Filamentform F-Aktin. Dies führt zu einer Filamentbildung zwischen Aktin und Myosin. Durch ihre Verbindung zu den Zellorganellen sorgen sie für die Umstrukturierung während der Aktivierung.⁸⁶

In der Zone der Organellen befindet sich unter anderem die dichte Granula („dense bodies“), Mitochondrien und verschiedene Speichergranula. In den dichten Granula wird unter anderem ADP, ATP, Ca^{2+} und Serotonin gespeichert.

Die α -Granula enthalten spezifische Proteine, wie z.B. den Faktor III, den vWF, und Fibrinogen. Die lysosomalen Granula speichern hydrolytische Enzyme. Werden die Thrombozyten aktiviert, fusioniert die Granula mit der Membran und die Inhaltsstoffe werden freigesetzt. Die Speicherstoffe der Granula werden

teilweise bereits in den Megakaryozyten gebildet, die anderen Stoffe werden über das Blutplasma aufgenommen.⁸⁷

Die vierte Zone ist das Membransystem, welches aus dem offenen kanalikulären System („surface connected system“) besteht.⁸⁸ Diese Kanäle sind mit der Plasmamembran verbunden. Außerdem enthalten sie, wie auch die Membran, einige Rezeptorproteine wie GPIb und Integrin $\alpha\text{IIb}\beta\text{3}$.

Somit dient das Membransystem unter anderem als Reservoir adhäsiver Rezeptoren.⁸⁹ Es stellt zudem ein Membranreservoir für die Oberflächenvergrößerung dar, welches bei der Formwandlung bei Aktivierung reduziert wird oder gänzlich verschwindet.⁹⁰

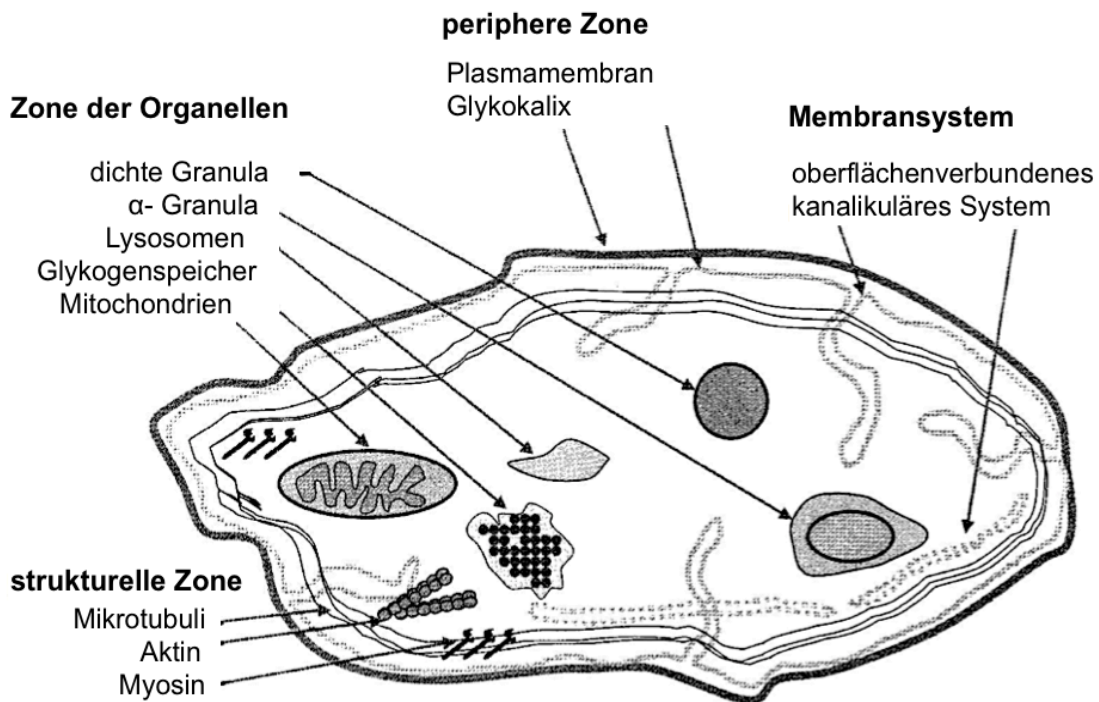


Abbildung 5: Thrombozytenmorphologie. Abbildung modifiziert nach Gawaz M. aus „Das Blutplättchen“, Georg Thieme Verlag 1999, 54-79)⁹¹

2.2.3 Adhäsion und Aggregation

Wird das Gefäßendothel verletzt, werden Adhäsionsproteine (z.B. Kollagen oder von-Willebrand-Faktor) freigelegt.^{83,92} Da Thrombozyten spezifische Rezeptoren für diese Proteine besitzen lagern sie sich ihnen an. Befinden sich die Thrombozyten hierbei in ihrer inaktiven Form, so bezeichnet man den Vorgang als primäre Adhäsion. Sind die Thrombozyten bereits aktiviert, spricht man von der sekundären Adhäsion.

Durch die Adhäsion werden die Thrombozyten aktiviert, hierbei verändern sie ihre Form („shape change“) und bilden Pseudopodien aus, was zu einer Oberflächenvergrößerung von bis zu $13 \mu\text{m}^2$ führt.⁹³ Durch die Aktivierung wird die plasmatische Gerinnung an der Thrombozytenoberfläche aktiviert.⁹⁴ Es folgt die Thrombozytenaggregation, also die Anhaftung von Thrombozyten untereinander. Nach dieser Aktivierung spalten sich Fibrinogenbrücken, die für die reversible Verbindung von Thrombozyten und Gefäßwand sorgen, zu Fibrin und stellen somit eine permanente Adhäsion her. Daraufhin setzen die Thrombozyten Substanzen frei, welche weitere Thrombozyten anlocken und außerdem die Aktivierung verstärken. Der in der Oberfläche integrierte Glykoprotein GP-IIb/IIIa-Rezeptor erfährt durch die Aktivierung eine Konformationsänderung, was dazu führt, dass Fibrinogen und vWF anbinden können. Dies ermöglicht die Aggregation der Plättchen untereinander.^{95,83,96}

Um die noch nicht aktivierten, im Blut zirkulierenden Thrombozyten an die bereits adhären Plättchen zu binden, muss zunächst der vWF an die Oberfläche der immobilisierten Thrombozyten binden, um eine neue Bindungsstelle zu schaffen.^{97,98} (Abbildung 6)

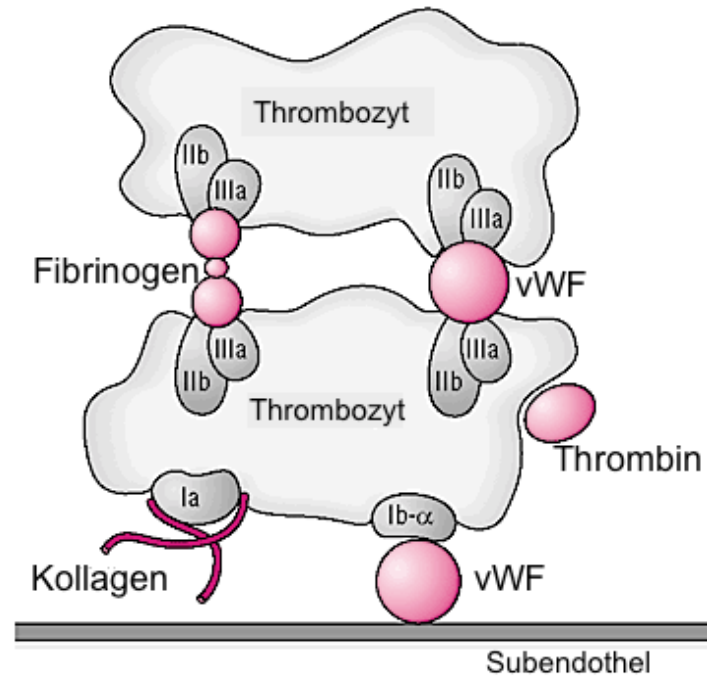


Abbildung 6: Adhäsion und Aggregation von Thrombozyten modifiziert nach Ostendorf/Seeber aus „Hämatologie-Onkologie“, München 1997⁹⁹

2.2.4 Gerinnungsaktivierung

Aus Endothelläsionen werden aktivierende Substanzen, wie der Gewebefaktor, freigesetzt. Dies führt parallel zur Plättchenadhäsion auch zu einer Aktivierung der plasmatischen Gerinnung.

Es wird das intrinsische, sowie auch das extrinsische System aktiviert, wobei Thrombin gebildet wird. Thrombin wiederum verstärkt über die Aktivierung der Faktoren V und VIII die Gerinnung. Dies führt zu einer vermehrten Thrombinbildung und damit zu einem Anstieg der Thrombozytenrekrutierung. Dieses schnell freigesetzte Thrombin wird, nach mehreren Aktivierungsschritten, durch den Faktorenkomplex Xa/Va zu einem Fibringerinnsel umgewandelt.¹⁰⁰

2.3 Matrix-Metalloproteinasen

Unter Matrix-Metalloproteinasen (MMP) versteht man eine Gruppe von mehr als 20 Enzymen, welche durch die Spaltung von Peptidbindungen eine wichtige Rolle bei physiologischen Vorgängen wie Zelldifferenzierung, Zellteilung, Gewebeumbau oder Wundheilung, aber auch bei pathologischen Gewebeneubildungen spielen.¹⁰¹ So wird oft eine vermehrte Expression von MMPs bei Entzündungen und malignen Erkrankungen festgestellt.¹⁰²

Sie sind in der Extrazellulärmatrix zu finden, wo hochdynamische Umbauprozesse lokalisiert sind. MMPs übernehmen dabei die Kontrolle für die Regulationsmechanismen. Sie sind beteiligt an der Zellkommunikation, sowie auch an der Funktion des Immunsystems, indem sie Moleküle wie Oberflächenrezeptoren, Hormone, Zytokine, Defensin oder Wachstumsfaktoren verarbeiten.

Kontrolliert wird diese Aktivität durch das Gleichgewicht zwischen Expression und Herstellung der MMP (Abbildung 7). Außerdem gibt es mehrere Inhibitoren, wobei die Gewebekhemmer der MMPs (TIMP) die größte Rolle spielen.¹⁰²

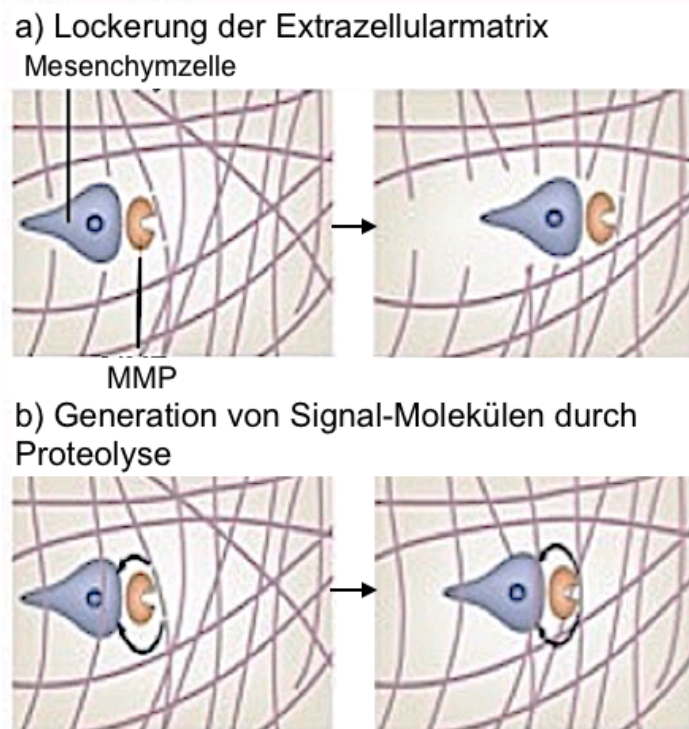


Abbildung 7: Regulatorische Funktionen der MMPs.

a) Abbau der Extrazellulärmatrix, reguliert durch MMP. b) Durch den MMP-induzierten Abbau der EZM können Signalmoleküle generiert werden. Abbildung modifiziert nach Page-McCaw et al. aus „Matrix Metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling“ 2007, 221-233.¹⁰³

Die MMPs werden anhand ihrer molekularen Struktur in 6 Gruppen eingeteilt: Kollagenasen, Gelatinasen, Stromelysine, Matrelysine, membranassoziierte MMPs, und andere, nicht klassifizierte MMPs.¹⁰⁴ Ihren Namen erhielten die Matrix-Metalloproteinasen da sie, um funktionsfähig zu sein, ein Zink-Atom an der katalytischen Domäne benötigen.

Ihnen allen ist die Struktur gemein, welche aus einer Domäne mit Signalsequenz gefolgt von einem Propeptid, eine katalysierende Domäne sowie eine hemopexin-ähnliche Domäne besteht (Abbildung 8).¹⁰⁵ MMPs werden in einer inaktiven Form als Proenzym von glatten Muskelzellen, Endothelzellen, Monozyten, Makrophagen und T-Zellen synthetisiert.¹⁰⁶

Nach der Synthese entsteht ein Komplex zwischen Cystein und Zink, bei welchem das Cystein in der Propeptiddomäne andockt und das essentielle Zink-Atom an die katalytische Domäne bindet. Dieser Komplex verhindert die Aktivierung. Sobald der Cystein-Rest von dem Komplex hydrolysiert wird, wird die aktive Seite des Enzyms frei und die MMP werden aktiv.¹⁰⁷ Die Funktion der Propeptiddomäne ist es, die aktive Seite der katalysierenden Domäne abzuschirmen, da sie für die Verarbeitung von Kollagen oder Elastin zuständig ist. Eine Hinge-Region bindet C-terminal eine Hemopexin-Domäne, welche zur Substraterkennung und -Bindung dient.¹⁰⁸

Die Gruppe der Kollagenasen wurde bereits 1962 von Gross und Lapiere entdeckt, indem sie während der Umwandlung von Kaulquappen in deren Schwänzen ein Enzym fanden, welches fibrinogenes Kollagen spalten konnte.^{109,110}

Seit bekannt wurde, welche Funktionen MMPs haben, spielen sie auch in der Kardiologie eine immer wichtigere Rolle. Da aktivierte MMPs verantwortlich sind

für den Abbau von extrazellulärer Matrix, sind sie ebenfalls an der Ruptur von atherosklerotischen Plaques beteiligt.

Die Folge ist ein akuter Myokardinfarkt oder plötzlicher Tod. Die Umbauphase des Ventrikels nach einem solchem Myokardinfarkt wird ebenfalls durch die MMP vermittelt.

Hierbei kommt es zu einem Zusammenbruch des Kollagen- und Elastinnetzwerkes, was zu einer ventrikulären Hypertrophie führt, wodurch es wiederum zu Herzfehlern bis hin zum Tod kommen kann.¹¹¹

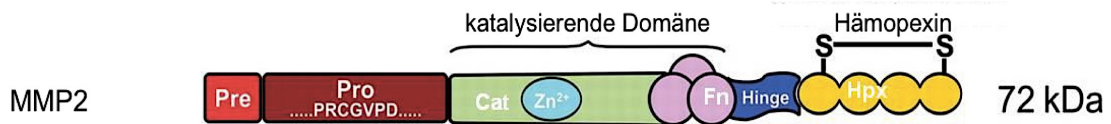
2.3.1 MMP2

Das MMP2 gehört zu den Gelatinasen, welche die am meisten erforschte Gruppe der MMPs darstellt. MMP2 wird auch Gelatinase A oder 72kDa Typ IV Kollagenase genannt. Es enthält 3 Fibronectin-Typ II-Wiederholungen an der katalytischen Seite, welches die Bindung von Gelatine (auch denaturiertes Typ IV und V-Kollagen genannt), Elastin und Kollagen erleichtert.¹¹²

Es wird überall im Körper hauptsächlich von Endothelzellen, Makrophagen, Neutrophilen, Eosinophilen, T-Zellen und Zellen des Interstitiums sezerniert und ist im Extrazellulärraum lokalisiert.¹¹³

Eine der Hauptaufgaben des MMP2 ist das Spalten des Typ IV Kollagens, welches einen Hauptbestandteil von Basalmembranen darstellt. Dadurch ergibt sich eine Reihe wichtiger Körperfunktionen wie Wachstum und Formierung neuer Blutgefäße, Wundheilung, Entzündungen sowie Knochenumbau.

Die Gelatinasen sind in der Lage, die Permeabilität der Blut-Hirn-Schranke durch Schwächen der Gefäßbasalmembran und/oder der Zell-Zell-Verbindungen (Tight-Junctions) zu erhöhen. Daher sind sie häufig an Erkrankungen des Nervensystems oder des Gehirns beteiligt.¹¹⁴



- Pre: Signalpeptid
- Pro: Prodomäne
- Cat: Katalytische Domäne
- Hpx: Hämopexin-
- Zn: Zink
- Fn: Fibronektin

Abbildung 8: struktureller Aufbau von MMP2, modifiziert nach Tan und Liu aus dem Am J Physiol Renal Physiol. 2012, F1351-F1361¹¹⁵

2.3.2 MMP2 bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen

In einem Tierversuch wurde festgestellt, dass bei Mäusen mit Myokardinfarkt ein Überschuss von TNF vorhanden ist, welcher in direkter Relation mit der erhöhten Produktion von MMP9 und MMP2 steht. Dies kann durch Kollagenabbau die Heilung verhindern und eine akute Myokardruptur zur Konsequenz haben.¹¹⁶ Weitere Studien bewiesen den Zusammenhang zwischen einem erhöhten Level von MMP2 und der Entstehung eines Myokardinfarktes.^{117,118}

Auch ist ein erhöhter Level an verschiedenen MMPs, vor allem MMP2, bei Aortenaneurysmen festzustellen. Sie schwächen die Gefäßwand durch den Abbau von Elastin.¹¹⁹

Auch bei der Atherosklerose spielen unter anderem MMP2 eine wichtige Rolle. Sie sind an Plaquebildung und Plaquewachstum beteiligt. Außerdem sind sie in die Instabilisierung der Plaques durch Herabsetzung der Komponente der Extrazellulärmatrix verwickelt.^{120,121}

Eine Studie mit Ratten, welche an Bluthochdruck leiden, zeigt auch hier einen Zusammenhang mit MMP2. Es wurden erhöhte MMP2-Konzentrationen in der

Aorta und dem Herzen der Ratten festgestellt.^{122,123}

Eine Verlaufsstudie ergab in den ersten 2 Wochen der Hypertonie eine strukturelle Veränderung der Gefäße, Aktivitäten der Gelatinasen, oxydativer Stress, endotheliale Dysfunktion sowie eine Erhöhung des MMP2-Levels.¹²⁴

Durch Medikamente wie Doxycyclin, CA²⁺- Blocker (Nifedipin und Metoprolol) und Spironolaktone werden Stoffwechselprodukte reduziert und das MMP2-Level gesenkt. Jüngste Studien belegen, dass die Hemmung der MMP-Aktivität durch Antihypertensiva ihre Wirkung nicht durch die direkte Inhibition der MMP entfaltet, sondern vielmehr eine Konsequenz des reduzierten Stresslevels und dem niedrigeren Blutdruck darstellt.^{125,126}

Einige Studien konnten beweisen, dass MMP2 allein für mehrere morphologische Veränderungen und Funktionsverluste im Herzen sowie für den ventrikulären Umbau mit Hypertrophie der Myozyten, Zerstörung der Sarkomere und Proliferation der Fibroblasten im Herz verantwortlich ist.¹²⁷ Die Abwesenheit von MMP2 schützt das Herz vor verletzungsbedingter Zunahme der ventrikulären Nachlast.¹²⁸

Bei Tieren mit Ischämie/Reperfusion wurde ebenfalls ein erhöhtes MMP2-Level im Herz festgestellt, welches zu vergrößerten Infarktbereichen und reduzierter Kontraktion führt.¹²⁹ Mahimkar et al. bewiesen die Degeneration der Herzklappen von Mäusen durch erhöhtes MMP2 nach 12-24 Lebenswochen.¹³⁰

Eine weitere Studie belegt, dass oxidativer Stress in den Myozyten des Herzens eine intrazelluläre Isoform des MMP2 erzeugt. Diese Isoform besitzt einen N-terminal- Abbruch und ist auf 65kDA gekürzt. Es wird wahrscheinlich aktiviert sobald es umgewandelt wird, da es die Propeptidomäne verliert. Diese kürzere Version des MMP2 kann für die strukturellen und funktionellen Schäden bei kardiovaskulären Erkrankungen verantwortlich sein.¹³¹

Aufgrund dieser Forschungsergebnisse liegt es nahe, dass der MMP2-Polymorphismus in der Promoterregion von prädisponierenden Genen als ein Risikofaktor für die Entstehung einer KHK angesehen werden könnte. Abbildung 9 verdeutlicht schematisch die Funktion von MMP2 auf die Herzfunktion.

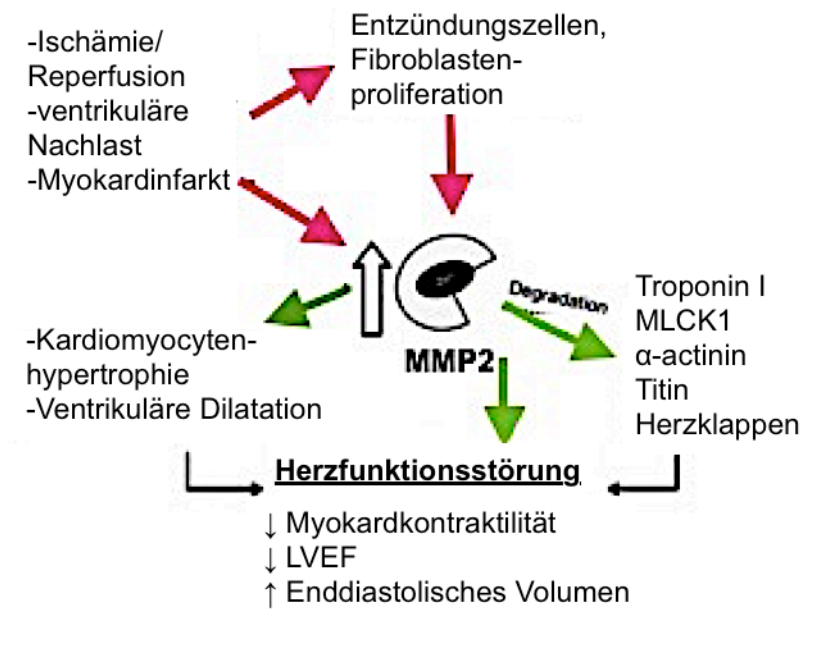


Abbildung 9: Pathologien des Herzens aktivieren Entzündungszellen, reaktive Sauerstoffspezies und Fibroblastenproliferation sowie MMP2 (rote Pfeile). Dies führt zu einer Hypertrophie der Myozyten und zu einer ventrikulären Dilatation, außerdem werden Strukturproteine herabgesetzt (grüne Pfeile). Beides hat Dysfunktionen des Herzens zur Folge. Modifiziert nach Azevedo et al. aus "Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology" 2014, 115, 301–314.¹³²

2.3.3 Einzelnukleotid-Polymorphismen

Vererbte Veränderungen in der DNA-Sequenz, sogenannte Einzelnukleotid-Polymorphismen (SNPs) führen zu einer Variation im Phänotyp welche sich auf die anthropometrischen Merkmale, das Krankheitsrisiko, sowie auf die Reaktion auf die Umgebung auswirkt. Sie sind die am häufigsten vorkommenden Genvariationen im Menschen.

Jeder SNP steht für eine Veränderung einzelner Basenpaare in einem DNA-Strang, genannt Nukleotid (Abbildung 10). Tritt eine solche Veränderung bei mehr als 1% der Bevölkerung auf, spricht man nicht mehr von einer Mutation sondern von einem Polymorphismus.¹³³ Sie treten durchschnittlich in jedem

300. Nukleotid auf, somit gibt es etwa 10 Millionen SNPs im menschlichen Genom. Meist treten sie zwischen den Genen der DNA auf und haben damit keine Auswirkung auf die Gesundheit oder die Entwicklung. Sind sie jedoch im Inneren eines Gens, oder in einem regulatorischem Bereich in der Nähe eines Gens lokalisiert, können sie eine direkte Rolle auf die Variabilität des Phänotyps und auf die Disposition genetischer Krankheiten spielen, welche durch dieses Gen beeinflusst wird.^{134,135}

Viele Studien beschäftigen sich mit der Identifikation der Gen-Polymorphismen, welche für bestimmte Erkrankungen verantwortlich sind.

Eine Studie zeigte, dass MMP-Polymorphismen Risikofaktoren zur Entstehung eines Myokardinfarkts darstellen. Dies wirkt sich jedoch unterschiedlich auf verschiedene ethnische Gruppen aus.¹³⁶ Eine weitere Studie belegte den Zusammenhang zwischen MMP-Polymorphismen und der Entstehung einer koronaren Herzerkrankung.¹³⁷ Auch der Schlaganfall wird mit dem MMP-Polymorphismus in Verbindung gebracht.¹³⁸

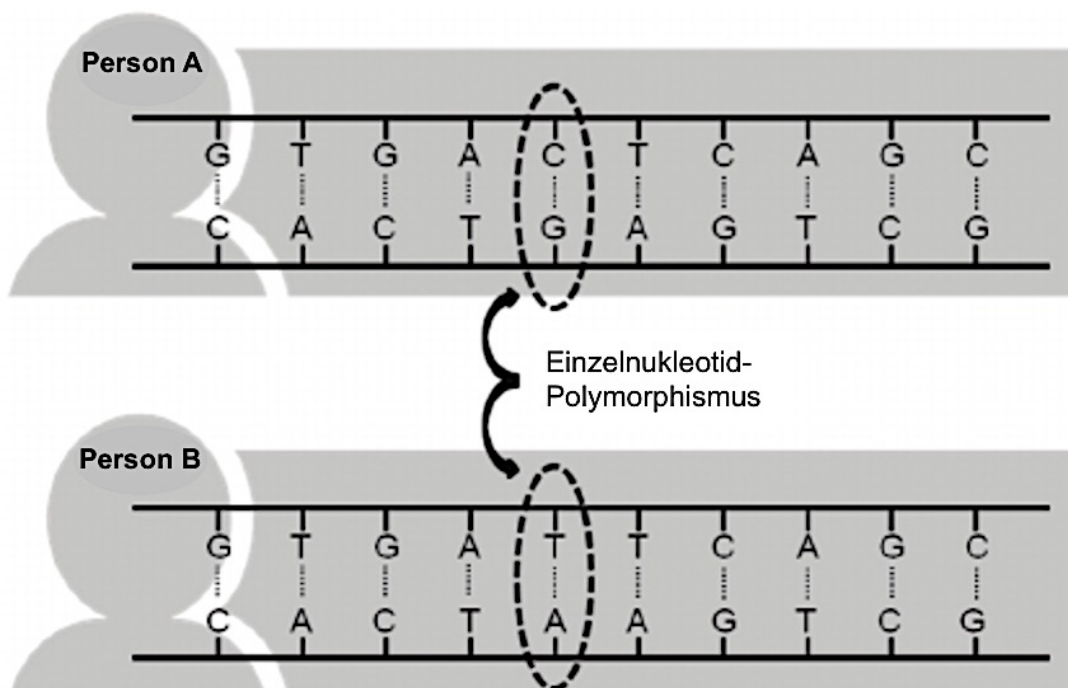


Abbildung 10: Schema des Einzelnukleotid-Polymorphismus. Modifiziert nach Masaki Hashiyada aus „DNA Biometrics“ , 2014, 6¹³⁹

2.3.4 Einzelnukleotid-Polymorphismen im MMP2-Gen

Der Polymorphismus des MMP2 liegt auf dem 16q13-Chromosom und enthält in der Promoterregion 13 Exons. MMP2-Enzyme werden von MMP2-Genen dekodiert, welche mehrere Einzelnukleotid-Polymorphismen besitzen.

Der MMP2-Polymorphismus ermöglicht Veränderungen bei der Regulierung der Transkription und beeinflusst somit die Funktion des Enzyms.¹⁴⁰

Es besteht der starke Verdacht, dass der Polymorphismus in der Promoterregion des MMP2-Gens das Level der Expression beeinflusst.¹⁴¹

Beber et al. demonstrierten in einer Studie, dass ein MMP2- Polymorphismus chronische Herzfehler begünstigen kann.¹⁴² Laut einer Studie, bei welcher Patienten mit Typ-2 Diabetes auf einen Zusammenhang zwischen dem MMP2-Polymorphismus und dem Risiko einer KHK untersucht wurden, besteht ein reduziertes Risiko für eine KHK, jedoch ein erhöhtes Risiko einen Herzinfarkt zu entwickeln.¹⁴³ Zudem wurde in einer chinesischen Studie festgestellt, dass der Polymorphismus Einfluss auf die Prognose bei Herzfehlern hat.¹³⁵ Inwiefern der MMP2-Polymorphismus jedoch Auswirkungen auf die Anfälligkeit von Herzfehlern hat, ist noch unklar.

Der Polymorphismus des MMP2 könnte außerdem eine Auswirkung auf das MMP2-Level bei Patienten mit Migräne haben.¹⁴⁵

Der MMP2-Polymorphismus kann wichtige Veränderungen im Herzen veranlassen. Dieses Wissen ist erheblich für weitere Forschungen sowie therapeutische Maßnahmen. Dennoch gibt es keine eindeutigen Ergebnisse bezüglich des Zusammenhanges zwischen dem MMP2-Polymorphismus und der KHK. Diese Tatsache bildet die Basis dieser Arbeit.

3. Fragestellung

Nachdem wir in einer Vorgängerstudie in einem Kurzzeit-Follow-up den Einfluss verschiedener MMP2-Polymorphismen auf die Endpunkte Tod, Myokardinfarkt und ischämischer Schlaganfall untersucht hatten, wurde in dieser Studie nun ein Langzeit-Follow-up über 3 Jahre durchgeführt. Als zusätzlicher Endpunkt werden die Blutungsereignisse analysiert. Die primäre Fragestellung beschäftigt sich mit einem möglichen Einfluss verschiedener MMP-2 SNPs auf thromboischämische- sowie Blutungsereignisse in einem Follow-up von Patienten mit symptomatischer kardiovaskulärer Erkrankung über 3 Jahre.

4. Material und Methoden

4.1 Patientencharakteristika

Eine Kohorte von 943 Patienten mit symptomatischer kardiovaskulärer Erkrankung wurden in die Studie eingeschlossen und auf die MMP2-Polymorphismen analysiert. Alle Patienten willigten mündlich sowie schriftlich in die geplante Studie ein.

Die Studie schloss 373 Patienten mit chronischem Koronarsyndrom und 388 Patienten mit akutem Koronarsyndrom ein. 181 Patienten wurden aufgrund anderer Erkrankungen wie Myokarditis, Vorhofflimmern/-flattern, Herzklappenerkrankungen oder präoperativ aufgenommen.

Die DNA wurde von Blutproben, welche mit Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA) präpariert wurden, unter Verwendung des QIAmp[®] DNA Blood Mini Kit System (Qiagen, Hilden, Germany) isoliert.

Die koronare Herzerkrankung wird definiert als das Vorliegen einer mindestens 50%-igen Stenose in einer Koronararterie. Zusätzlich wurde die koronare Herzerkrankung als klinisches Syndrom definiert, welches mit symptomatischen Beschwerden im retrosternalen Bereich oder in der Schulter, Rücken oder Armen gekennzeichnet ist. Die Symptome sind von kurzer Dauer, werden durch körperliche oder psychische Belastung ausgelöst und durch Ruhe und/oder Nitratapplikation gebessert.¹⁴⁶ Als Äquivalent zur typischen Angina-Symptomatik wird nach der aktuellen ESC-Leitlinie die (Belastungs-) Dyspnoe berücksichtigt.¹⁴⁷ Das akute Koronarsyndrom wird als instabile Angina Pectoris und Myokardinfarkt (NSTEMI oder STEMI) definiert.¹⁴⁸

Als arterielle Hypertonie gelten Werte ab ≥ 140 mmHg systolisch und ≥ 90 mmHg diastolisch.¹⁴⁹

Als Blutungsereignis wurde jede Blutung nach BARC (Bleeding Academic Research Consortium) Stadium 1-5 definiert, welche im Zeitraum von 3 Jahren nach Studieneinschluss auftrat.

Der akute Myokardinfarkt wurde anhand des Anstiegs der kardialen Biomarkern wie Troponin T/I, der ST-Senkung $>0,1$ mV im EKG, einer hämodynamischen Instabilität, Rhythmusinstabilitäten oder Diabetes mellitus definiert.¹⁴⁸

Es wurden die ethischen Grundsätzen der Helsinki-Deklaration für die medizinische Forschung am Menschen sowie die Richtlinien für die gute klinische Praxis berücksichtigt.^{150,151} Zudem wurde die Studie von der Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Eberhard-Karls-Universität Tübingen genehmigt (270/2011BO1).

4.2 MMP2- Polymorphismen

Die Analyse der genetischen Zusammensetzung des EDTA-Vollblutes wurde anhand einer Matrix-unterstützten Laser-Desorption/Ionisation Time-of-flight mass spectrometry (MALDI- TOF MS) unter Verwendung des Mass ARRAY® System Compact system (Sequenom, CA USA) durchgeführt¹⁵². Während der Genotypisierung waren die Mitarbeiter der Studie, welche die Ergebnisse auswerteten, gegenüber der Genotypinformation verblindet. 10% der Proben wurden im Rahmen der Qualitätskontrolle nochmals analysiert. Typisiert wurden die folgenden MMP2-SNP Varianten: rs2241145, rs2285053, rs2287076, rs243865 und rs7201.

4.3 Follow-up

Alle Patienten wurden für 1080 Tage nachverfolgt. Die Patienten wurden über Telefonanrufe kontaktiert, oder konnten über die Patientenakte durch Labortests oder Arztbriefe nachverfolgt werden. Dabei wurden klinische Ereignisse wie Myokardinfarkt, Tod oder Blutungsereignis dokumentiert.

71 Patienten konnten aus unterschiedlichen Gründen nicht nachverfolgt werden (7,5%). Der kombinierte primäre Endpunkt besteht aus dem Erstauftreten von Myokardinfarkt und/oder Tod und/oder Blutungsereignis. Sekundäre Endpunkte sind die einzelnen Ereignisse von Myokardinfarkt, Blutung oder Tod. Das Follow-up für den primären kombinierten Endpunkt wurde bis zum ersten Auftreten des vordefinierten Endpunktes durchgeführt.

4.4 Statistische Analyse

Die statistischen Analysen wurden mit SPSS Version 25 (SPSS Inc., Chicago, USA) durchgeführt.

Die Basischarakteristika wurden jeweils für die homozygoten Träger der häufigeren und selteneren Allele sowie für die heterozygoten Träger der MMP2-Polymorphismen erstellt.

Die Kaplan-Meier-Kurven wurden erstellt, um das kumulative Überleben in Bezug auf die MMP2-Polymorphismen einzuschätzen. Diese Überlebensfunktionen wurden mit der Log-Rang Methode analysiert, um die Endpunkte zwischen homozygoten Trägern des dominanten Allels, homozygote Träger des selteneren Allels sowie Heterozygoten miteinander zu vergleichen. Mithilfe von Kreuztabellen wurde untersucht, ob ein Zusammenhang zwischen den Endpunkten und den MMP2-Polymorphismen im Hinblick auf die Anzahl der Ereignisse sowie der Inzidenz besteht. Der Chi-Quadrat-Test erlaubt eine Einschätzung über die Signifikanz des Zusammenhangs. Die SNPs wurden in additiven genetischen Modellen untersucht. Dazu wurden die homozygoten Träger des häufigeren Allels, Heterozygote und homozygote Träger des selteneren Allels als 0, 1, oder 2 kodiert.

Für die Cox-Regression wurde das dominante Genmodell verwendet. Dazu wurden der heterozygote Träger und der homozygote Träger des selteneren Allels von MMP2 rs243865 kombiniert und den homozygoten Trägern des häufigeren Allels gegenübergestellt.

Dargestellt wird der Einfluss der Blutungsereignisse auf verschiedene Faktoren. Diese Faktoren stellen Kovariaten dar, welche das Entstehen einer kardiovaskulären Erkrankung beeinflussen können. Diese Faktoren sind Alter, Geschlecht, LVEF, Bluthochdruck, Diabetes mellitus, Hyperlipoproteinämie, Rauchen, Aspirin, ACE-Hemmer, AT1-Antagonisten, Statine, Beta-Blocker, Ca-Kanal-Blocker, orale Antikoagulation und der Aufnahmegrund.

Die Signifikanz wird durch p-Werte dargestellt.

Die statistische Signifikanz wurde als $<0,05$ definiert.

5. Ergebnisse

5.1 Basischarakteristika

Tabelle 1- 5

In Tabelle 1-5 werden die Basischarakteristika (Alter, Geschlecht, kardiovaskuläre Risikofaktoren, klinische Faktoren, Medikation bei Aufnahme, Aufnahmegrund) der Patienten für den jeweiligen Polymorphismus analysiert.

5.1.1. rs2241145:

Für den MMP2-Polymorphismus rs2241145 wurden insgesamt 943 Patienten analysiert, davon waren 225 homozygote Träger des häufigeren Allels, 463 waren heterozygot und 225 waren homozygote Träger des selteneren Allels.

Tabelle 1: Basischarakteristika MMP2 rs2241145

Charakteristika N=943	Homozygote Träger des häufigeren Allels	Heterozygote Träger	Homozygote Träger des selteneren Allels	P
Anzahl	N=225	N=463	N=255	
Männer	156 (69,3%)	325 (70,2%)	117 (45,9%)	0,981
Alter (±SA)	67,1 (12,7)	68,3 (12,3)	66,6 (13,3)	0,192
Kardiovaskuläre Risikofaktoren				
Arterielle Hypertonie	181 (71,1%)	378 (81,6%)	201 (89,3%)	0,650
Hyperlipidämie	120 (53,3%)	264 (57%)	138 (54,1%)	0,622
Diabetes mellitus	75 (33,3%)	142 (30,6%)	81 (31,7%)	0,781
Rauchen	89 (39,5%)	191 (41,2%)	95 (37,2%)	0,586
Klinische Faktoren				
LVEF % (±SA)	49,4 (11,5)	50,9 (10,9)	50,3 (11,3)	0,257
Kreatinin (mg/dl) (±SA)	1,1 (0,5)	1,0 (0,5)	1,0 (1)	0,970
Medikation bei Aufnahme				

ASS	113 (50,2%)	245 (52,9%)	137 (53,7%)	0,674
Clopidogrel	29 (12,8%)	49 (10,6%)	30 (11,8%)	0,691
Prasugrel	5 (2,2%)	10 (2,1%)	2 (7,8%)	0,356
Ticagrelor	9 (4,0%)	20 (4,3%)	9 (3,6%)	0,866
Orale Antikoagulation	23 (10,2%)	38 (8,2%)	19 (7,5%)	0,553
ACE- Hemmer	89 (39,5%)	194 (41,9%)	112 (43,9%)	0,597
AT1- Antagonisten	48 (21,3%)	88 (19,0%)	37 (14,5%)	0,137
Ca- Kanal- Blocker	47 (18,4%)	92 (19,9%)	41 (18,2%)	0,333
Beta- Blocker	123 (48,2%)	265 (57,2%)	140 (54,9%)	0,634
Statine	99 (44,0%)	211 (45,6%)	115 (45,1%)	0,865
Aufnahmegrund				
ACS	95 (42,2%)	182 (39,3%)	111 (43,5%)	0,627
CCS	87 (38,6%)	182 (39,3%)	104 (40,8%)	
Andere*	43 (19,1%)	97 (20,0%)	40 (15,7%)	

*enthält Myokarditis, nicht- ischämische Kardiomyopathie, Klappenstenose- oder Insuffizienz, Herzrhythmusstörungen, vermutete KHK und Prä-Operation

5.1.2. rs2285053

Für rs2285053 wurden 940 Patienten genotypisiert, davon waren 718 homozygote Träger des häufigeren Allels, 14 waren Träger des selteneren Allels. Bei den heterozygoten Trägern lag die Anzahl bei 208.

Tabelle 2: Basischarakteristika MMP2 rs2285053

Charakteristika N=940	Homozygote Träger des häufigeren Allels	Heterozygote Träger	Homozygote Träger des selteneren Allels	P
Anzahl	N=718	N=208	N=14	
Männer	496 (69,1%)	151 (72,6%)	10 (71,4%)	0,550
Alter (±SA)	67,8 (12,6)	67,1 (13,0)	64 (9,1)	0,456
Kardiovaskuläre Risikofaktoren				
Arterielle Hypertonie	577 (80,4%)	169 (81,3%)	13 (92,9%)	0,599
Hyperlipidämie	392 (54,6%)	119 (57,2%)	10 (71,4%)	0,456
Diabetes mellitus	231 (32,2%)	60 (28,8%)	6 (43,0%)	0,443
Rauchen	286 (39,8%)	81 (38,9%)	8 (57,1%)	0,438

Klinische Faktoren				
LVEF % (\pm SA)	50,5 (11,2)	50,1 (10,6)	48,9 (11,9)	0,796
Kreatinin (mg/dl) (\pm SA)	1,1 (0,7)	0,9 (0,3)	1,4 (0,9)	0,051
Medikation bei Aufnahme				
ASS	383 (53,3%)	101 (48,6%)	10 (71,4%)	0,100
Clopidogrel	79 (11%)	25 (12%)	4 (28,6%)	0,087
Prasugrel	11 (1,6%)	5 (2,4%)	1 (7,1%)	0,200
Ticagrelor	29 (4%)	9 (4,3%)	0 (0%)	0,744
Orale Antikoagulation	61 (8,5%)	17 (8,2%)	2 (14,3%)	0,734
ACE- Hemmer	304 (42,3%)	82 (39,4%)	8 (5,7%)	0,389
AT1- Antagonisten	135 (18,8%)	35 (16,8%)	3 (21,4%)	0,776
Ca- Kanal- Blocker	136 (18,9%)	43 (20,7%)	1 (7,1%)	0,439
Beta- Blocker	407 (56,7%)	111 (53,4%)	9 (64,3%)	0,575
Statine	316 (44,0%)	96 (46,1%)	12 (85,7%)	0,008
Aufnahmegrund				
ACS	286 (39,8%)	97 (46,6%)	4 (28,6%)	0,335
CCS	296 (41,2%)	69 (33,2%)	8 (57,1%)	
Andere*	135 (18,8%)	43 (20,7%)	2 (14,3%)	

*enthält Myokarditis, nicht-ischämische Kardiomyopathie, Klappenstenose- oder Insuffizienz, Herzrhythmusstörungen, vermutete KHK und Prä-Operation

5.1.3. rs2287076

Die Genotypisierung für rs2287076 bestand aus 940 Patienten. Davon waren 212 homozygote Träger des häufigeren Allels, 270 Träger des selteneren Allels und 458 Patienten waren heterozygote Träger.

Tabelle 3: Basischarakteristika MMP2 rs2287076

Charakteristika N=940	Homozygote Träger des häufigeren Allels	Heterozygote Träger	Homozygote Träger des selteneren Allels	P
Anzahl	N=212	N=458	N=270	
Männer	145 (68,4%)	323 (70,5%)	190 (70,4%)	0,866
Alter (\pmSA)	67,2 (12,4)	68,4 (12,3)	66,3 (13,4)	0,89
Kardiovaskuläre Risikofaktoren				
Arterielle Hypertonie	168 (79,2%)	376 (82,1%)	215 (79,7%)	0,655
Hyperlipidämie	112 (52,8%)	262 (57,2%)	148 (54,8%)	0,694

Diabetes mellitus	68 (32,1%)	149 (32,5%)	81 (30,0%)	0,772
Rauchen	82 (38,7%)	188 (41,1%)	104 (38,5%)	0,760
Klinische Faktoren				
LVEF % (\pm SA)	49,7 (11,4)	50,6 (10,9)	50,5 (11,4)	0,600
Kreatinin (mg/dl) (\pm SA)	1,1 (0,5)	1,0 (0,5)	1,0 (0,9)	0,950
Medikation bei Aufnahme				
ASS	104 (49,1%)	245 (53,5%)	146 (54,1%)	0,456
Clopidogrel	25 (11,8%)	50 (10,9%)	33 (12,2%)	0,867
Prasugrel	4 (1,9%)	9 (1,9%)	4 (1,5%)	0,888
Ticagrelor	9 (4,2%)	18 (3,9%)	11 (4,1%)	0,984
Orale Antikoagulation	23 (10,8%)	39 (8,5%)	18 (6,6%)	0,275
ACE- Hemmer	80 (37,7%)	195 (42,6%)	120 (44,4%)	0,290
AT1- Antagonisten	45 (21,2%)	85 (18,6%)	43 (15,9%)	0,335
Ca- Kanal- Blocker	42 (19,8%)	94 (20,5%)	44 (16,2%)	0,348
Beta- Blocker	111 (52,4%)	271 (59,2%)	146 (54,1%)	0,142
Statine	94 (44,3%)	208 (45,4%)	123 (45,6%)	0,933
Aufnahmegrund				
ACS	90 (42,5%)	182 (39,7%)	116 (42,9%)	0,841
CCS	83 (39,2%)	182 (39,7%)	108 (40,0%)	
Anderer*	39 (18,4%)	94 (20,5%)	46 (17,0%)	

*enthält Myokarditis, nicht-ischämische Kardiomyopathie, Klappenstenose- oder Insuffizienz, Herzrhythmusstörungen, vermutete KHK und Prä-Operation

5.1.4. rs243865

Für den Polymorphismus rs243865 waren 935 Patienten in die Studie eingeschlossen. 533 davon waren homozygote Träger des häufigeren Allels, 69 Träger des selteneren Allels und 333 waren heterozygote Träger.

Tabelle 4: Basischarakteristika MMP2 rs243865

Charakteristika N=935	Homozygote Träger des häufigeren Allels	Heterozygote Träger	Homozygote Träger des selteneren Allels	P
Anzahl	N=533	N=333	N=69	
Männlich	378 (70,1%)	228 (68,5%)	49 (71%)	0,689
Alter (\pmSA)	67,9 (12,8)	67,1 (12,1)	66,3 (13,9)	0,468
Kardiovaskuläre Risikofaktoren				

Arterielle Hypertonie	438 (82,2%)	263 (78,9%)	53 (76,8%)	0,855
Hyperlipidämie	291 (54,6%)	193 (58%)	34 (49,3%)	0,308
Diabetes mellitus	172 (32,3%)	101 (30,3%)	22 (31,9%)	0,905
Rauchen	206 (38,6%)	143 (42,9%)	23 (33,3%)	0,191
Klinische Faktoren				
LVEF % (\pm SA)	50 (11,3)	51,1 (10,9)	49,4 (11,8)	0,314
Kreatinin (mg/dl) (\pm SA)	1 (0,6)	1,1 (0,7)	1,1 (0,6)	0,824
Medikation bei Aufnahme				
ASS	285 (53,5%)	174 (52,3%)	32 (46,4%)	0,471
Clopidogrel	64 (12,0%)	39 (11,7%)	3 (4,3%)	0,165
Prasugrel	10 (1,9%)	6 (1,8%)	1 (1,4%)	0,969
Ticagrelor	21 (3,9)	12 (3,6%)	4 (5,8%)	0,685
Orale Antikoagulation	47 (8,8%)	27 (8,1%)	3 (4,3%)	0,431
ACE- Hemmer	231 (43,3%)	138 (41,4%)	22 (31,9%)	0,172
AT1- Antagonisten	94 (17,6%)	64 (19,2%)	15 (21,7%)	0,673
Ca- Kanal- Blocker	93 (17,4%)	69 (20,7%)	16 (23,1%)	0,343
Beta- Blocker	310 (58,2%)	184 (55,3%)	31 (44,9%)	0,88
Statine	244 (45,8%)	155 (46,5%)	25 (36,2%)	0,265
Aufnahmegrund				
ACS	226 (42,4%)	130 (39%)	31 (44,9%)	0,658
CCS	208 (39%)	140 (42%)	23 (33,3%)	
Andere*	99 (18,6%)	63 (18,9%)	15 (21,7%)	

*enthält Myokarditis, nicht-ischämische Kardiomyopathie, Klappenstenose- oder Insuffizienz, Herzrhythmusstörungen, vermutete KHK und Prä-Operation

5.1.5 rs7201

Es wurden 943 Patienten für rs7201 analysiert. 241 davon waren homozygote Träger des häufigeren Allels, 469 waren heterozygote Träger und 231 waren homozygote Träger des selteneren Allels.

Tabelle 5: Basischarakteristika MMP2 rs7201

Charakteristika N=943	Homozygote Träger des häufigeren Allels	Heterozygote Träger	Homozygote Träger des selteneren Allels	P
Anzahl	N=241	N=469	N=231	0,202
Männer	171 (70,0%)	324 (69,1%)	163 (70,6%)	0,738

Alter (\pmSA)	66,5 (13,1)	68,2 (12,8)	67,3 (12)	0,202
Kardiovaskuläre Risikofaktoren				
Arterielle Hypertonie	190 (78,8%)	388 (82,7%)	182 (78,8%)	0,125
Hyperlipidämie	150 (62,2%)	252 (53,7%)	120 (51,9%)	0,091
Diabetes mellitus	75 (31,1%)	151 (32,1%)	72 (31,2%)	0,889
Rauchen	100 (41,5%)	191 (40,7%)	84 (36,4%)	0,457
Klinische Faktoren				
LVEF % (\pm SA)	50,3 (11,6)	50,6 (10,7)	49,6 (11,4)	0,389
Kreatinin (mg/dl) (\pm SA)	1,1 (0,9)	1 (0,6)	1 (0,4)	0,863
Medikation bei Aufnahme				
ASS	135 (56,0%)	240 (51,2%)	120 (51,9%)	0,552
Clopidogrel	30 (12,4%)	50 (10,7%)	28 (12,1%)	0,773
Prasugrel	5 (2,1%)	9 (1,9%)	3 (1,3%)	0,790
Ticagrelor	8 (3,3%)	19 (4,1%)	11 (4,8%)	0,723
Orale Antikoagulation	19 (7,9%)	39 (8,3%)	22 (9,5%)	0,808
ACE- Hemmer	108 (44,8%)	194 (41,4%)	93 (40,3%)	0,589
AT1- Antagonisten	48 (19,9%)	77 (16,4%)	48 (20,8%)	0,327
Ca- Kanal- Blocker	34 (14,1%)	101 (21,5%)	45 (19,5%)	0,050
Beta- Blocker	142 (58,9%)	254 (54,2%)	132 (57,1%)	0,550
Statine	114 (47,3%)	208 (44,3%)	103 (44,6%)	0,789
Aufnahmegrund				
ACS	110 (45,6%)	195 (41,5%)	83 (35,9%)	0,109
CCS	96 (39,8%)	172 (36,7%)	105 (45,5%)	
Anderer*	36 (14,9%)	101 (21,5%)	43 (18,6%)	

*enthält Myokarditis, nicht-ischämische Kardiomyopathie, Klappenstenose- oder Insuffizienz, Herzrhythmusstörungen, vermutete KHK und Prä-Operation

5.2 Ereignisse

Anzahl und Inzidenz der Ereignisse der verschiedenen Polymorphismen sind in Tabelle 6 bis 10 dargestellt. Untersucht wurden sie mittels additivem Genmodell auf verschiedene Variablen (Kombinierter Endpunkt, Tod, Myokardinfarkt und Blutungsereignis).

Tabelle 6: Anzahl Ereignisse und Inzidenz/100 PY rs2241145

Variable	Anzahl der Ereignisse (rs2241145: hT* häufigeres Allel/ Heterozygote/hT selteneres Allel)	Inzidenz (rs2241145: hT* häufigeres Allel/ Heterozygote/hT selteneres Allel)	P
Kombinierter Endpunkt	204 (46/102/56)	8,10 (6,75/8,23/9,38)	0,162
Tod	112 (23/60/29)	4,45 (3,39/4,84/4,85)	0,257
Myokardinfarkt	97 (28/44/25)	3,85 (4,12/3,55/4,18)	0,712
Blutungsereignis	81 (29/35/17)	3,22 (4,27/2,82/2,84)	0,169

*hT: homozygoter Träger

Bei der Analyse von rs2241145 konnte in Hinblick auf die Endpunkte keine Signifikanz festgestellt werden.

Tabelle 7: Anzahl Ereignisse und Inzidenz/100 PY rs2285053

Variable	Anzahl der Ereignisse (rs2285053: hT* häufigeres Allel/ Heterozygote/hT selteneres Allel)	Inzidenz (rs2285053: hT* häufigeres Allel/ Heterozygote/hT selteneres Allel)	P
Kombinierter Endpunkt	204 (151/50/3)	8,10 (7,88/8,81/8,33)	0,734

Tod	112 (77/33/2)	4,45 (4,02/5,85/5,55)	0,143
Myokardinfarkt	97 (75/20/2)	3,85 (3,91/3,54/5,55)	0,785
Blutungsereignis	81 (60/20/1)	3,22 (3,13/3,54/2,77)	0,870

*hT: homozygoter Träger

In Bezug auf die verschiedenen Endpunkte zeigt sich keine Signifikanz für rs2285053.

Tabelle 8: Anzahl Ereignisse und Inzidenz/100 PY rs2287076

Variable	Anzahl der Ereignisse (rs2287076: hT* häufigeres Allel/ Heterozygote/hT selteneres Allel)	Inzidenz (rs2287076: hT* häufigeres Allel/ Heterozygote/hT selteneres Allel)	P
Kombinierter Endpunkt	204 (48/106/50)	8,11 (6,55/8,66/8,96)	0,126
Tod	112 (26/61/25)	4,46 (3,56/4,98/4,48)	0,305
Myokardinfarkt	97 (27/47/23)	3,86 (3,70/3,83/4,12)	0,921
Blutungsereignis	81 (30/34/17)	3,22 (4,11/2,77/3,04)	0,236

*hT: homozygoter Träger

In Tabelle 8 konnten keine signifikanten Zusammenhänge zwischen rs2287076 und den Endpunkten gefunden werden.

Tabelle 9: Anzahl Ereignisse und Inzidenz/100 PY rs243865

Variable	Anzahl der Ereignisse (rs243865: hT* häufigeres Allel/ Heterozygote/hT selteneres Allel)	Inzidenz (rs243865: hT* häufigeres Allel/ Heterozygote/hT selteneres Allel)	p
Kombinierter Endpunkt	200 (123/60/17)	8,00 (8,50/6,84/9,60)	0,195
Tod	108 (70/28/10)	4,32 (4,85/3,19/5,64)	0,089
Myokardinfarkt	97 (27/47/23)	3,88 (4,29/3,42/2,82)	0,400
Blutungsereignis	80 (63/14/3)	3,20 (4,36/1,59/1,69)	<0,001

*hT: homozygoter Träger

Für rs243865 konnten tendenziell erhöhte Ereignisse für den Endpunkt Tod analysiert werden. Die Ereignisanzahl lag bei 108 (homozygoter Träger des häufigeren Allels: 70 vs. Heterozygoter Träger: 28 vs. Homozygoter Träger des selteneren Allels: 10), für die Inzidenz waren es 4,32 (homozygoter Träger des häufigeren Allels: 4,85 vs. Heterozygoter Träger: 3,19 vs. Homozygoter Träger des selteneren Allels: 5,64), die Signifikanz liegt bei $p = 0,089$.

Für den Endpunkt Blutungsereignis konnte eine hohe Signifikanz ($p < 0,001$) festgestellt werden. Die Anzahl der Ereignisse lag bei 80 (homozygoter Träger des häufigeren Allels: 63 vs. Heterozygoter Träger: 14 vs. Homozygoter Träger des selteneren Allels: 3). Die Inzidenz lag bei 3,20 (homozygoter Träger des häufigeren Allels: 4,36 vs. Heterozygoter Träger: 1,59 vs. Homozygoter Träger des selteneren Allels: 1,69). Weitere Daten können den Abbildungen 14 und 16 entnommen werden.

Tabelle 10: Anzahl Ereignisse und Inzidenz/100 PY rs7201

Variable	Anzahl der Ereignisse (rs7201: hT* häufigeres Allel/ Heterozygote/hT selteneres Allel)	Inzidenz (rs7201: hT* häufigeres Allel/ Heterozygote/hT selteneres Allel)	P
Kombinierter Endpunkt	204 (52/99/53)	8,10 (8,09/7,81/8,70)	0,770
Tod	112 (28/58/26)	4,45 (4,38/4,58/4,26)	0,944
Myokardinfarkt	97 (28/44/25)	3,85 (4,38/3,47/4,10)	0,558
Blutungsereignis	81 (23/44/14)	3,22 (3,59/3,47/2,29)	0,305

*hT: homozygoter Träger

Es liegen keine Signifikanzen zwischen rs7201 und den Endpunkten vor.

5.3 Kaplan-Meier-Kurven

Abbildung 1-4:

Die Kaplan-Meier-Kurven zeigen das kumulative Überleben des kombinierten Endpunkts, Tod, MI und BL in Bezug auf den homozygoten Träger des häufigeren Allels, den homozygoten Träger des selteneren Allels, sowie den heterozygoten Träger des MMP2 rs2241145.

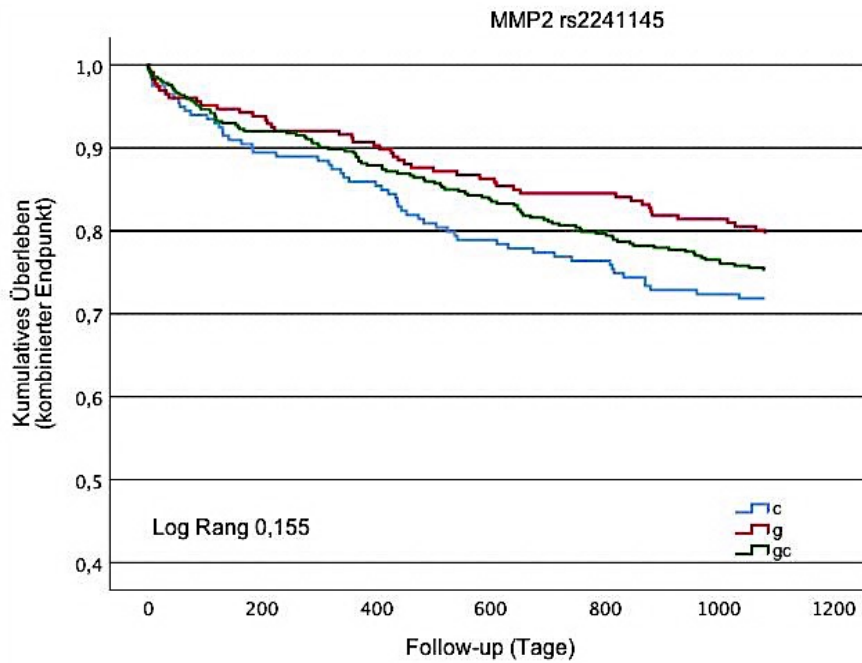
Rot= homozygoter Träger des häufigeren Allels

Blau= homozygoter Träger des selteneren Allels

Grün= heterozygoter Träger

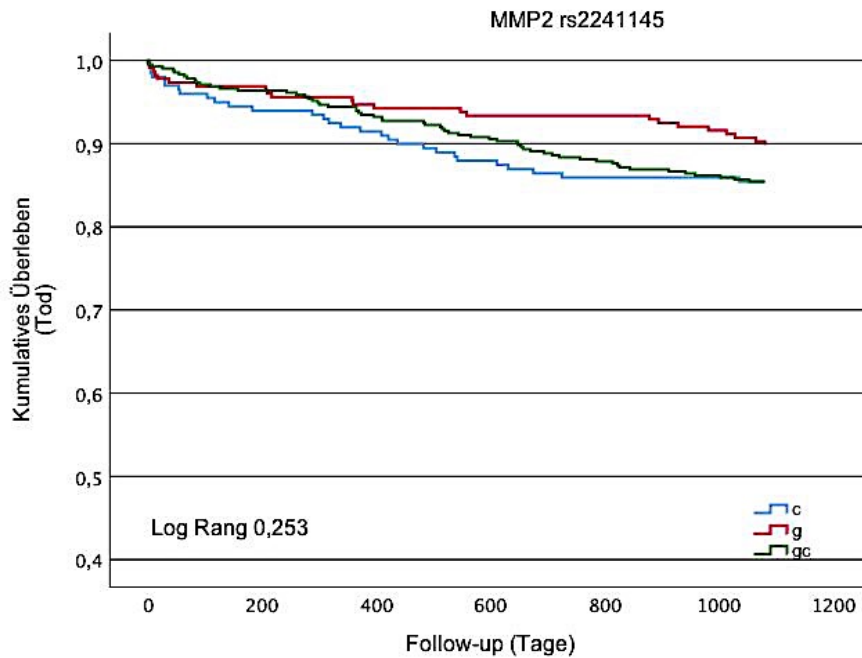
Numbers at risk im Anhang an jede Abbildung

Abbildung 1



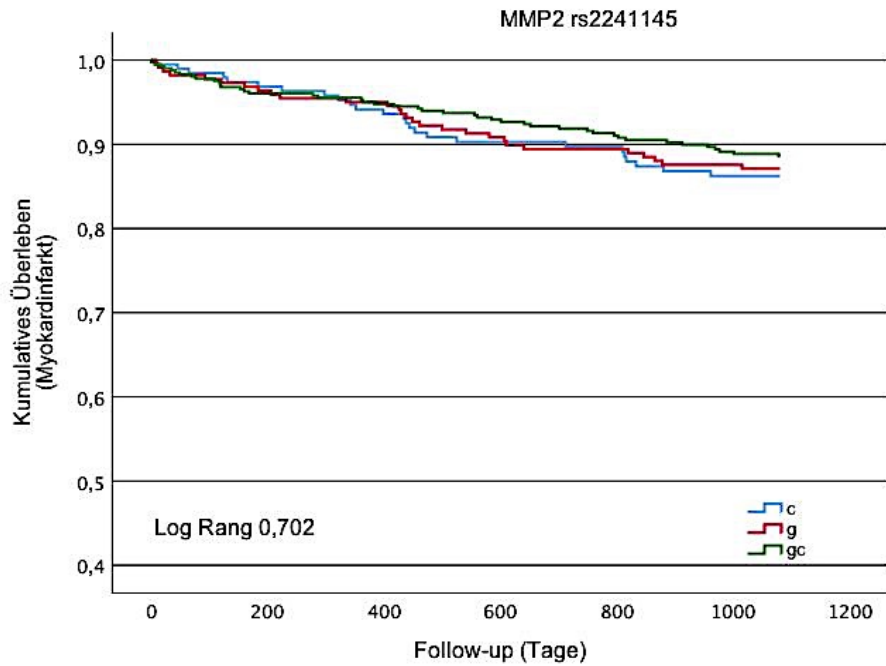
c	198	178	170	157	152	144
g	225	212	204	195	190	184
gc	412	380	363	346	329	316

Abbildung 2



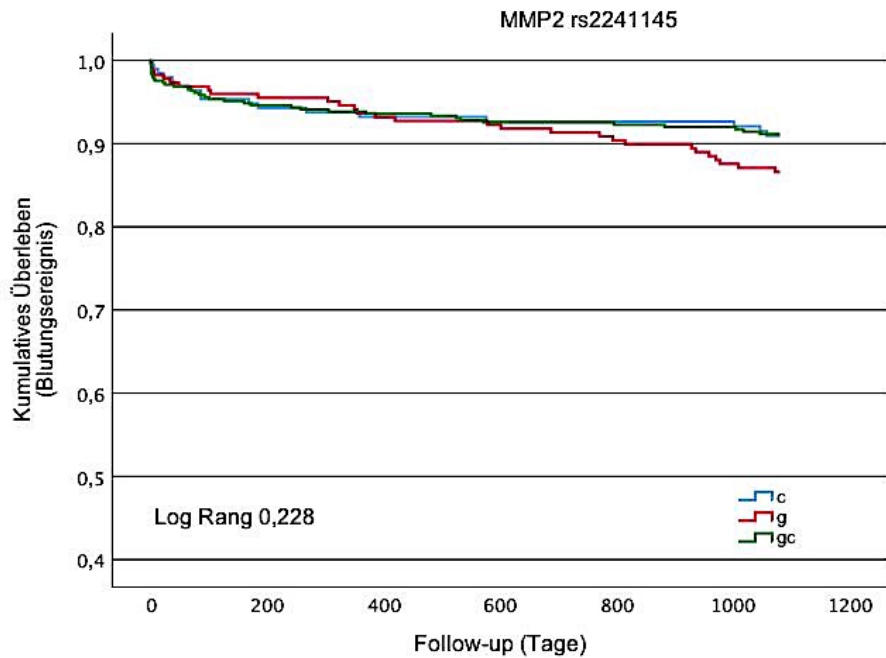
c	198	187	182	175	171	170
g	225	218	213	211	210	207
gc	412	397	384	373	362	355

Abbildung 3



c	198	181	172	159	155	149
g	225	212	204	195	192	187
gc	412	382	367	352	334	322

Abbildung 4



c	198	177	171	164	161	160
g	225	210	200	197	193	185
gc	412	377	361	347	339	332

Für den kombinierten Endpunkt zeigt der homozygote Träger des selteneren Allels eine erhöhte Anzahl an Events als der homozygote Träger des häufigeren Allels und der heterozygote Träger (Log Rang 0,155). Der homozygote Träger des häufigeren Allels zeigt für den Endpunkt Tod ein tendenziell besseres Überleben (Log Rang 0,253). Für die Blutungsereignisse ist eine erhöhte Anzahl an Events für den homozygoten Träger des häufigeren Allels festzustellen (Log Rang 0,228). Es liegen jedoch keine statistischen Signifikanzen vor.

Abbildung 5-9

Die Kaplan-Meier-Kurven zeigen das kumulative Überleben des kombinierten Endpunkts, Tod, MI und BL in Bezug auf den homozygoten Träger des häufigeren Allels, den homozygoten Träger des selteneren Allels, sowie den heterozygoten Träger des MMP2 rs2285053.

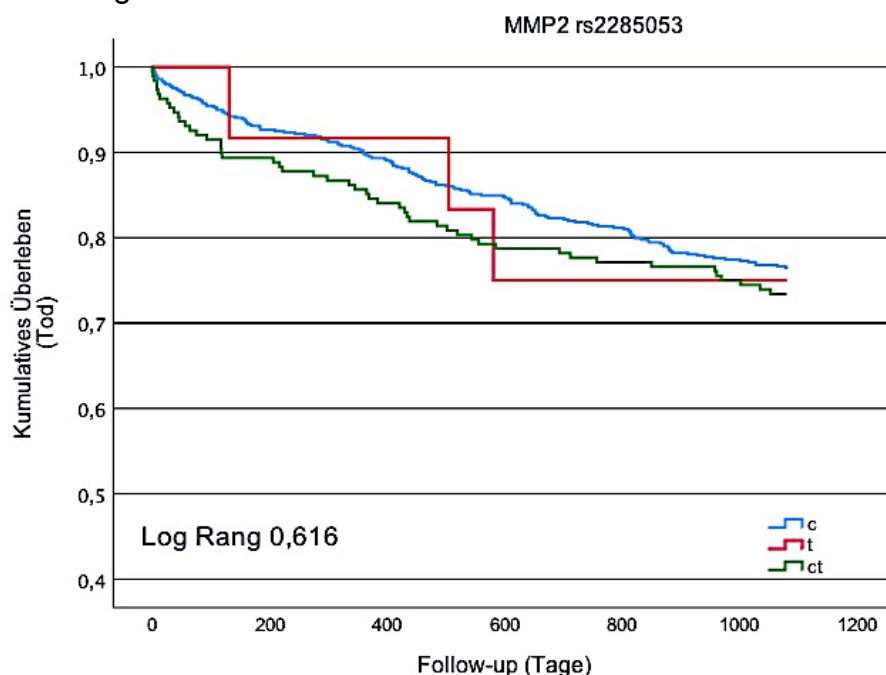
Blau= homozygoter Träger des häufigeren Allels

Rot= homozygoter Träger des selteneren Allels

Grün= heterozygoter Träger

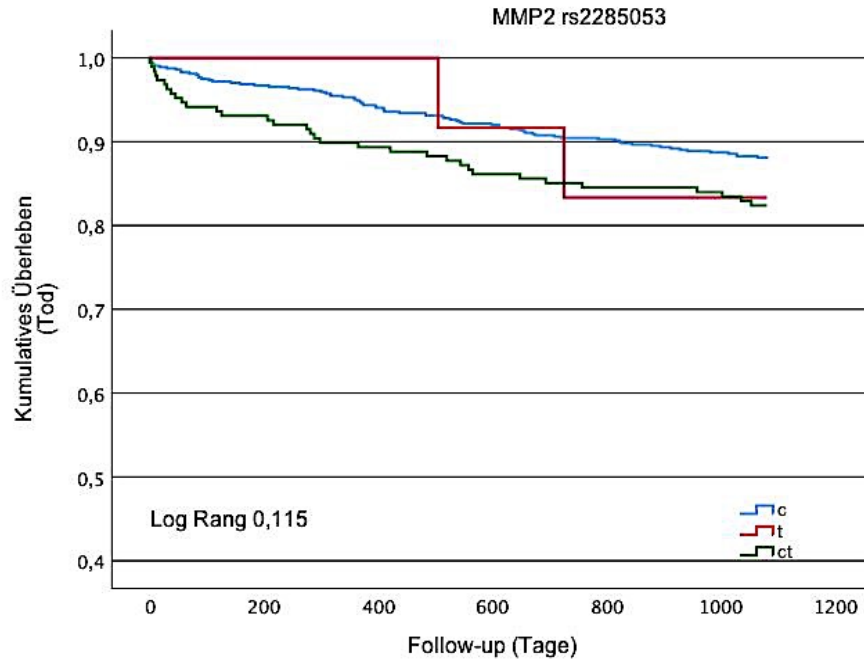
Numbers at risk im Anhang an jede Abbildung

Abbildung 5



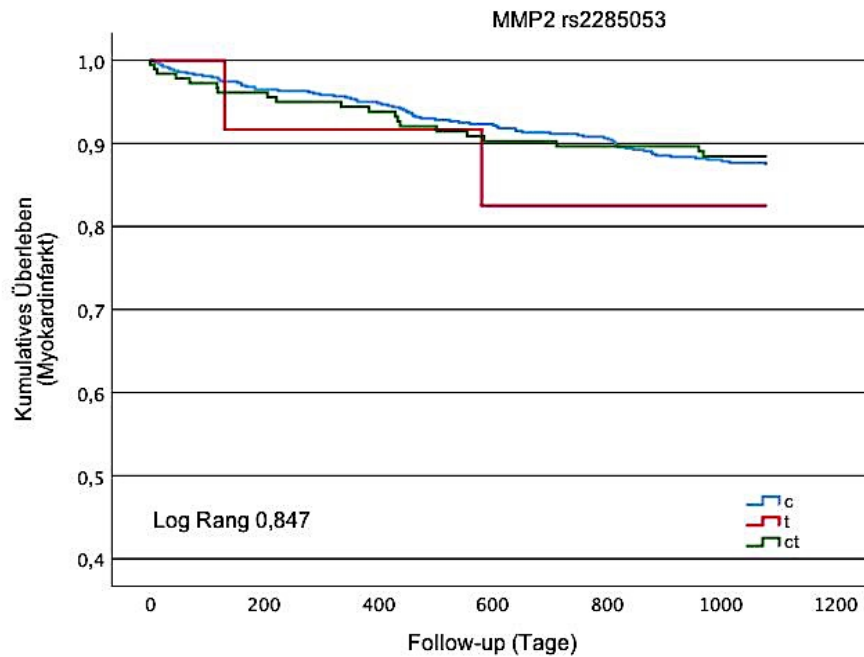
c	637	591	568	541	518	494
t	11	11	10	9	9	8
ct	187	168	158	148	145	141

Abbildung 6



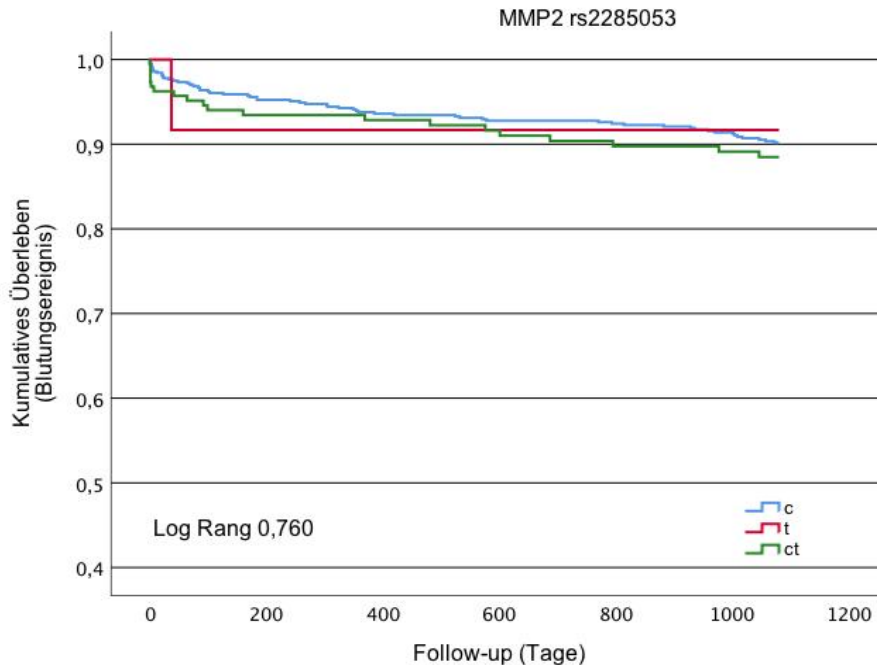
c	637	617	600	587	576	566
t	11	11	11	11	10	9
ct	187	174	167	161	158	157

Abbildung 7



c	637	595	572	546	525	505
t	11	11	10	9	9	8
ct	187	169	160	151	147	144

Abbildung 8



c	637	590	566	549	540	527
t	11	11	11	10	10	9
ct	187	163	155	148	143	141

Für den kombinierten Endpunkt zeigt der homozygote Träger des häufigeren Allels eine erhöhte Anzahl an Events (Log Rang 0,155). Für den Myokardinfarkt ist für den homozygoten Träger des selteneren Allels eine tendenziell schlechtere Ereignisfreiheit zu erkennen. Auch hier liegen statistisch keine Signifikanzen vor (Log Rang 0,847).

Abbildung 9-12

Die Kaplan-Meier-Kurven zeigen das kumulative Überleben des kombinierten Endpunkts, Tod, MI und BL in Bezug auf den homozygoten Träger des häufigeren Allels, den homozygoten Träger des selteneren Allels, sowie den heterozygoten Träger des MMP2 rs2287076.

Rot= homozygoter Träger des häufigeren Allels

Blau= homozygoter Träger des selteneren Allels

Grün= heterozygoter Träger

Numbers at risk im Anhang an jede Abbildung

Abbildung 9

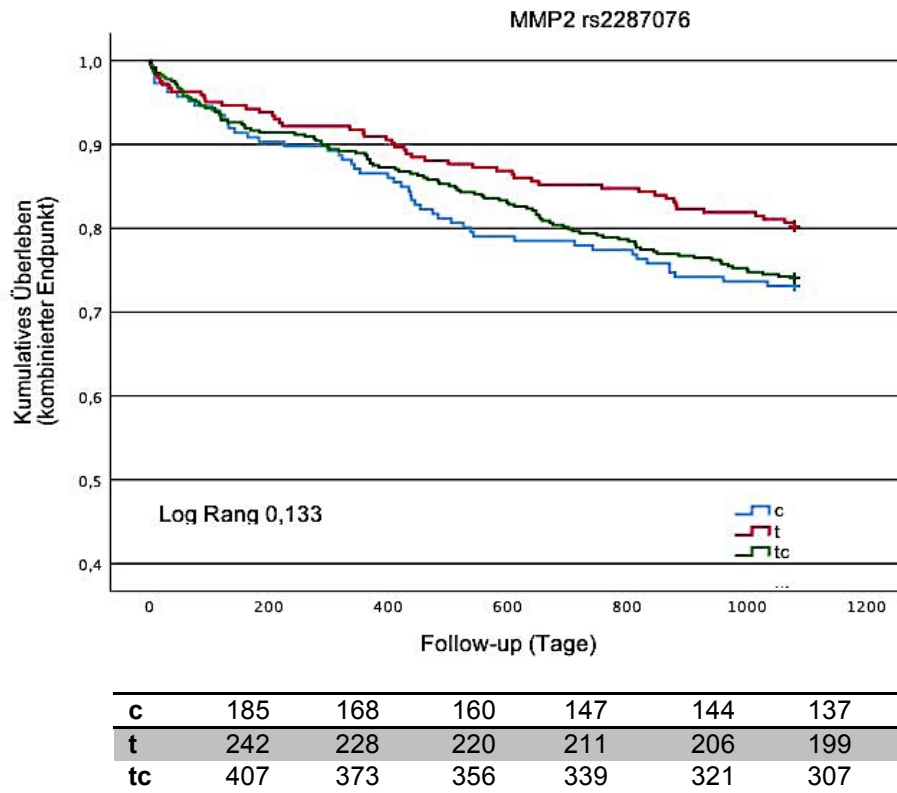
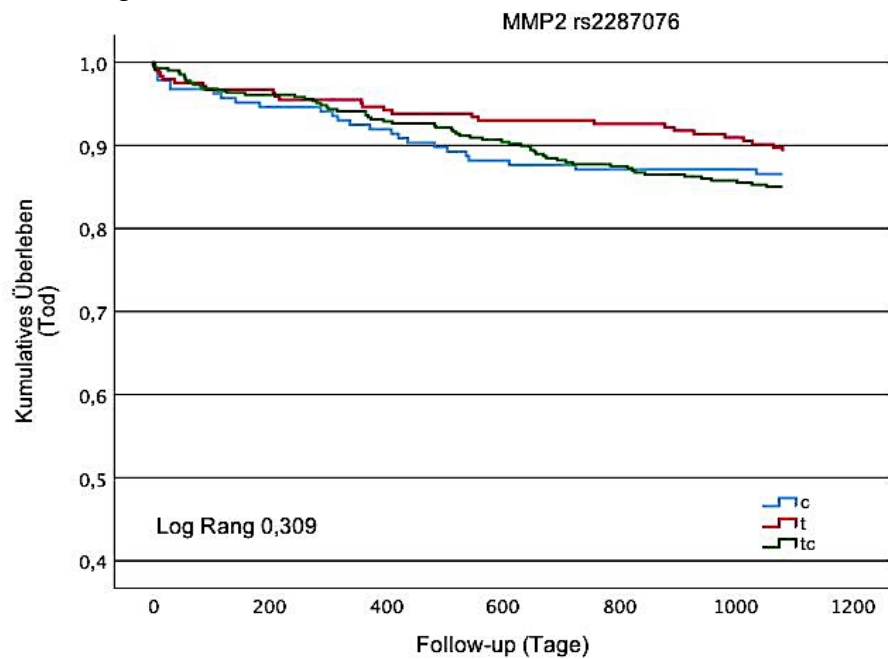
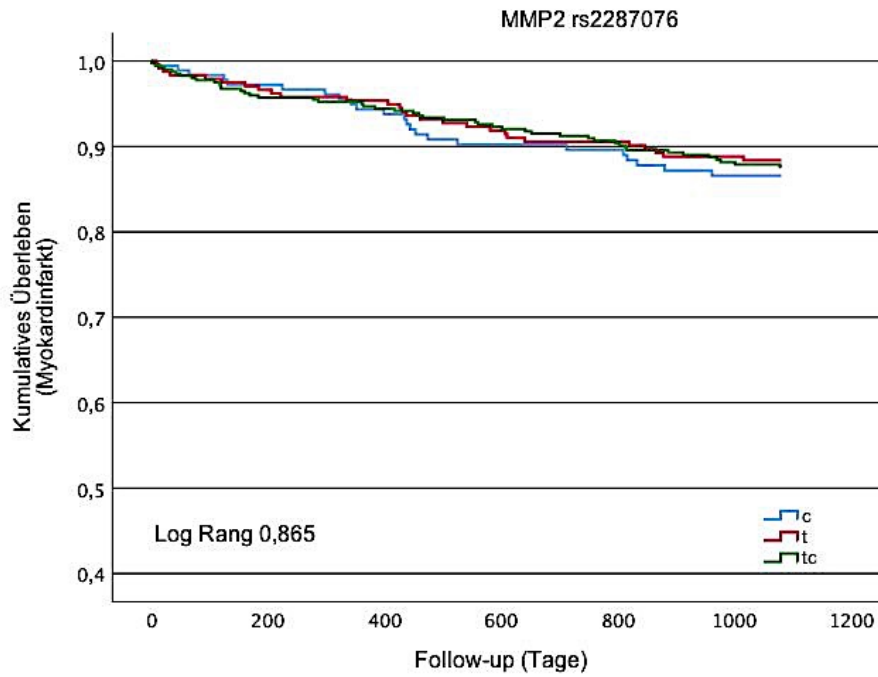


Abbildung 10



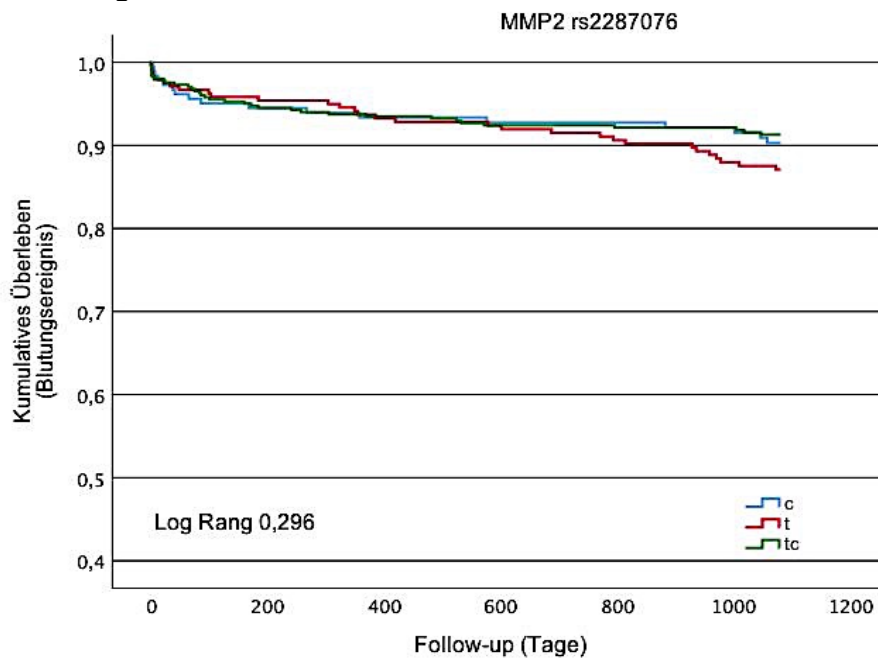
c	185	176	171	164	162	161
t	242	234	229	226	225	221
tc	407	391	378	368	356	349

Abbildung 11



c	185	171	162	149	146	142
t	242	228	220	211	207	202
tc	407	375	362	345	326	313

Abbildung 12



c	185	167	161	154	152	151
t	242	225	215	211	206	198
tc	407	371	355	342	334	328

Für den kombinierten Endpunkt, sowie für den Endpunkt Tod zeigt der homozygote Träger des häufigeren Allels des rs2287076 ein tendenziell besseres ereignisfreies Überleben als der homozygote Träger des selteneren Allels und der heterozygote Träger, jedoch ohne Signifikanz (Log Rang 0,133 bzw. Log Rang 0,309). Für Blutungsereignisse zeigt der homozygote Träger des häufigeren Allels ein eher schlechteres eventfreies Überleben. Auch hier liegt statistisch keine Signifikanz vor (Log Rang 0,296).

Abbildung 13-16

Die Kaplan-Meier-Kurven zeigen das kumulative Überleben des kombinierten Endpunkts, Tod, MI und BL in Bezug auf den homozygoten Träger des häufigeren Allels, den homozygoten Träger des selteneren Allels, sowie den heterozygoten Träger des MMP2 rs243865.

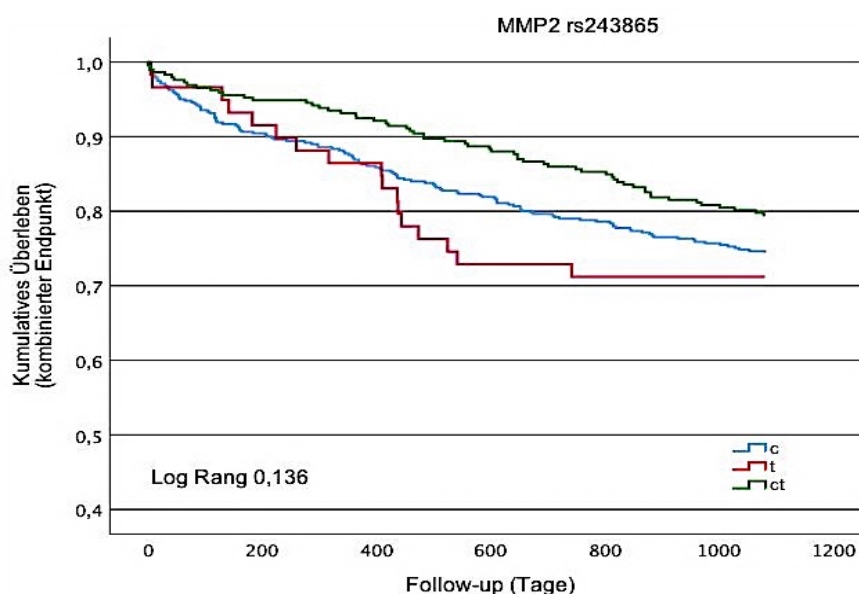
Blau= homozygoter Träger des häufigeren Allels

Rot= homozygoter Träger des selteneren Allels

Grün= heterozygoter Träger

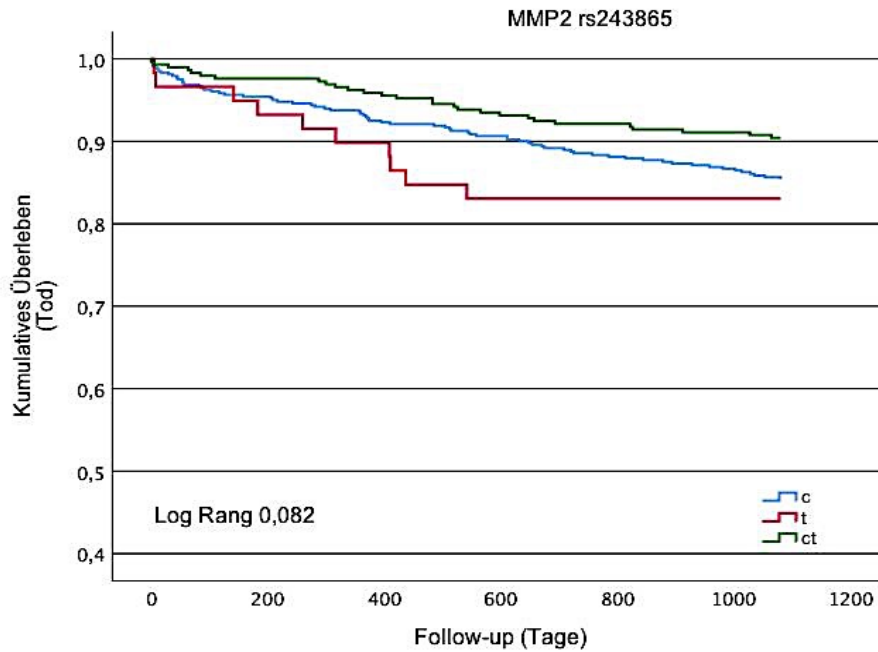
Numbers at risk im Anhang an jede Abbildung

Abbildung 13



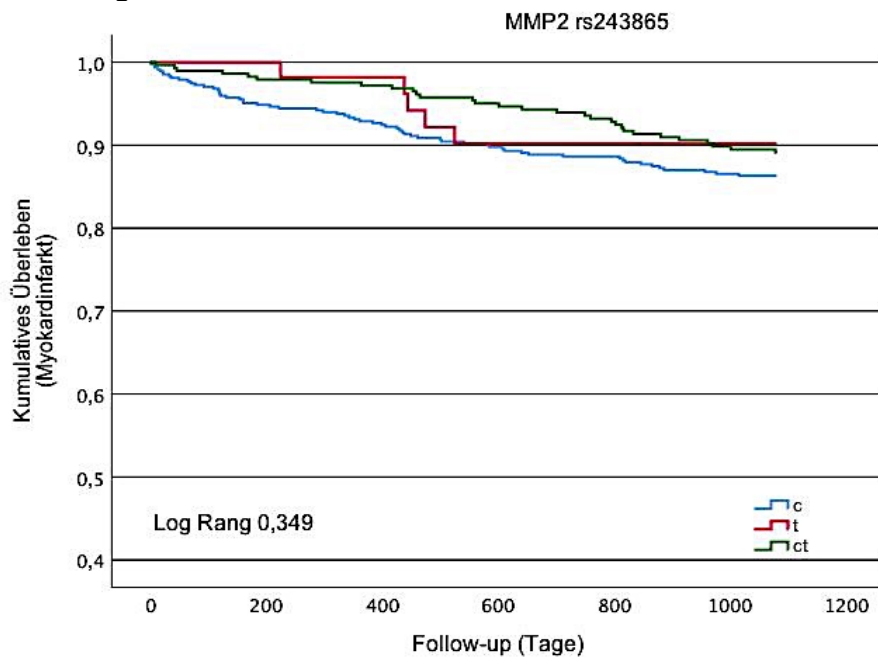
c	480	435	413	394	378	364
t	58	54	51	43	42	41
ct	291	277	269	258	249	236

Abbildung 14



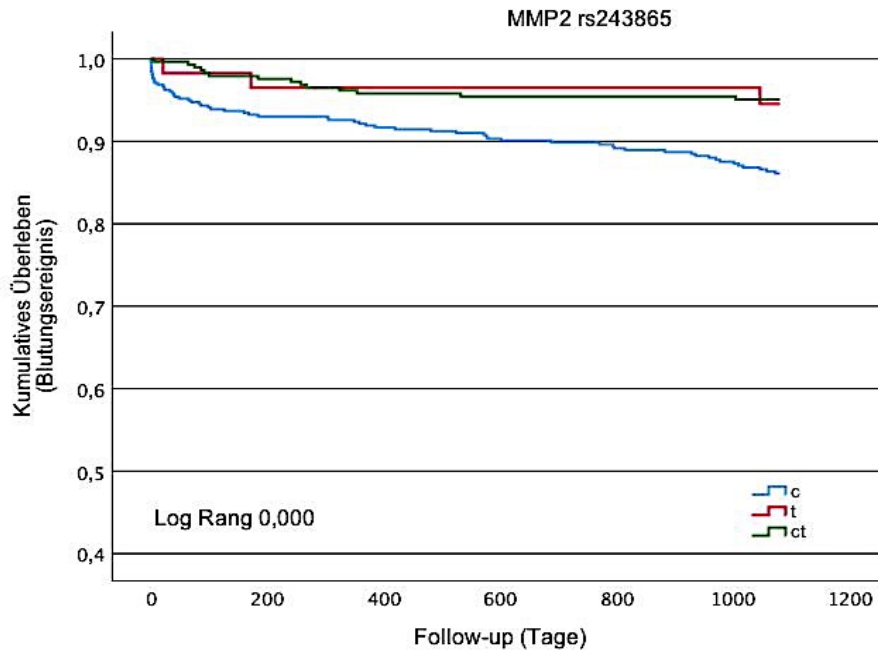
c	480	458	443	435	423	416
t	58	55	53	49	49	48
ct	291	285	279	272	269	266

Abbildung 15



c	480	436	416	399	383	370
t	58	55	52	44	44	43
ct	291	279	271	260	251	242

Abbildung 16



c	480	427	408	397	384	372
g	58	54	53	49	49	48
gc	291	279	268	260	258	255

rs243865 zeigt tendenziell erhöhte Events des homozygoten Trägers des selteneren Allels für den kombinierten Endpunkt, jedoch ohne Signifikanz (Log Rang 0,349).

Der homozygote Träger des häufigeren Allels und der heterozygote Träger zeigen ein besseres eventfreies Überleben für den Endpunkt Tod als der homozygote Träger des selteneren Allels (Log Rang 0,082).

Für die Blutungsereignisse zeigt der homozygote Träger des selteneren Allels und der heterozygote Träger des rs243865 ein signifikant besseres ereignisfreies Überleben als der homozygote Träger des häufigeren Allels ($p < 0,001$).

Abbildung 17-20

Die Kaplan-Meier-Kurven zeigen das kumulative Überleben des kombinierten Endpunkts, Tod, MI und BL in Bezug auf den homozygoten Träger des häufigeren Allels, den homozygoten Träger des selteneren Allels, sowie den heterozygoten Träger des MMP2 rs7201.

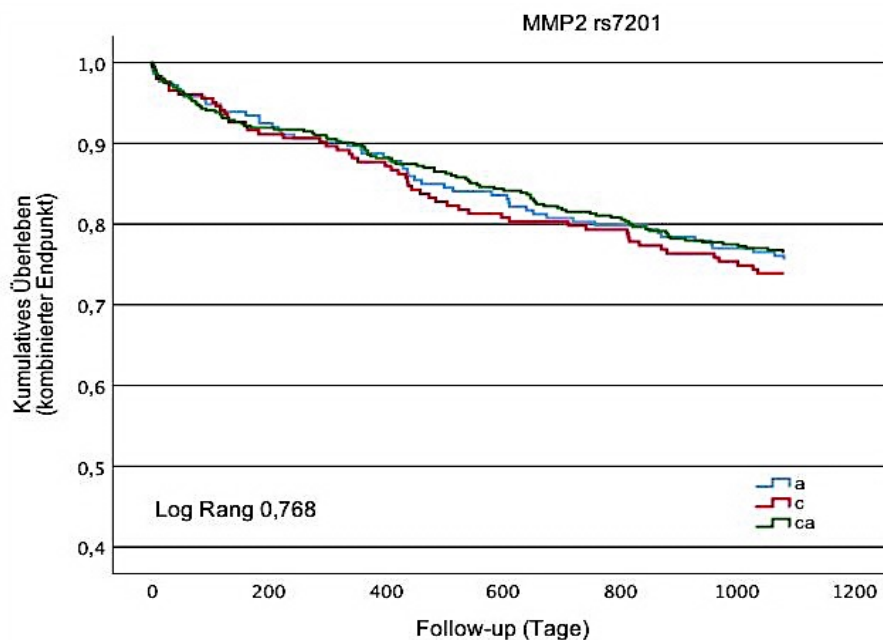
Blau= homozygoter Träger des häufigeren Allels

Rot= homozygoter Träger des selteneren Allels

Grün= heterozygoter Träger

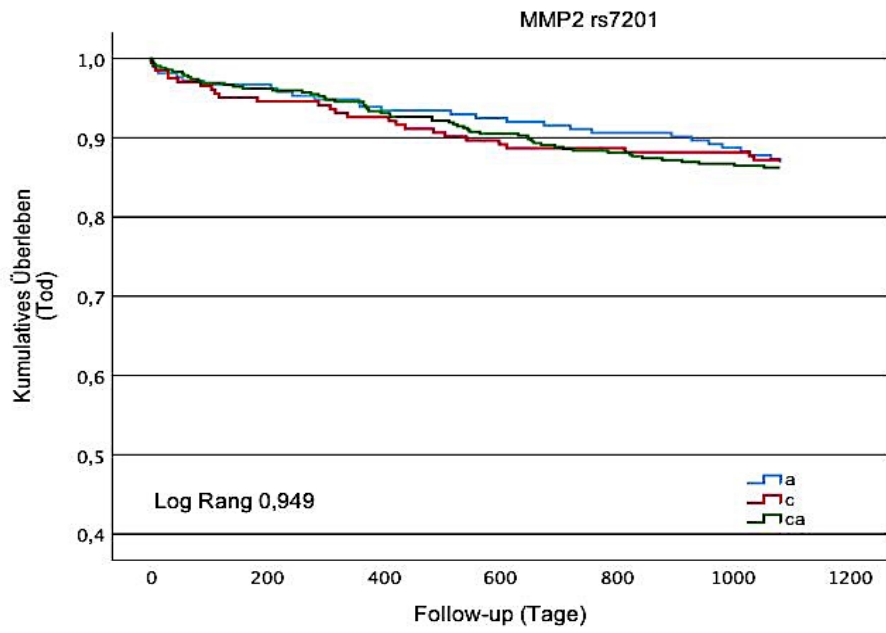
Numbers at risk im Anhang an jede Abbildung

Abbildung 17



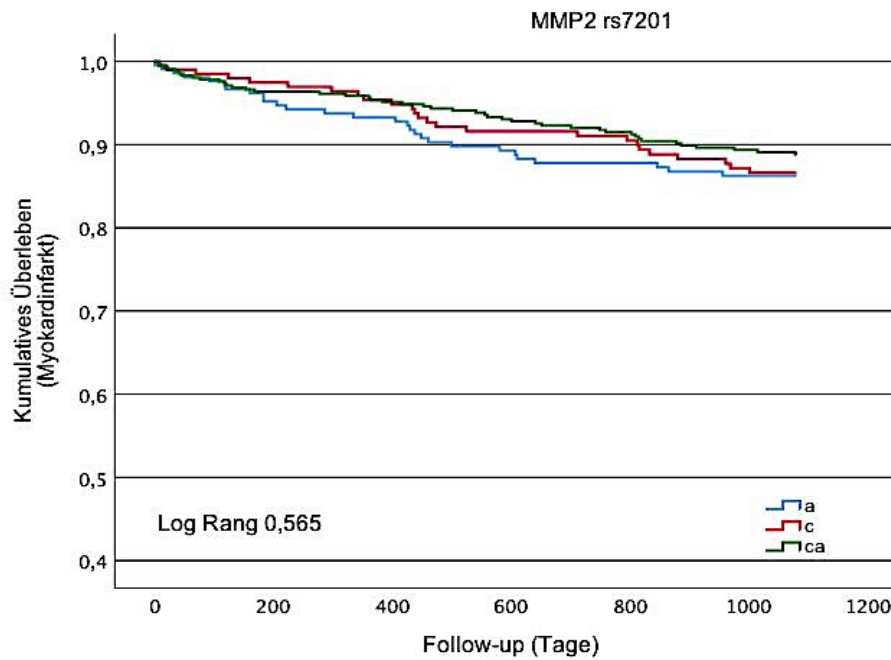
a	212	197	188	178	170	164
c	202	185	177	164	161	154
ca	421	388	372	356	341	327

Abbildung 18



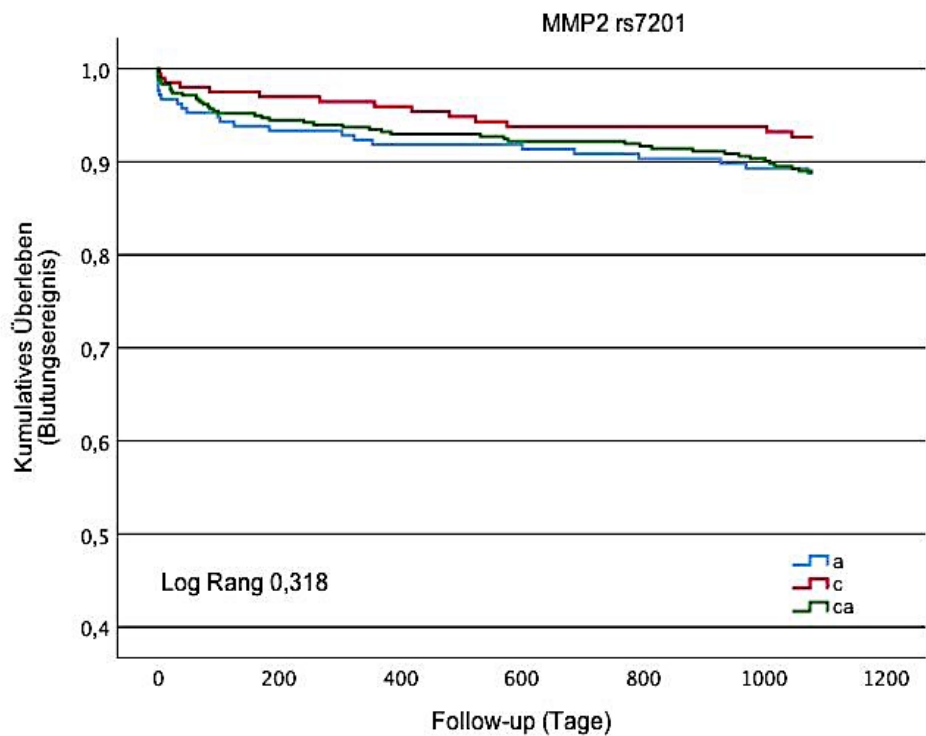
a	212	205	199	197	193	189
c	202	192	188	181	179	178
ca	421	405	392	381	371	365

Abbildung 19



a	212	197	188	179	172	166
c	202	187	179	167	164	157
ca	421	391	376	360	345	334

Abbildung 20



a	212	193	184	182	175	171
c	202	186	180	171	169	168
ca	421	379	184	182	175	171

In Abbildungen 17-20 liegen die Ereignisse der verschiedenen Gene sehr nah beieinander. Für den Endpunkt Blutung zeigt der homozygote Träger des selteneren Allels ein tendenziell besseres Überleben ohne Ereignisse (Log Rang 0,318).

5.4 Cox- Regression

Tabelle 6:

Cox-Regressionsanalyse als dominantes Genmodell für den Endpunkt Blutung (BL) als abhängige Variable, MMP2 rs243865 als unabhängige Variable. Die klinischen Faktoren sind Kovariablen.

	Hazard Ratio (BL) (95% Konfidenzintervall)	p
Klinische Faktoren		
Alter	1,013 (0,990-1,037)	0,279
Geschlecht	1,067 (0,630-1,807)	0,811
LVEF	1,128 (0,899-1,416)	0,297
Kardiovaskuläre Risikofaktoren		
Bluthochdruck	1,134 (0,559-2,302)	0,728
Diabetes mellitus	1,034 (0,630-1,698)	0,894
Hyperlipoproteinämie	1,193 (0,718-1,983)	0,495
Rauchen	0,908 (0,545-1,513)	0,712
Medikation		
Aspirin	0,992 (0,544-1,809)	0,980
ACE-Hemmer	1,347 (0,733-2,475)	0,338
AT1-Antagonisten	1,298 (0,646-2,609)	0,464
Statine	1,224 (0,687-2,183)	0,493
Beta-Blocker	0,597 (0,342-1,040)	0,078
Ca-Kanal-Blocker	0,844 (0,475-1,498)	0,562
Orale Antikoagulation	1,665 (0,785-3,530)	0,184
Aufnahmegrund	0,951 (0,694-1,303)	0,754
MMP2 rs243865 (dominantes Genmodell)	0,401 (0,232-0,691)	<0,001

Die Cox-Regressionsanalyse für rs243865 zeigt einen Zusammenhang zwischen dem Blutungsereignis und der Einnahme von Beta-Blockern, welcher statistisch jedoch nicht signifikant ist. (Hazard Ratio (HR) 0,597) (95% Konfidenzintervall 0,342- 1,040, $p= 0,078$).

Für das dominante Genmodell, bei welchem für rs243865 der homozygote Träger des selteneren Allels und der heterozygote Träger dem homozygoten Träger des häufigeren Allels gegenübergestellt wurde, konnte für das Blutungsereignis ein signifikanter Zusammenhang hergestellt werden (Hazard Ratio (HR) 0,401 (95% Konfidenzintervall 0,232- 0,691, $p<0,001$).

Die anderen Kovariablen wie klinische Faktoren, Medikation und kardiovaskuläre Risikofaktoren haben keinen signifikanten statistischen Einfluss gezeigt.

6. Diskussion

Die Kernaussage dieser Arbeit ist der signifikante Zusammenhang zwischen dem MMP2-Polymorphismus rs243865 und den Blutungsereignissen bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen nach einem Follow-up über 3 Jahre.

MMP2 sind die wichtigsten Mediatoren für den Umbau der Extrazellulärmatrix. Dieser Prozess ist unter normalen Umständen streng durch die Balance zwischen MMP2 und den TIMPs als ihren Gegenspielern reguliert. Normalerweise wird nur eine geringe Menge an MMP2 ausgeschüttet. Kommt ein zusätzliches Signal, wie z.B. eine Gewebeverletzung oder Wachstumsfaktoren hinzu, erhöht sich das MMP2-Level. Oft geht dies mit einem erniedrigten TIMP-Level einher. Dieses Ungleichgewicht führt zu stark erhöhtem Gewebeumsatz und Fortschreiten der Erkrankung.¹⁵³

MMP2 ist in allen Zellen des Herzens zu finden, demnach auch in Kardiomyozyten.¹⁵⁴ Sie haben einen großen Effekt auf die Regulationsfunktion der Zellen, wie dem Gefäßtonus, der Plättchenaggregation¹⁵⁵ und auf die Vermittlung der akuten mechanischen Dysfunktion des Herzens unmittelbar nach Ischämie und Reperfusion.¹⁵⁶

Matsunga et al. konnten feststellen, dass das Level von zirkulierendem MMP2 zwei Wochen nach STEMI mit der Zunahme der Remodellierung des linken Ventrikels in Zusammenhang steht.¹⁵⁷

Nilsson et al. gelangen zu einer gegensätzlichen Erkenntnis. Bei Patienten mit STEMI demonstrierten sie den Zusammenhang zwischen dem Level an zirkulierendem MMP2 kurz vor der Reperfusion mit der Infarktstärke und der linksventrikulären Dysfunktion, wobei die Höhe des Plasmalevels mit der Infarktgröße und der Verschlechterung des linksventrikulären Funktion korreliert.¹⁵⁸

Niu et al. konnten in ihrer Studie einen Zusammenhang zwischen den MMP2-

Polymorphismen und dem ischämischen Schlaganfall in der chinesischen Population demonstrieren.¹⁵⁹ Auch Manso et al. belegten in ihrer Studie den Zusammenhang zwischen MMP2-Polymorphismen und der Prognose nach einem Schlaganfall in der portugiesischen Bevölkerung.¹⁶⁰

Zhao et al. demonstrierten, dass bei Patienten mit Herzfehler das Periostin eine erhöhte Kollagen-Fibrogenese auslöst, welche in Zusammenhang steht mit einer vier Mal höheren MMP2- Expression als bei der Kontrollgruppe.¹⁶¹

Einige Studien zeigen also bereits den Zusammenhang zwischen den MMP2-Polymorphismen und der Prognose bei Herzerkrankungen. Dennoch sind die genauen Sachverhalte noch umstritten. Wir konnten mit unserer Studie den signifikanten Zusammenhang zwischen dem MMP2-Polymorphismus rs243865 und Blutungsereignissen zeigen. Dabei zeigte der homozygote Träger des selteneren Allels und Heterozygote signifikant weniger Blutungsereignisse als die homozygoten Träger des häufigeren Allels.

Auch die Ereignisraten für den Endpunkt Tod waren erhöht. Im Gegensatz zu den homozygoten Trägern des häufigeren Allels und den heterozygoten Trägern war die Inzidenz bei den homozygoten Trägern des selteneren Allels tendenziell erhöht, stellte sich statistisch jedoch als nicht signifikant dar.

Für den kombinierten Endpunkt konnten keine Signifikanzen gezeigt werden. Auch Shi et al. konnten in ihrer Studie den Zusammenhang zwischen den MMP2-Polymorphismen und der Prognose bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung nicht belegen.¹⁶²

Die Vorläuferstudie, welche die gleichen Patientendaten nach einem Ein-Jahres- Follow-up untersuchte, konnte einen signifikanten Zusammenhang zwischen den MMP2-Polymorphismen und der Gesamtmortalität bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen liefern. In dieser Studie konnte nach einem 3-Jahres-Follow-up diesbezüglich keine Signifikanz nachgewiesen werden. Die Gründe hierfür sind spekulativ und könnten mit der Akuttherapie nach PCI, im engeren Sinne der dualen antithrombozytären Therapie, welche bis zu einem Jahr nach Koronarintervention verabreicht wird, zusammenhängen.

Matsumura et al. zeigten, dass das von MMP2 fragmentierte Laminin die Migration von Makrophagen in die entzündeten Bereiche hemmt, was aus einer verspäteten Wundheilung nach einem Infarkt resultiert.¹⁶³

Mehrere Studien konnten bereits belegen, dass nach einem Myokardinfarkt das MMP2-Level im Infarktbereich sowie auch im Plasma aufgrund der Stimulation der Kardiomyozyten steigt.^{164,165,166}

Der Polymorphismus MMP2 rs243865 konnte bei Patienten mit Myokardinfarkt in einer mexikanischen Studie mit dem doppelten Anstieg der Aktivität in der Promoterregion in Verbindung gebracht werden, was zu einer Erhöhung der MMP2-Expression führt. In der lateinamerikanischen Bevölkerung konnte der Polymorphismus mit einem erhöhten Risiko für Myokardinfarkt und 3-Gefäß-KHK in Verbindung gebracht werden.¹⁶⁷

In Bezug auf den Myokardinfarkt konnte unsere Studie keine signifikanten Zusammenhänge zu den Polymorphismen liefern und die bisherigen Studienergebnisse somit nicht stärken.

In vorherigen Studien wurde der Polymorphismus des MMP2 rs243865 mit Prostatakrebs in Verbindung gebracht.¹⁶⁸ Zudem soll er eine protektive Rolle bei malignen Pleuramesotheliomen spielen.¹⁶⁹ Yan Cui et al. konnten ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung eines Osteosarkoms bei der chinesischen Bevölkerung belegen.¹⁷⁰

Es wurden erhöhte MMP2-Expressionen in arteriosklerotischen Plaques entdeckt. Außerdem scheint eine erhöhte MMP2-Aktivität die Arteriosklerose, die Plaque-Destabilisierung sowie die Plättchenaggregation zu erleichtern.^{171,172}

Sawicki et al. konnten zeigen, dass MMP2 von Thrombozyten exprimiert wird und dass es die ADP- und Thromboxan-unabhängige Aggregation während der Aktivierung veranlasst. Dabei vermittelt die Translokation des MMP2 vom Zytosol in den Extrazellulärraum durch Interaktion mit der Oberflächenmembran des Thrombozyten die Aggregation.¹⁷³

Auch eine weitere Studie konnte den Zusammenhang zwischen MMP2 und Thrombozytenaktivierung- und Aggregation belegen. Choi et al. führten diesen

Mechanismus auf die Interaktion von MMP2 mit Integrin alpha(IIb)beta(3) zurück, da die Hemopexin-bindende Domäne des MMP2 eine essentielle Bindung für Integrin alpha(IIb)beta(3) darstellt.¹⁷⁴

Liegt nun ein Polymorphismus im MMP2-Gen vor, könnte dies zu einer verzögerten Aktivierung der Thrombozyten führen und somit die Aggregation hemmen. Unsere Ergebnisse für den SNP MMP2 rs243865 in Bezug auf die Blutungsereignisse könnten diese Hypothese stützen.

Da unser Follow-up über einen Zeitraum von 3 Jahren stattfand, geben unsere Daten einen ganz neuen Hinweis auf den Verlauf der Ereignisse bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung.

Für die Prognose des MMP2 rs243865 im dominanten Genmodell als Gegenüberstellung des homozygoten Trägers des selteneren Allels und dem heterozygoten Träger gegenüber dem homozygoten Träger des häufigeren Allels konnte eine deutliche Signifikanz für die Blutungsereignisse demonstriert werden.

In der Cox-Regressionsanalyse konnte kein Zusammenhang mit der Prognose für die Ko-Faktoren wie die klinischen Faktoren, die Medikation und die kardiovaskulären Risikofaktoren gefunden werden. Die Erklärung könnte in einem relativ heterogenen Patientenkollektiv sowie der moderaten Fallzahl liegen.

Um die Ergebnisse hinreichend beurteilen zu können, sind einige Einschränkungen der Studie zu erwähnen.

Die Arbeit weist Limitationen aufgrund der Verluste im Follow-up und der moderaten Fallzahl auf. Zudem beruht unsere Studie auf Beobachtungen und Datenerhebungen, welche Fehlerquellen beinhalten können.

Unsere Daten wurden hauptsächlich von kaukasischen Probanden entnommen. Somit können die Ergebnisse nicht auf andere ethnische Gruppen übertragen werden.

Zusammengefasst zeigt die aktuelle Arbeit über einen Zeitraum von drei Jahren einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Polymorphismus

MMP2 rs243865 und Blutungsereignissen bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen. In unserer Studie wird deutlich, dass die verschiedenen genetischen Varianten der MMP2-Polymorphismen unterschiedlich mit der Prognose assoziiert sind.

Genetische Polymorphismen, wie MMP2 könnten die Risikostratifizierung für Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen erleichtern. Dadurch wäre es möglich, die Therapie zum Beispiel mit Thrombozytenaggregationshemmern bei Patienten mit hohem Blutungsrisiko anzupassen.

7. Zusammenfassung

In einer vorhergehenden Studie mit einem Follow-up nach einem Jahr konnten wir einen Zusammenhang zwischen den MMP2-Polymorphismen und der Prognose bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung belegen. In dieser Langzeit-Studie sollen nun die längerfristigen Zusammenhänge nach einem 3-Jahres-Follow-up untersucht werden.

Es wurden 943 Patienten in die Studie aufgenommen und auf die verschiedenen MMP2-Polymorphismen untersucht. Die Kohorte wurde für drei Jahre auf die verschiedenen Endpunkte (Myokardinfarkt, Blutungsereignis und Tod) nachverfolgt.

Der primäre kombinierte Endpunkt bestand dabei aus dem Erstauftreten von entweder Tod und/oder Myokardinfarkt und/oder Blutung. Die sekundären Endpunkte waren definiert als die einzelnen Events von Tod, Myokardinfarkt oder Blutung.

Für die Blutungsereignisse konnte eine Signifikanz festgestellt werden ($p < 0,001$). Dabei zeigten der homozygote Träger des rs243865 des selteneren Allels und der heterozygote Träger signifikant bessere Überlebenschancen ohne Ereignisse als der homozygote Träger des häufigeren Allels.

Auch für den Endpunkt Tod konnte eine tendenziell schlechtere Prognose gezeigt werden ($p = 0,089$). Der homozygote Träger des häufigeren Allels und der heterozygote Träger zeigen ein besseres eventfreies Überleben als der homozygote Träger des selteneren Allels.

Unsere Studie zeigt, dass der Polymorphismus des MMP2 rs243865 in signifikantem Zusammenhang mit dem Blutungsereignis steht. Die Ergebnisse dieser Studie können zukünftig dazu dienen, Patientenkollektive mit symptomatischer KHK und hohem Blutungsrisiko zu identifizieren um ggf. die antithrombozytäre Therapie nach Koronarstentimplantation in Stärke und Dauer anzupassen.

8. Literaturverzeichnis

1. Vosteen K-H. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF). *Unfallchirurgie* 1992;**18**:55–56.
2. Khera AV, Emdin CA, Drake I, Natarajan P, Bick AG, Cook NR, Chasman DI, Baber U, Mehran R, Rader DJ, Fuster V, Boerwinkle E, Melander O, Orho-Melander M, Ridker PM, Kathiresan S. Genetic Risk, Adherence to a Healthy Lifestyle, and Coronary Disease. *N Engl J Med* 2016;**375**:2349–2358.
3. Gertler MM, Garn SM, White PD. Young candidates for coronary heart disease. *J Am Med Assoc* 1951;**147**:621–625.
4. Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, Faire U de. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1994;**330**:1041–1046.
5. Zdravkovic S, Wienke A, Pedersen NL, Marenberg ME, Yashin AI, De Faire U. Heritability of death from coronary heart disease: a 36-year follow-up of 20 966 Swedish twins. *J Intern Med* 2002;**252**:247–254.
6. Won H-H, Natarajan P, Dobbyn A, Jordan DM, Roussos P, Lage K, Raychaudhuri S, Stahl E, Do R. Disproportionate Contributions of Select Genomic Compartments and Cell Types to Genetic Risk for Coronary Artery Disease. *PLoS Genet* 2015;**11**:e1005622.
7. Gößwald A, Schienkiewitz A, Nowossadeck E, Busch MA. [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* 2013;**56**:650–655.
8. Thompson RC, Allam AH, Lombardi GP, Wann LS, Sutherland ML, Sutherland JD, Soliman MA-T, Frohlich B, Mininberg DT, Monge JM, Vallodolid CM, Cox SL, Abd el-Maksoud G, Badr I, Miyamoto MI, Nur el-Din A el-Halim, Narula J, Finch CE, Thomas GS. Atherosclerosis across 4000 years of human history: the Horus study of four ancient populations. *Lancet* 2013;**381**:1211–1222.
9. Medicine in Ancient Egypt 2. <http://www.arabworldbooks.com/articles8b.htm> (11 December 2018)
10. Albinali HH. Chairman's Reflections Part 15. *Heart Views* 2003;**4**:10.
11. Sternbach GL, Varon J, Fromm RE, Sicuro M, Baskett PJF. Galen and the origins of artificial ventilation, the arteries and the pulse. *Resuscitation* 2001;**49**:119–122.
12. Silverman ME. William Harvey and the discovery of the circulation of blood. *Clin Cardiol* 1985;**8**:244–246.
13. Slijkhuis W, Mali W, Appelman Y. A historical perspective towards a non-invasive treatment for patients with atherosclerosis. *Neth Heart J* 2009;**17**:140–144.
14. Davies MK, Eollman A. Leonardo da Vinci (1452-1519). *Heart* 1996;**76**:464.
15. Clayton M. Leonardo da Vinci: The Mechanics of Man. :162.
16. Tellingan C van. Chest pain and angina pectoris - or the ugly swan and the beautiful duckling. *Neth Heart J* 2010;**18**:561–564.

17. Leary T. Atherosclerosis, the important form of arteriosclerosis, a metabolic disease. Eleventh Ludvig Hektoen lecture of the Frank Billings Foundation of the Institute of Medicine of Chicago. *J Am Med Assoc.* 1935;105:475–81.
18. Mayerl C, Lukasser M, Sedivy R, Niederegger H, Seiler R, Wick G. Atherosclerosis research from past to present—on the track of two pathologists with opposing views, Carl von Rokitansky and Rudolf Virchow. *Virchows Arch* 2006;**449**:96–103.
19. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;**340**:115–126.
20. McWilliam JA. Cardiac Failure and Sudden Death. *Br Med J* 1889;**1**:6–8.
21. Hektoen L. Embolism of the left coronary artery; sudden death. *Med Newsl (Lond)* 1892;61:210-210.
22. Herrick JB. THROMBOSIS OF THE CORONARY ARTERIES. *JAMA* 1919;**72**:387–390.
23. Mueller RL, Sanborn TA. The history of interventional cardiology: Cardiac catheterization, angioplasty, and related interventions. *American Heart Journal* 1995;**129**:146–172.
24. Forssmann W. Die Sondierung des Rechten Herzens. *Klin Wochenschr* 1929;**8**:2085–2087.
25. Sones FM, Shirey EK. Cine coronary arteriography. *Mod Concepts Cardiovasc Dis* 1962;**31**:735–738.
26. Grüntzig AR, Senning Å, Siegenthaler WE. Nonoperative Dilatation of Coronary-Artery Stenosis. *New England Journal of Medicine* 1979;**301**:61–68.
27. Serruys Patrick W., Degertekin Muzaffer, Tanabe Kengo, Abizaid Alexandre, Sousa J. Edouardo, Colombo Antonio, Guagliumi Giulio, Wijns William, Lindeboom Wietze K., Ligthart Jurgen, de Feyter Pim J., Morice Marie-Claude. Intravascular Ultrasound Findings in the Multicenter, Randomized, Double-Blind RAVEL (RANdomized study with the sirolimus-eluting VELOCITY balloon-expandable stent in the treatment of patients with de novo native coronary artery Lesions) Trial. *Circulation* 2002;**106**:798–803.
28. Effectiveness of intravenous thrombolytic treatment in acute myocardial infarction. Gruppo Italiano per lo Studio della Streptochinasi nell'Infarto Miocardico (GISSI). *Lancet* 1986;**1**:397–402.
29. Anonymous. Randomized Trial of Intravenous Streptokinase, Oral Aspirin, Both, or Neither Among 17187 Cases of Suspected Acute Myocardial-Infarction - Isis-2. *Lancet* 1988;**2**:349–360.
30. Moss AJ, Zareba W, Hall WJ, Klein H, Wilber DJ, Cannom DS, Daubert JP, Higgins SL, Brown MW, Andrews ML. Prophylactic Implantation of a Defibrillator in Patients with Myocardial Infarction and Reduced Ejection Fraction. *New England Journal of Medicine* 2002;**346**:877–883.
31. Burkhardt J. David, Wilkoff Bruce L. Interventional Electrophysiology and Cardiac Resynchronization Therapy. *Circulation* 2007;**115**:2208–2220.
32. Slaughter MS, Rogers JG, Milano CA, Russell SD, Conte JV, Feldman D, Sun B, Tatooles AJ, Delgado RM, Long JW, Wozniak TC, Ghumman W, Farrar DJ, Frazier OH. Advanced Heart Failure Treated with Continuous-Flow Left Ventricular Assist Device. *New England Journal of Medicine* 2009;**361**:2241–2251.

33. Baenkler. Kurzlehrbuch Innere Medizin. Stuttgart, New York : Thieme Verlag, 2007.
34. Langer H, Gawaz M. [The role of platelets for the pathophysiology of acute coronary syndromes]. *Hamostaseologie* 2006;**26**:114–118.
35. Lindemann S, Krämer B, Seizer P, Gawaz M. Platelets, inflammation and atherosclerosis. *J Thromb Haemost* 2007;**5 Suppl 1**:203–211.
36. Sami S, Willerson JT. Contemporary Treatment of Unstable Angina and Non-ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction (Part 1). *Tex Heart Inst J* 2010;**37**:141–148.
37. GmbH A-MDA. Aktuelle Therapie des Herzinfarkts. Pharmazeutische Zeitung online. <https://www.pharmazeutische-zeitung.de/ausgabe-202006/aktuelle-therapie-des-herzinfarkts/> (28 March 2019)
38. ESC-Leitlinie 2019 zum chronischen Koronarsyndrom (CCS, vormals „stabile KHK“). springermedizin.de. <https://www.springermedizin.de/akutes-koronarsyndrom/esc-leitlinie-2019-zum-chronischen-koronarsyndrom-ccs-vormals-st/17373832> (7 March 2020)
39. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: The Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal* 2013;**34**:2949–3003.
40. Amsterdam EA, Wenger NK, Brindis RG, Casey DE, Ganiats TG, Holmes DR, Jaffe AS, Jneid H, Kelly RF, Kontos MC, Levine GN, Liebson PR, Mukherjee D, Peterson ED, Sabatine MS, Smalling RW, Zieman SJ, ACC/AHA Task Force Members. 2014 AHA/ACC guideline for the management of patients with non-ST-elevation acute coronary syndromes: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation* 2014;**130**:e344-426.
41. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: The Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal* 2013;**34**:2949–3003.
42. Roffi M, Patrono C, Collet J-P, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, Bax JJ, Borger MA, Brotons C, Chew DP, Gencer B, Hasenfuss G, Kjeldsen K, Lancellotti P, Landmesser U, Mehilli J, Mukherjee D, Storey RF, Windecker S, Baumgartner H, Gaemperli O, Achenbach S, Agewall S, Badimon L, Baigent C, Bueno H, Bugiardini R, Carerj S, Casselman F, Cuisset T, et al. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J Oxford Academic*; 2016;**37**:267–315.
43. Roffi M, Patrono C, Collet J-P, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, Bax JJ, Borger MA, Brotons C, Chew DP, Gencer B, Hasenfuss G, Kjeldsen K, Lancellotti P, Landmesser U, Mehilli J, Mukherjee D, Storey RF, Windecker S. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal* 2016;**37**:267–315.
44. Schultze M. Ein heizbarer Objecttisch und seine Verwendung bei Untersuchungen des Blutes. *Archiv f mikrosk Anatomie* 1865;**1**:1–42.

45. Brewer DB. Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the discovery of the platelet. *British Journal of Haematology* 2006;**133**:251–258.
46. Bizzozero J. Ueber einen neuen Formbestandtheil des Blutes und dessen Rolle bei der Thrombose und der Blutgerinnung. *Archiv f pathol Anat* 1882;**90**:261–332.
47. Wright J. The origin and nature of blood plates. *Boston Medical and Surgical Journal* 1906;**154**:643.
48. On certain problems in the physiology of the blood corpuscles. *Med News* 1886;**48**:421-425.
49. Zucker MB, Friedman BK, Rapport MM. Identification and quantitative determination of serotonin (5-hydroxytryptamine) in blood platelets. *Proc Soc Exp Biol Med* 1954;**85**:282–285.
50. Bettex-Galland M, Portzehl H, Luscher EF. Dissociation of thrombosthenin into two components comparable with actin and myosin. *Nature* 1962;**193**:777–778.
51. Bettex-Galland M, Clemetson KJ. First isolation of actomyosin from a non-muscle cell: first isolated platelet protein. *J Thromb Haemost* 2005;**3**:834–839.
52. Kickler TS. Dr William W. Duke: Pioneer in Platelet Research. *JAMA* 2009;**301**:2267–2269.
53. Gardner FH, Cohen P. The value of platelet transfusions. *Med Clin North Am* 1960;**44**:1425–1439.
54. Sauvage FJ de, Hass PE, Spencer SD, Malloy BE, Gurney AL, Spencer SA, Darbonne WC, Henzel WJ, Wong SC, Kuang WJ. Stimulation of megakaryocytopoiesis and thrombopoiesis by the c-Mpl ligand. *Nature* 1994;**369**:533–538.
55. Moncada S, Gryglewski R, Bunting S, Vane JR. An enzyme isolated from arteries transforms prostaglandin endoperoxides to an unstable substance that inhibits platelet aggregation. *Nature* 1976;**263**:663–665.
56. Weksler BB, Marcus AJ, Jaffe EA. Synthesis of prostaglandin I₂ (prostacyclin) by cultured human and bovine endothelial cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1977;**74**:3922–3926.
57. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. The anti-aggregating properties of vascular endothelium: interactions between prostacyclin and nitric oxide. *Br J Pharmacol* 1987;**92**:639–646.
58. Radomski MW, Palmer RM, Moncada S. Endogenous nitric oxide inhibits human platelet adhesion to vascular endothelium. *Lancet* 1987;**2**:1057–1058.
59. Loscalzo J. Nitric oxide insufficiency, platelet activation, and arterial thrombosis. *Circ Res* 2001;**88**:756–762.
60. Marcus AJ, Broekman MJ, Drosopoulos JH, Islam N, Alyonycheva TN, Safier LB, Hajjar KA, Posnett DN, Schoenborn MA, Schooley KA, Gayle RB, Maliszewski CR. The endothelial cell ecto-ADPase responsible for inhibition of platelet function is CD39. *J Clin Invest* 1997;**99**:1351–1360.
61. Rink TJ. Cytosolic calcium in platelet activation. *Experientia* 1988;**44**:97–100.
62. Nurden AT, Phillips DR, George JN. Platelet membrane glycoproteins: historical perspectives. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2006;**4**:3–9.
63. Adelman B, Michelson AD, Handin RI, Ault KA. Evaluation of platelet glycoprotein Ib by fluorescence flow cytometry. *Blood* 1985;**66**:423–427.
64. Newman PJ, Gorski J, White GC 2nd, Gidwitz S, Cretney CJ, Aster RH. Enzymatic

- amplification of platelet-specific messenger RNA using the polymerase chain reaction. *J Clin Invest* 1988;**82**:739–743.
65. Jorgensen L, Hovig T, Rowsell HC, Mustard JF. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation and vascular injury in swine and rabbits. *Am J Pathol* 1970;**61**:161–176.
66. Podesta, M., Aubert, D., Ferrand, J.C. Contribution à l'étude pharmacologique de thienopyridines et d'analogues furanniques. *Eur. J. Med. Chem.* 1974;**9**:487–490.
67. CAPRIE Steering Committee. A randomised, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet* 1996;**348**:1329–1339.
68. Raju NC, Eikelboom JW, Hirsh J. Platelet ADP-receptor antagonists for cardiovascular disease: past, present and future. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med* 2008;**5**:766–780.
69. Tomasello SD, Tello-Montoliu A, Angiolillo DJ. Prasugrel for the treatment of coronary thrombosis: a review of pharmacological properties, indications for use and future development. *Expert Opinion on Investigational Drugs* 2011;**20**:119–133.
70. Lombo B, Díez JG. Ticagrelor: the evidence for its clinical potential as an oral antiplatelet treatment for the reduction of major adverse cardiac events in patients with acute coronary syndromes. *Core Evid* 2011;**6**:31–42.
71. Kössler J, Steigerwald U, Walter U. Antikoagulanzen der primären Hämostase. *Hämostaseologie* 2009;**29**:274–278.
72. De Luca G, Suryapranata H, Stone GW, Antoniucci D, Tcheng JE, Neumann F-J, Van de Werf F, Antman EM, Topol EJ. Abciximab as adjunctive therapy to reperfusion in acute ST-segment elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA* 2005;**293**:1759–1765.
73. De Luca G, Navarese E, Marino P. Risk profile and benefits from Gp IIb/IIIa inhibitors among patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with primary angioplasty: a meta-regression analysis of randomized trials. *Eur Heart J* 2009;**30**:2705–2713.
74. e.V DG für K-HK. Pocket-Leitlinie: Akutes Koronarsyndrom ohne ST-Hebung (NSTEMI-ACS).
75. Frojmovic MM, Milton JG. Human platelet size, shape, and related functions in health and disease. *Physiol Rev* 1982;**62**:185–261.
76. Michelson AD. Platelets. Third Edition. Elsevier. 2013; 27-45.
77. Behnke O, Forer A. From megakaryocytes to platelets: platelet morphogenesis takes place in the bloodstream. *Eur J Haematol Suppl* 1998;**61**:3–23.
78. Michelson AD. Platelets. Third Edition. Elsevier. 2013; 117-142.
79. Gawaz M. Das Blutplättchen. Stuttgart: Gawaz, Meinrad, 199.
80. Feijge MA, Heemskerk JW, Hornstra G. Membrane fluidity of non-activated and activated human blood platelets. *Biochim Biophys Acta* 1990;**1025**:173–178.
81. Smets EF, Comfurius P, Bevers EM, Zwaal RFA. Calcium-induced transbilayer scrambling of fluorescent phospholipid analogs in platelets and erythrocytes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* 1994;**1195**:281–286.
82. Clemetson KJ, Clemetson JM. Platelet collagen receptors. *Thromb Haemost* 2001;**86**:189–197.

83. Ruggeri ZM, Mendolicchio GL. Interaction of von Willebrand factor with platelets and the vessel wall. *Hamostaseologie* 2015;**35**:211–224.
84. Shang D, Zhang Z, Wang Q, Ran Y, Shaw TS, Van JN, Peng Y. Membrane skeleton orchestrates the platelet glycoprotein (GP) Ib-IX complex clustering and signaling. *IUBMB Life* 2016;**68**:823–829.
85. Maxwell MJ, Westein E, Nesbitt WS, Giuliano S, Dopheide SM, Jackson SP. Identification of a 2-stage platelet aggregation process mediating shear-dependent thrombus formation. *Blood* 2007;**109**:566–576.
86. Andrews RK, Fox JE. Interaction of purified actin-binding protein with the platelet membrane glycoprotein Ib-IX complex. *J Biol Chem* 1991;**266**:7144–7147.
87. Reed GL, Fitzgerald ML, Polgár J. Molecular mechanisms of platelet exocytosis: insights into the ‘secrete’ life of thrombocytes. *Blood* 2000;**96**:3334–3342.
88. Behnke O. The morphology of blood platelet membrane systems. *Ser Haematol* 1970;**3**:3–16.
89. Morgenstern E, Ruf A, Patscheke H. Transport of anti-glycoprotein IIb/IIIa-antibodies into the alpha-granules of unstimulated human blood platelets. *Thromb Haemost* 1992;**67**:121–125.
90. White JG. Platelet membrane ultrastructure and its changes during platelet activation. *Prog Clin Biol Res* 1988;**283**:1–32.
91. Gawaz M. Antithrombozytäre Substanzen. In: Gawaz M (Ed.). *Das Blutplättchen*. Stuttgart-New York, Georg Thieme Verlag 1999: 54–79.
92. Wilner GD, Nossel HL, LeRoy EC. Aggregation of platelets by collagen. *J Clin Invest* 1968;**47**:2616–2621.
93. de Groot PG, Sixma JJ. Platelet adhesion. *Br J Haematol* (1990);**75**:308–12.
94. Reininger und Spannagl.
95. Savage B, Saldívar E, Ruggeri ZM. Initiation of Platelet Adhesion by Arrest onto Fibrinogen or Translocation on von Willebrand Factor. *Cell* 1996;**84**:289–297.
96. Siess W. Molecular mechanisms of platelet activation. *Physiol Rev* 1989;**69**:58–178.
97. Savage B, Almus-Jacobs F, Ruggeri ZM. Specific synergy of multiple substrate-receptor interactions in platelet thrombus formation under flow. *Cell* 1998;**94**:657–666.
98. Bennett JS. Structure and function of the platelet integrin alphaIIb beta3. *J Clin Invest* 2005;**115**:3363–3369.
99. Ostendorf, Seeber. *Hämatologie-Onkologie*, Urban & Fischer Verlag, 1. Auflage, München 1997.
100. Monroe DM, Hoffman M, Roberts HR. Platelets and thrombin generation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;**22**:1381–1389.
101. Nagase H, Visse R, Murphy G. Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs. *Cardiovasc Res* 2006;**69**:562–573.
102. Uitto V-J, Overall CM, McCulloch C. Proteolytic host cell enzymes in gingival crevice fluid. *Periodontology 2000* 2003;**31**:77–104.
103. Page-McCaw A, Ewald AJ, Werb Z. Matrix metalloproteinases and the regulation of tissue remodelling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2007;**8**:221–233.
104. Jabłońska-Trypuć A, Matejczyk M, Rosochacki S. Matrix metalloproteinases

- (MMPs), the main extracellular matrix (ECM) enzymes in collagen degradation, as a target for anticancer drugs. *J Enzyme Inhib Med Chem* 2016;**31**:177–183.
105. Itoh Y, Nagase H. Matrix metalloproteinases in cancer. *Essays Biochem* 2002;**38**:21–36.
106. Massova I, Kotra LP, Fridman R, Mobashery S. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification. *FASEB J* 1998;**12**:1075–1095.
107. Wart HEV, Birkedal-Hansen H. The cysteine switch: a principle of regulation of metalloproteinase activity with potential applicability to the entire matrix metalloproteinase gene family. *PNAS* 1990;**87**:5578–5582.
108. Sternlicht MD, Werb Z. How matrix metalloproteinases regulate cell behavior. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2001;**17**:463–516.
109. Gross J, Lapiere CM. Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proc Natl Acad Sci USA* 1962;**48**:1014–1022.
110. Brinckerhoff CE, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: a tail of a frog that became a prince. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* 2002;**3**:207–214.
111. Liu P, Sun M, Sader S. Matrix metalloproteinases in cardiovascular disease. *Can J Cardiol* 2006;**22**:25B–30B.
112. Steffensen B, Wallon UM, Overall CM. Extracellular matrix binding properties of recombinant fibronectin type II-like modules of human 72-kDa gelatinase/type IV collagenase. High affinity binding to native type I collagen but not native type IV collagen. *J Biol Chem* 1995;**270**:11555–11566.
113. Medeiros NI, Fares RCG, Franco EP, Sousa GR, Mattos RT, Chaves AT, Nunes M do CP, Dutra WO, Correa-Oliveira R, Rocha MOC, Gomes JAS. Differential Expression of Matrix Metalloproteinases 2, 9 and Cytokines by Neutrophils and Monocytes in the Clinical Forms of Chagas Disease. *PLoS Negl Trop Dis* 2017;**11**:e0005284.
114. Rosenberg GA. Matrix metalloproteinases and their multiple roles in neurodegenerative diseases. *The Lancet Neurology* 2009;**8**:205–216.
115. Tan RJ, Liu Y. Matrix metalloproteinases in kidney homeostasis and diseases. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012;**302**:F1351–F1361.
116. Sun M, Opavsky MA, Stewart DJ, Rabinovitch M, Dawood F, Wen W-H, Liu PP. Temporal response and localization of integrins beta1 and beta3 in the heart after myocardial infarction: regulation by cytokines. *Circulation* 2003;**107**:1046–1052.
117. Hlatky MA, Ashley E, Quertermous T, Boothroyd DB, Ridker P, Southwick A, Myers RM, Iribarren C, Fortmann SP, Go AS, Atherosclerotic Disease, Vascular Function and Genetic Epidemiology (ADVANCE) Study. Matrix metalloproteinase circulating levels, genetic polymorphisms, and susceptibility to acute myocardial infarction among patients with coronary artery disease. *Am Heart J* 2007;**154**:1043–1051.
118. Hojo Y, Ikeda U, Ueno S, Arakawa H, Shimada K. Expression of matrix metalloproteinases in patients with acute myocardial infarction. *Jpn Circ J* 2001;**65**:71–75.
119. Knox JB, Sukhova GK, Whitemore AD, Libby P. Evidence for altered balance between matrix metalloproteinases and their inhibitors in human aortic diseases. *Circulation* 1997;**95**:205–212.
120. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation* 1995;**92**:657–671.

121. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, Kai M, Seki Y, Kuwahara F, Ueno T, Sugi K, Imaizumi T. Peripheral blood levels of matrix metalloproteinases-2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol* 1998;**32**:368–372.
122. Castro MM, Rizzi E, Figueiredo-Lopes L, Fernandes K, Bendhack LM, Pitol DL, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Metalloproteinase inhibition ameliorates hypertension and prevents vascular dysfunction and remodeling in renovascular hypertensive rats. *Atherosclerosis* 2008;**198**:320–331.
123. Rizzi E, Castro MM, Prado CM, Silva CA, Fazan R Jr, Rossi MA et al. Matrix metalloproteinase inhibition improves cardiac dysfunction and remodeling in 2-kidney, 1-clip hypertension. *J Card Fail* 2010;**16**:599–608.
124. Ceron CS, Rizzi E, Guimaraes DA, Martins-Oliveira A, Cau SB, Ramos J, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Time course involvement of matrix metalloproteinases in the vascular alterations of renovascular hypertension. *Matrix Biol* 2012;**31**:261–270.
125. Ceron CS, Rizzi E, Guimarães DA, Martins-Oliveira A, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Nebivolol attenuates prooxidant and profibrotic mechanisms involving TGF- β and MMPs, and decreases vascular remodeling in renovascular hypertension. *Free Radic Biol Med* 2013;**65**:47–56.
126. Ceron CS, Castro MM, Rizzi E, Montenegro MF, Fontana V, Salgado MCO, Gerlach RF, Tanus-Santos JE. Spironolactone and hydrochlorothiazide exert antioxidant effects and reduce vascular matrix metalloproteinase-2 activity and expression in a model of renovascular hypertension. *Br J Pharmacol* 2010;**160**:77–87.
127. Bergman MR, Teerlink JR, Mahimkar R, Li L, Zhu B-Q, Nguyen A, Dahi S, Karliner JS, Lovett DH. Cardiac matrix metalloproteinase-2 expression independently induces marked ventricular remodeling and systolic dysfunction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2007;**292**:H1847-1860.
128. Matsusaka H, Ide T, Matsushima S, Ikeuchi M, Kubota T, Sunagawa K, Kinugawa S, Tsutsui H. Targeted deletion of matrix metalloproteinase 2 ameliorates myocardial remodeling in mice with chronic pressure overload. *Hypertension* 2006;**47**:711–717.
129. Zhou H-Z, Ma X, Gray MO, Zhu B, Nguyen AP, Baker AJ, Simonis U, Cecchini G, Lovett DH, Karliner JS. Transgenic MMP-2 expression induces latent cardiac mitochondrial dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun* 2007;**358**:189–195.
130. Mahimkar R, Nguyen A, Mann M, Yeh C-C, Zhu B-Q, Karliner JS, Lovett DH. Cardiac transgenic matrix metalloproteinase-2 expression induces myxomatous valve degeneration: a potential model of mitral valve prolapse disease. *Cardiovasc Pathol* 2009;**18**:253–261.
131. Lovett DH, Mahimkar R, Raffai RL, Cape L, Maklashina E, Cecchini G, Karliner JS. A novel intracellular isoform of matrix metalloproteinase-2 induced by oxidative stress activates innate immunity. *PLoS ONE* 2012;**7**:e34177.
132. Azevedo A, Prado AF, Antonio RC, Issa JP, Gerlach RF. Matrix Metalloproteinases are Involved in Cardiovascular Diseases. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology* 2014;**115**:301–314.
133. Genetische Polymorphismen (Sequenzvariationen) von Fremdstoff-metabolisierenden Enzymen und ihre Bedeutung in der Umweltmedizin: Mitteilung der Kommission ?Methoden und Qualitätssicherung in der Umweltmedizin? *Bundesgesundheitsblatt - Gesundheitsforschung - Gesundheitsschutz* 2004;**47**:1115–

- 1123.
134. Ormond KE, Mortlock DP, Scholes DT, Bombard Y, Brody LC, Faucett WA, Garrison NA, Hercher L, Isasi R, Middleton A, Musunuru K, Shriner D, Virani A, Young CE. Human Germline Genome Editing. *Am J Hum Genet* 2017;**101**:167–176.
135. Ärzteblatt DÄG Redaktion Deutsches. Variabilität im menschlichen Genom: Bedeutung für die Krankheitsforschung, Cichon S., Dtsch Arztebl 2002; 99(46): A-3091 / B-2615 / C-2442. Deutsches Ärzteblatt. 2002.
<https://www.aerzteblatt.de/archiv/34474/Variabilitaet-im-menschlichen-Genom-Bedeutung-fuer-die-Krankheitsforschung> (30 March 2020)
136. Wang J, Xu D, Wu X, Zhou C, Wang H, Guo Y, Cao K. Polymorphisms of matrix metalloproteinases in myocardial infarction: a meta-analysis. *Heart* 2011;**97**:1542–1546.
137. Niu W, Qi Y. Matrix metalloproteinase family gene polymorphisms and risk for coronary artery disease: systematic review and meta-analysis. *Heart* 2012;**98**:1483–1491.
138. Wang B, Wang Y, Zhao L. MMP-9 gene rs3918242 polymorphism increases risk of stroke: A meta-analysis. *Journal of Cellular Biochemistry* 2018;**119**:9801–9808.
139. (PDF) DNA biometrics. ResearchGate.
https://www.researchgate.net/publication/221912832_DNA_biometrics (28 March 2019)
140. Gürkan A, Emingil G, Saygan BH, Atilla G, Cinarcik S, Köse T, Berdeli A. Gene polymorphisms of matrix metalloproteinase-2, -9 and -12 in periodontal health and severe chronic periodontitis. *Arch Oral Biol* 2008;**53**:337–345.
141. Tacheva T, Chelenkova P, Dimov D, Petkova R, Chakarov S, Vlaykova T. Frequency of the common promoter polymorphism MMP2 –1306 C>T in a population from central Bulgaria. *Biotechnol Biotechnol Equip* 2015;**29**:351–356.
142. Beber ARC, Polina ER, Biolo A, Santos BL, Gomes DC, Porta VLL, Olsen V, Clausell N, Rohde LE, Santos KG. Matrix Metalloproteinase-2 Polymorphisms in Chronic Heart Failure: Relationship with Susceptibility and Long-Term Survival. *PLOS ONE* 2016;**11**:e0161666.
143. Buraczynska M, Dragan M, Buraczynska K, Orłowska-Kowalik G, Ksiazek A. Matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) gene polymorphism and cardiovascular comorbidity in type 2 diabetes patients. *Journal of Diabetes and its Complications* 2015;**29**:829–833.
144. Hua Y, Song L, Wu N, Xie G, Lu X, Fan X, Meng X, Gu D, Yang Y. Polymorphisms of MMP-2 gene are associated with systolic heart failure prognosis. *Clin Chim Acta* 2009;**404**:119–123.
145. Gonçalves FM, Martins-Oliveira A, Lacchini R, Belo VA, Speciali JG, Dach F, Tanus-Santos JE. Matrix metalloproteinase (MMP)-2 gene polymorphisms affect circulating MMP-2 levels in patients with migraine with aura. *Gene* 2013;**512**:35–40.
146. Vosteen K-H. Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF). *Unfallchirurgie* 1992;**18**:55–56.
147. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, Prescott E, Storey RF, Deaton C, Cuisset T, Agewall S, Dickstein K, Edvardsen T, Escaned J, Gersh BJ, Svitil P, Gilard M, Hasdai D, Hatala R, Mahfoud F, Masip J, Muneretto C,

- Valgimigli M, Achenbach S, Bax JJ, ESC Scientific Document Group, Neumann F-J, Sechtem U, Banning AP, Bonaros N, et al. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *European Heart Journal* 2020;**41**:407–477.
148. Roffi M, Patrono C, Collet J-P, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, Bax JJ, Borger MA, Brotons C, Chew DP, Gencer B, Hasenfuss G, Kjeldsen K, Lancellotti P, Landmesser U, Mehilli J, Mukherjee D, Storey RF, Windecker S. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal* 2016;**37**:267–315.
149. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, Clement DL, Coca A, Simone G de, Dominiczak A, Kahan T, Mahfoud F, Redon J, Ruilope L, Zanchetti A, Kerins M, Kjeldsen SE, Kreutz R, Laurent S, Lip GYH, McManus R, Narkiewicz K, Ruschitzka F, Schmieder RE, Shlyakhto E, Tsioufis C, Aboyans V, Desormais I, De Backer G, Heagerty AM, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J* 2018;**39**:3021–3104.
150. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *JAMA* 2013;**310**:2191–2194.
151. Directive 2001/20/EC of the European Parliament and of the Council of 4 April 2001 on the approximation of the laws, regulations and administrative provisions of the member states relating to the implementation of good clinical practice in the conduct of clinical trials on medicinal products for human use. *Med Etika Bioet* 2002;**9**:12–19.
152. Rath D, Schaeffeler E, Winter S, Levertov S, Müller K, Droppa M, Stimpfle F, Langer HF, Gawaz M, Schwab M, Geisler T. GPlA Polymorphisms Are Associated with Outcomes in Patients at High Cardiovascular Risk. *Front Cardiovasc Med* 2017;**4**:52–52.
153. Fingleton B. Matrix metalloproteinases as valid clinical targets. *Curr Pharm Des* 2007;**13**:333–346.
154. Wang W, Schulze CJ, Suarez-Pinzon WL, Dyck JRB, Sawicki G, Schulz R. Intracellular action of matrix metalloproteinase-2 accounts for acute myocardial ischemia and reperfusion injury. *Circulation* 2002;**106**:1543–1549.
155. Sawicki G, Salas E, Murat J, Miszta-Lane H, Radomski MW. Release of gelatinase A during platelet activation mediates aggregation. *Nature* 1997;**386**:616.
156. Cheung PY, Sawicki G, Wozniak M, Wang W, Radomski MW, Schulz R. Matrix metalloproteinase-2 contributes to ischemia-reperfusion injury in the heart. *Circulation* 2000;**101**:1833–1839.
157. Matsunaga T, Abe N, Kameda K, Hagii J, Fujita N, Onodera H, Kamata T, Ishizaka H, Hanada H, Osanai T, Okumura K. Circulating level of gelatinase activity predicts ventricular remodeling in patients with acute myocardial infarction. *International Journal of Cardiology* 2005;**105**:203–208.
158. Nilsson L, Hallén J, Atar D, Jonasson L, Swahn E. Early measurements of plasma matrix metalloproteinase-2 predict infarct size and ventricular dysfunction in ST-elevation myocardial infarction. *Heart* 2012;**98**:31–36.

159. Niu F, Wei B, Yan M, Li J, Ouyang Y, Jin T. Matrix metalloproteinase-2 gene polymorphisms are associated with ischemic stroke in a Hainan population. *Medicine* 2018;**97**:e12302.
160. Manso H, Krug T, Sobral J, Albergaria I, Gaspar G, Ferro JM, Oliveira SA, Vicente AM. Variants of the Matrix Metalloproteinase-2 but not the Matrix Metalloproteinase-9 genes significantly influence functional outcome after stroke. *BMC Med Genet* 2010;**11**:40.
161. Zhao S, Wu H, Xia W, Chen X, Zhu S, Zhang S, Shao Y, Ma W, Yang D, Zhang J. Periostin expression is upregulated and associated with myocardial fibrosis in human failing hearts. *J Cardiol* 2014;**63**:373–378.
162. Shi Y, Zhang J, Tan C, Xu W, Sun Q, Li J. Matrix Metalloproteinase-2 Polymorphisms and Incident Coronary Artery Disease. *Medicine (Baltimore)* 2015;**94**.
163. Matsumura S, Iwanaga S, Mochizuki S, Okamoto H, Ogawa S, Okada Y. Targeted deletion or pharmacological inhibition of MMP-2 prevents cardiac rupture after myocardial infarction in mice. *J Clin Invest* 2005;**115**:599–609.
164. Lindner D, Zietsch C, Becher PM, Schulze K, Schultheiss H-P, Tschöpe C, Westermann D. Differential expression of matrix metalloproteases in human fibroblasts with different origins. *Biochem Res Int* 2012;**2012**:875742.
165. Lovett DH, Mahimkar R, Raffai RL, Cape L, Maklashina E, Cecchini G, Karliner JS. A novel intracellular isoform of matrix metalloproteinase-2 induced by oxidative stress activates innate immunity. *PLoS ONE* 2012;**7**:e34177.
166. Baghirova S, Hughes BG, Poirier M, Kondo MY, Schulz R. Nuclear matrix metalloproteinase-2 in the cardiomyocyte and the ischemic-reperfused heart. *J Mol Cell Cardiol* 2016;**94**:153–161.
167. Delgado-Enciso I, Gonzalez-Hernandez NA, Baltazar-Rodriguez LM, Millan-Guerrero RO, Newton-Sanchez O, Bayardo-Noriega A, Aleman-Mireles A, Enriquez-Maldonado IG, Anaya-Carrillo MJ, Rojas-Martinez A, Ortiz-Lopez R. Association of matrix metalloproteinase-2 gene promoter polymorphism with myocardial infarction susceptibility in a Mexican population. *J Genet* 2009;**88**:249–252.
168. Liu K, Gu S, Liu X, Sun Q, Wang Y, Meng J, Xu Z. The MMP2 rs243865 polymorphism increases the risk of prostate cancer: A meta-analysis. *Oncotarget* 2017;**8**:72933–72938.
169. Strbac D, Goricar K, Dolzan V, Kovac V. Matrix metalloproteinases polymorphisms as baseline risk predictors in malignant pleural mesothelioma. *Radiology and Oncology* 2018;**52**:160–166.
170. Cui Y, Zhu J-J, Ma C, Cui K, Wang F, Ni S-H, Zhang Z-Y. Genetic polymorphisms in MMP 2, 3 and 9 genes and the susceptibility of osteosarcoma in a Chinese Han population. *Biomarkers* 2016;**21**:160–163.
171. Kadoglou NP, Daskalopoulou SS, Perrea D, Liapis CD. Matrix metalloproteinases and diabetic vascular complications. *Angiology* 2005;**56**:173–189.
172. Beaudoux J-L, Giral P, Bruckert E, Foglietti M-J, Chapman MJ. Matrix metalloproteinases, inflammation and atherosclerosis: therapeutic perspectives. *Clin Chem Lab Med* 2004;**42**:121–131.
173. Sawicki G, Sanders EJ, Salas E, Wozniak M, Rodrigo J, Radomski MW. Localization and translocation of MMP-2 during aggregation of human platelets.

Thromb Haemost 1998;**80**:836–839.

174. Choi W-S, Jeon O-H, Kim H-H, Kim D-S. MMP-2 regulates human platelet activation by interacting with integrin α IIb β 3. *J Thromb Haemost* 2008;**6**:517–523.

9. Erklärung zum Eigenanteil

Die Studie wurde in der Abteilung Innere Medizin III - Kardiologie und Angiologie - Deutsches Herzkompentz Zentrum Tübingen unter Betreuung von Herrn PD Dr. med. Dominik Rath durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte in Zusammenarbeit mit Prof. Dr. med. T. Geisler, PD Dr. med. D. Rath, Dr. Stefan Winter und Dr. Elke Schaeffeler.

Die Probenaussortierungen wurden nach Einweisung von Frau Lydia Laptev (Medizinisch-technische Assistentin) von mir und anderen studentischen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe durchgeführt.

Die verwendete Datenbank wurde durch Herrn Dr. med Christian Eick zur Verfügung gestellt. Die Einpflegung zur Datenerfassung erfolgte nach Einweisung von Herrn Dr. med. Eick und Herrn PD Dr. med. Dominik Rath durch mich und andere studentische Mitarbeiter.

Die Genotypisierung wurde durch Mitarbeiter des Dr. Margarete Fischer-Bosch Institut für Klinische Pharmakologie (IKP) am Robert-Bosch-Krankenhaus in Stuttgart durchgeführt.

Die statistische Analyse erfolgte durch mich in Zusammenarbeit mit PD Dr. med. Dominik Rath.

Das Follow-up wurde durch mich und andere studentische Mitarbeiter der Arbeitsgruppe durchgeführt.

Ich versichere die Dissertation eigenständig nach Anleitung von PD Dr. med. Dominik Rath verfasst zu haben und keine weiteren Quellen, als die angegebenen verwendet zu haben.

München, den 25.06.2020

10. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Dominik Rath für die Betreuung und die Hilfestellung bei der Verfassung meiner Dissertation.

Herrn Prof. Dr. med. Tobias Geisler danke ich für die Möglichkeit, meine Dissertation als Teil der Arbeitsgruppe der kardiologischen Abteilung des Universitätsklinikums Tübingen verfassen zu dürfen.

Bei Frau Lydia Laptev möchte ich mich für die Unterstützung im Labor bedanken.

Den Mitarbeitern der Arbeitsgruppe danke ich für die gute Zusammenarbeit.

Ein großes Dankeschön geht an meine Eltern, dafür dass sie mich nicht nur bei meiner Doktorarbeit, sondern in jeder Lebenslage unterstützen und ich mich immer auf sie verlassen kann.