

Aus der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Klinikdirektor: Univ.-Prof. Dr. med. Malte Kelm

Charakterisierung der erythrozytären Funktion in der Anämie bei Patienten mit akutem ST-Hebungsinfarkt

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Caroline Langerbein

2025

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Malte Kelm

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Ulrich Germing

Für meinen Vater

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Wischmann P, Chennupati R, Solga I, Yogathanan V, Langerbein C, Jäger L, Gerdes N, Kelm M, Jung C. Red Blood Cell-Mediated Cardioprotection Is Impaired in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Patients With Anemia. *JACC Basic Transl Sci.* 2023 Oct 23;8(10):1392-1394. doi: 10.1016/j.jacbts.2023.06.010. PMID: 38094691; PMCID: PMC10714174.

Zusammenfassung

Rationale: Kardiovaskuläre Erkrankungen, einschließlich des Myokardinfarkts (MI), stellen in Deutschland die führende Todesursache dar. Eine häufig begleitende Komplikation ist die Anämie, die mit einer ungünstigen Prognose assoziiert sein kann. Der Zusammenhang zwischen einer Anämie, dem daraus resultierenden zirkulierenden Stickstoffmonoxid (NO) – Pool und der Mortalität nach einem Myokardinfarkt ist bisher jedoch nicht abschließend geklärt.

Zielsetzung: Ziel dieser Arbeit ist es, die Rolle der Anämie im Rahmen eines ST-Hebungsinfarkt (STEMI) zu analysieren. Im Fokus stehen dabei insbesondere die Funktionen der Erythrozyten, sowie deren Einfluss auf die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS). Untersucht werden soll zudem, wie sich diese Faktoren auf die Funktion des linken Ventrikels nach Ischämie-/Reperfusionsschaden auswirken.

Hypothese: Wir nehmen an, dass die Anämie bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt eine Änderung des zirkulierenden NO-Pools verursacht und die kardioprotektiven Eigenschaften der Erythrozyten verringert.

Methoden und Resultate: Im murinen Langendorff-Modell wurde der Einfluss von Erythrozyten, sowie von Plasma anämischer und nicht-anämischer Patienten mit ST-Hebungsinfarkt auf die kardiale Erholung nach Ischämie/Reperfusion untersucht. Die Messung der kardialen linksventrikulären Kontraktilität erfolgte anhand des linksventrikulären Druckgradienten (LVDP) und die über den LVDP abgeleitete Geschwindigkeit der Kontraktion (+dp/dt) und der Relaxation (-dp/dt). Des Weiteren wurde auch der Einfluss einer präischämischen chronischen und subakuten Anämie im Mausmodell untersucht. Humane Erythrozyten von Patienten mit STEMI verschlechterten die kontraktile Erholung nach myokardialer Ischämie und anschließender Reperfusion im Langendorff-Modell signifikant bei zusätzlichem Vorliegen einer Anämie. Bei Verwendung von Plasma zeigten sich keine Unterschiede in Abhängigkeit vom Auftreten einer Anämie.

Schlussfolgerungen: Zusammengefasst lässt sich feststellen, dass eine milde, normozytäre und normochrome Anämie mit einer gestörten Funktion der Erythrozyten sowie einer reduzierten Konzentration zirkulierenden Stickstoffmonoxids assoziiert ist. Erythrozytäre und endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase spielen dabei eine zentrale Rolle in der zugrundeliegenden Kausalkette. Die vorliegenden Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine Dysfunktion der Erythrozyten und eine verminderte eNOS-Aktivität im Rahmen eines akuten Myokardinfarkts potenziell zu einer ungünstigeren klinischen Prognose beitragen können.

Abstract

Rationale: Cardiovascular diseases, including myocardial infarction (MI), are the most common causes of death in Germany. Anemia is a common comorbidity, which can negatively impact the prognosis of these patients. The relationship between anemia, the resulting circulating nitric oxide (NO) pool, and mortality after MI remains unclear.

Objective: This study aims to examine the impact of anemia in ST-elevation myocardial infarction. Red blood cell function, the effects on endothelial nitric oxide synthase, and the resulting alterations in left ventricular function after ischemia/reperfusion injury will be analyzed.

Hypothesis: We hypothesize that anemia in patients with acute MI causes a change in the circulating NO pool and reduces the cardioprotective properties of erythrocytes.

Methods and results: In the murine Langendorff model, the influence of red blood cells and plasma from anemic and non-anemic patients with ST-elevation myocardial infarction on cardiac recovery after ischemia/reperfusion was investigated. Cardiac left ventricular contractility was measured using the left ventricular pressure gradient (LVDP) and the velocity of contraction (+dp/dt) and relaxation (-dp/dt). Furthermore, the influence of pre-ischemic chronic and subacute anemia was also analyzed in the mouse model. Human red blood cells (RBCs) from patients with STEMI significantly impaired contractile recovery following myocardial ischemia and following reperfusion in context of concomitant anemia. When plasma was used, no differences were found depending on the presence of anemia.

Conclusions: In conclusion, mild normocytic, normochromic anemia appears to be associated with impaired erythrocyte function and a concomitant reduction in circulating nitric oxide (NO) bioavailability. Erythrocyte-derived and endothelial nitric oxide synthase (eNOS) contribute significantly to this pathophysiological cascade. The data suggests that dysfunction of erythrocytes and diminished eNOS activity in the setting of acute myocardial infarction may exacerbate ischemia-reperfusion injury and negatively impact left ventricular function and overall clinical outcomes.

Abkürzungsverzeichnis

ACS	Akutes Koronarsyndrom
AMI	Akuter Myokardinfarkt
ANOVA	<i>analysis of variance</i> , univariante Varianzanalyse
ASS	Acetylsalicylsäure
aVF	<i>augmented voltage left foot</i>
aVL	<i>augmented voltage left arm</i>
BMI	<i>Body Mass Index</i> ; Körpermasseindex
bpm	<i>beats per minute</i> ; Schläge pro Minute
cm	Zentimeter
CT	Computertomographie
CK	Creatinkinase
CKD	<i>chronic kidney disease</i> , chronische Nierenerkrankung
CK-MB	Isoenzym der Creatinkinase, <i>muscle brain type</i>
dl	Deziliter
DP/ LVDP	linksventrikulärer Druck, <i>developed pressure/ left ventricular developed pressure</i>
dP/dt	Druckänderung pro Zeiteinheit
EKG	Elektrokardiogramm
eNOS	endotheliale NO-Synthase
fl	Femtoliter
g	Gramm
g	Vielfaches der Erdbeschleunigung (Zentrifugalkraft)
G	Gauge-Maß für Kanüldurchmesser
g/dl	Gramm pro Deziliter
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
h	Stunde
Hb	Hämoglobin
HDL	<i>high density lipoprotein</i>
Hkt	Hämatokrit
HbA1c	glykiertes Hämoglobin, Rückschluss auf Blutzuckerwerte
hs-cTN	hochsensitives kardiales Troponin
IE	Internationale Einheiten
INR	International Normalized Ratio
kDA	Kilodalton
kg/m ²	Kilogramm pro Quadratmeter,
KHK	koronare Herzkrankheit
LAD	<i>left anterior descending artery</i> , Ramus interventricularis anterior (aus linker Koronararterie)
LDL	<i>low density lipoprotein</i>
MCH	<i>mean corpuscular haemoglobin</i> ; mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	<i>mean corpuscular haemoglobin concentration</i> ; mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MI	Myokardinfarkt
mg	Milligramm
min	Minute
ml	Milliliter
mm	Millimeter

mM	MilliMolar
mmHg	Millimeter-Quecksilbersäule
mm/min	Millimeter pro Minute
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl an Probanden
ng	Nanogramm
nmol	Nanomol
NO	Stickstoffmonoxid
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
NSTEMI	<i>non-ST-elevated myocardial infarction</i> , Nicht-ST-Hebungsinfarkt
NT-proBNP	N-Terminal pro-B-Type Natriuretic Peptide
p	Signifikanzwert
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PCI	perkutane koronare Intervention
pg	Pikogramm
PKG	Proteinkinase K
PTCA	perkutane transluminale Coronar-Angioplastie
RCA	Arteria coronaria dextra; rechte Koronararterie
RCX	Ramus circumflexus (aus der linken Koronararterie)
RDW	<i>red cell distribution width</i> , Erythrozytenverteilungsbreite
ROS	<i>reactive oxygen species</i> , reactive Sauerstoffspezies
s	Sekunde
SD	<i>standard deviation</i> , Standardabweichung
sGC	<i>soluble guanylate cyclase</i>
STEMI	<i>ST-elevated myocardial infarction</i> , ST-Hebungsmyokardinfarkt
sTFR	<i>soluble transferrin receptor</i> , löslicher Transferrin-Rezeptor
U/l	Units pro Liter
WHO	<i>World Health Organization</i> , Weltgesundheitsorganisation
ZETT	Zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben
%	Prozent
°C	Grad Celcius
µg	Mikrogramm
µl	Mikroliter

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	<i>Akutes Koronarsyndrom</i>	1
1.1.1	Epidemiologie	1
1.1.2	Einteilung und Definition des akuten Koronarsyndroms	1
1.1.3	Ätiologie und Pathogenese des akuten Koronarsyndroms	2
1.1.4	Klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren	4
1.2	<i>Diagnostik der KHK</i>	5
1.2.1	Basisdiagnostik	5
1.2.2	Ischämie-Diagnostik	6
1.3	<i>Der akute Myokardinfarkt</i>	7
1.4	<i>Therapie des akuten Koronarsyndroms</i>	8
1.5	<i>Anämie</i>	12
1.5.1	Überblick	12
1.5.2	Physiologische Funktion von Erythrozyten	13
1.5.3	Anämie beim akuten Koronarsyndrom	17
1.5.4	Therapieoptionen	18
2	Fragestellung und Hypothese.....	20
3	Material und Methoden	21
3.1	<i>Versuchstiere</i>	21
3.2	<i>Materialien</i>	22
3.2.1	Verwendete Geräte.....	22
3.2.2	Verwendete Medikamente	23
3.2.3	Verwendete Chemikalien, Elektrolyte, Gase, Antikörper	23
3.3	<i>Anämie-Induktion</i>	24
3.3.1	Akute Anämie.....	24
3.3.2	Chronische Anämie	24
3.4	<i>Eigenschaften des isoliert perfundierten Herzens im Langendorff-Modell.....</i>	26
3.5	<i>Versuchsaufbau</i>	27
3.5.1	Ein Überblick über die Funktionen des Langendorff-Modells.....	27
3.5.2	Ballon-Katheter	30
3.5.3	Herstellung der Krebs-Henseleit-Lösung.....	30
3.5.4	Präparation/ Herzentnahme	31
3.5.5	Aufbereitung der Patientenproben.....	33
3.6	<i>Überblick über die Funktionsweise der Durchflusszytometrie</i>	34
3.7	<i>Versuchsprotokolle</i>	35
3.7.1	STEMI – Erythrozyten-Protokoll	35
3.7.2	STEMI – Plasma-Protokoll	38
3.7.3	Mauserzen Anämie - Protokoll.....	39

3.7.4	Messwerte	39
3.7.5	Durchführung der Durchflusszytometrie	40
3.7.6	Statistische Auswertung.....	41
4	Ergebnisse	42
4.1	<i>Langendorff-Versuche</i>	42
4.1.1	Patientencharakteristika	42
4.1.2	Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens im Langendorff-Modell..	46
4.2	<i>Durchflusszytometrie.....</i>	64
5	Diskussion	66
5.1	<i>Anämie bei STEMI-Patienten</i>	66
5.2	<i>Kardioprotektiver Effekt humaner Erythrozyten im ex vivo Langendorff-Modell ...</i>	68
5.2	<i>Kardioprotektiver Effekt von humanem Plasma im ex vivo Langendorff-Modell ...</i>	71
5.3	<i>Kardioprotektiver Effekt von Erythrozyten nach fünf Tagen im ex vivo Langendorff-Modell.....</i>	72
5.4	<i>Kardiale Funktion im Langendorff-Modell bei akut und chronisch anämischen Mäusen.....</i>	74
5.5	<i>Effektivität der durchgeführten Waschschrte</i>	75
5.6	<i>Limitationen.....</i>	75
5.7	<i>Zusammenfassung und Ausblick.....</i>	78
6	Abbildungsverzeichnis	79
7	Tabellenverzeichnis	80
8	Literaturverzeichnis	81

1 Einleitung

1.1 Akutes Koronarsyndrom

1.1.1 Epidemiologie

Die Relevanz des akuten Myokardinfarkts und seine Folgen wie Herztod oder Herzinsuffizienz ist seit Jahren sehr eindrücklich. Trotz vieler neuer Therapieansätze und verbesserter Prävention sind Herz-Kreislaufkrankungen die häufigste Todesursache in Deutschland. Im Jahre 2020 starben insgesamt 121.462 Menschen an den Folgen der Koronaren Herzerkrankung (KHK); 44.529 davon an einem akuten Myokardinfarkt (AMI). [1] Im Jahre 2021 starben 340.619 Menschen an Herz-Kreislauf-Erkrankungen [1]. Ungefähr 30–50 % der Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt sterben noch vor dem Erreichen des Krankenhauses und ca. 4–6 % im stationären Verlauf [2].

Seit 2011 zeigt sich in den Industrienationen eine insgesamt rückläufige Tendenz der Morbidität und Mortalität der KHK und insbesondere auch des akuten Myokardinfarkts [1]. Dies lässt sich unter anderem auf eine verbesserte präklinische Notfallversorgung, schnellere Diagnostik, sowie Neuerungen in der Prävention und auch Behandlung der kardiovaskulären Erkrankungen zurückführen.

Die altersstandardisierte Mortalitätsrate bei akutem Myokardinfarkt ist bei den Männern von 2011 bis 2020 um 27,2 % und bei den Frauen um 32,8 % zurückgegangen. Nach wie vor haben Männer eine deutlich höhere Mortalitätsrate. [1]

1.1.2 Einteilung und Definition des akuten Koronarsyndroms

Das akute Koronarsyndrom (ACS) dient als Überbegriff für die unmittelbar lebensbedrohlichen Phasen der koronaren Herzkrankheit (KHK) und beinhaltet als Leitsymptom akuten Thoraxschmerz [2]. Die koronare Herzkrankheit vereint Erkrankungen des Herzens, die durch eine verminderte Blutzufuhr und den dadurch entstandenen Sauerstoff- und Nährstoffmangel verursacht werden und inkludiert zum Beispiel die Angina pectoris oder den akuten Myokardinfarkt. Das Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und -angebot im Herzmuskel bezeichnet man als Koronarinsuffizienz [3].

Die stabile koronare Herzkrankheit entspricht dem chronischen Koronarsyndrom (CCS). Es beruht auf dem Verlauf einer koronaren Atherosklerose und kann in akute Verläufe (ACS) übergehen. [1]

Das ACS umfasst die instabile Angina pectoris, das ST-Streckenhebungs-ACS (STE-ACS) und Nicht-ST-Streckenhebungs-ACS (NSTEMI-ACS).

Das STE-ACS umfasst starke, anhaltende retrosternale Schmerzen, oft mit Ausstrahlung (zum Beispiel in den linken Arm, den Kiefer oder den Rücken) sowie vegetative Begleitsymptome wie Übelkeit, Schweißausbruch oder Atemnot. Im Elektrokardiogramm (EKG) zeigt sich eine ST-Streckenhebung in mindestens zwei zusammenhängenden Ableitungen, die den Verdacht auf eine transmural (die gesamte Wanddicke betreffend) ablaufende Ischämie bestätigen. [4]

Die andere Kategorie, bezeichnet als NSTEMI-ACS, umfasst ebenfalls thorakale Schmerzen, zeigt jedoch keinerlei ST-Strecken-Hebung im EKG. Beim NSTEMI kommt es zum Nachweis von kardialen Troponinen im Blut, die eine myokardiale Schädigung belegen (im Gegensatz zur instabilen Angina pectoris, bei der die Troponinwerte nicht erhöht sind). [2] Elektrokardiographisch können sich auch beim NSTEMI Auffälligkeiten zeigen, wie zum Beispiel eine neu aufgetretene ST-Strecken-Senkung oder eine T-Wellen-Negativierung in zwei benachbarten Ableitungen. [4, 5]

1.1.3 Ätiologie und Pathogenese des akuten Koronarsyndroms

Die Ursachen des ACS können sehr unterschiedlich sein, wie zum Beispiel ein embolischer Verschluss einer Koronararterie, ein Koronarspasmus oder eine Dissektion einer Koronararterie. Die häufigste Ursache für das ACS ist jedoch eine atherosklerotisch veränderte Koronararterie mit chronisch entzündlicher Erkrankung der Intima von multifaktorieller Genese mit einem akuten Thrombus. [6-9] Bei der Entstehung spielen Prädilektionsstellen mit großer hämodynamischer Belastung eine große Rolle [10]. Das Prinzip beim akuten Koronarsyndrom ist eine relevante Beeinträchtigung der koronaren Blutversorgung und damit einhergehender Minderversorgung des Gewebes mit Sauerstoff [4, 7, 11, 12]. Die Pathogenese ist dabei unter anderem folgende: mit der Zeit entwickeln sich aufgrund verschiedener Risikofaktoren atheromatöse Plaques in den Koronararterien. Vermutlich ist dabei der Auslöser die Verletzung einer Endothelzelle durch zum Beispiel arteriellen Hypertonus. Thrombozyten lagern sich an die entstandene Läsion an, was über abgegebene Mediatorsubstanzen zu einer Einwanderung und Proliferation von glatten Muskelzellen und Makrophagen in die Intima der

Gefäße führt. Die Makrophagen werden durch die Aufnahme von oxidiertem LDL-Cholesterin zu Schaumzellen und durch weitere fibrotische Umwandlung entsteht ein Plaque. [4] Diese Plaques können instabil werden, sich entzünden und aufreißen. Sobald dies passiert, wird thrombogenes Material frei, das Thrombozyten aktiviert und über eine Gerinnungskaskade dafür sorgt, dass ein Thrombus entsteht. Das Glykoprotein IIb/IIIa als Rezeptor für das Fibrinogen ändert seine Konformation, was zu einer Quervernetzung von Thrombozyten führt. Der neue Thrombus verursacht eine plötzliche Durchblutungsstörung des Myokards. [4, 7, 9, 11-14] In den meisten Fällen kommt es zu einer spontanen Thrombolyse [15]. Die zuvor bestandene Obstruktion, dauert in der Regel jedoch lange genug an, um eine Gewebsnekrose zu verursachen. [13, 16] Der Energiebedarf des Herzens wird vor allem durch den oxidativen Abbau von freien Fettsäuren, Laktat und Glucose gedeckt. [4, 17] Somit ist bei erniedrigter Koronardurchblutung vor allem der Sauerstoffmangel der limitierende Faktor. Kommt zusätzlich noch eine Belastung hinzu, kann der Sauerstoffbedarf bis auf das Vierfache steigen. Zu einem NSTEMI oder einer instabilen Angina pectoris kommt es, wenn thrombotisches Material wiederholt in die Koronararterien embolisiert. [4] Klinisch handelt es sich bei einem NSTEMI oft um kleinere Infarktgeschehen mit nur geringem myokardialen Nekroseareal. [18-20] Typischerweise liegt hier eine hochgradig thrombusbelegte Stenose mit erhaltenem, jedoch reduziertem Blutfluss in die Peripherie vor [4, 21].

Ist das Gefäß komplett verschlossen, kommt es in den meisten Fällen zu einem akuten STEMI. Mit einer regionalen Perfusionsstörung ist jedoch erst zu rechnen, wenn die Koronarstenose > 50 % des Gefäßlumens einengt. [4] Einen Einfluss haben hier außerdem Kollateralgefäße, die einen Teil der Versorgung des Gebiets übernehmen können. Bei einer Stenose > 75 % spricht man von einer kritischen Stenose. Diese zeigt sich klinisch bei Fehlen von ausreichenden Kollateralgefäßen in einer belastungsabhängigen Angina pectoris. Das Ausmaß der Schädigung hängt somit vor allem von der Lumeneinengung, der Ischämiedauer und der Lage der Stenose ab. [4, 6, 22]

Die Ischämietoleranz der Muskelzellen des Herzens beträgt ungefähr 2–4 h [4, 23].

Ist das Gewebe ischämisch und noch nicht infarziert, können bereits Kontraktilität und Relaxation des Gewebes beeinträchtigt sein. Es kommt zu einer Wandbewegungsstörung im Sinne einer Dys- oder Hypokinesie. Im schlimmsten Fall kann dies zu einem kardiogenen Schock führen. [24-32]

Eine Herzinsuffizienz auf Boden eines Myokardinfarktes ist die häufigste Ursache eines kardiogenen Schocks und macht circa 80 % aus. Ungefähr 3–13 % der Patienten mit einem Myokardinfarkt erleiden einen kardiogenen Schock als Komplikation, welcher eine sehr hohe Mortalität von 40–50 % aufweist. [33, 34]

Aufgrund des erhöhten Sauerstoff (O₂) – Bedarfs in den Innenschichten des Myokards durch dort erhöhte Druckbelastung und der Tatsache, dass die Koronararterien zuerst die Außenschicht des Myokards versorgen, kommt es zuerst im subendothelialen Myokard zu einer Ischämie [35-39]. Dieser so genannte subendokardiale Infarkt führt elektrokardiographisch zu einer Veränderung der ST-Strecke und der T-Welle [40, 41]. Betrifft die Ischämie alle Wandschichten des Myokards, zeigt sich ein transmuraler Infarkt elektrokardiographisch mit zusätzlich vorliegenden pathologischen Q-Zacken [42].

Es kann nicht nur zu Akinesie oder Dyskinesie der Myokardwand im entsprechenden Areal kommen, sondern auch zu einer elektrischen Leitungsstörung. Dies äußert sich in unterschiedlichen elektrokardiographischen Änderungen und Herzrhythmusstörungen. [43]

1.1.4 Klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren

Die gängigsten kardiovaskulären Hauptrisikofaktoren für die Entwicklung einer vorzeitigen Arteriosklerose sind eine Erhöhung des Low-Density Lipoprotein (LDL) -Cholesterins beziehungsweise eine High-Density Lipoprotein (HDL)-Cholesterin-Erniedrigung, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus, KHK oder Zustand nach Myokardinfarkt bei einem erstgradigen Familienangehörigen vor dem 55. Lebensjahr, das Lebensalter und das männliche Geschlecht. Es gibt zusätzlich noch einige weitere Risikofaktoren wie Adipositas, körperliche Inaktivität, obstruktive Schlafapnoe, Lipidstoffwechselstörungen oder eine atherogene Diät. Bei Leuten, die vor dem 30. Lebensjahr einen Myokardinfarkt erleiden, sollte man zusätzlich nach zum Beispiel einer familiären Hypercholesterinämie, dem Antiphospholipid-Syndrom, Vaskulitiden, Drogenanamnese und Hyperviskositätssyndromen suchen. [6, 44] Es gilt, die Risikofaktoren frühzeitig zu erkennen und zu therapieren. Zur Berechnung des individuellen Risikos für ein kardiovaskuläres Ereignis gibt es vor allem im ambulanten Sektor Risikokalkulatoren. Diese Werkzeuge unterstützen Ärztinnen und Ärzte dabei, präventive Maßnahmen und Therapien individuell an die Risikoprofile der Patienten anzupassen. Zu den gängigen Risikokalkulatoren gehören: Systematic Coronary Risk

Evaluation 2 (SCORE2) und Systematic Coronary Risk Evaluation 2 for Older Persons (SCORE2-OP), PROCAM (Prospective Cardiovascular Münster Study) und der Framingham Risk Score. Die Wahl des Risikokalkulators hängt von verschiedenen Faktoren ab wie dem Alter des Patienten, der individuellen Risikoprofilierung, den verfügbaren Parametern sowie der regionalen und klinischen Anwendungssituation. [45-51]

1.2 Diagnostik der KHK

1.2.1 Basisdiagnostik

Das Leitsymptom der Koronarinsuffizienz ist die Angina pectoris. Hierbei handelt es sich vorwiegend um retrosternale Schmerzen, die durch unterschiedliche Faktoren ausgelöst werden können, wie zum Beispiel körperliche oder psychische Belastungen, kalte Außentemperatur oder Nahrungsaufnahme. Bei Frauen, Patienten mit Diabetes mellitus oder voroperierten Patienten können die typischen Schmerzen fehlen und durch unspezifische Symptome ersetzt sein. [4] In der MONICA-Studie zeigten nur circa 40 % der Patienten eine Infarkt-typische Symptomatik [52]. Sollte anamnestisch eine typische Angina pectoris-Symptomatik vorliegen, ist die Diagnose einer KHK sehr wahrscheinlich. Somit sind als erster Schritt zunächst die Anamnese und die körperliche Untersuchung wichtig. In der Untersuchung kann durch die Auskultation der Lunge der Schweregrad einer akuten Herzinsuffizienz (Killip-Klassifikation) nach einem akuten Myokardinfarkt abgeschätzt oder auch alternative Krankheitsbilder bereits ausgeschlossen werden. [4, 53, 54] Als nächster diagnostischer Schritt sollte eine Laboruntersuchung mit insbesondere Troponin-Bestimmung und ein 12-Kanal Ruhe-EKG innerhalb der ersten 10 min nach Patientenkontakt erfolgen [55]. Aufgrund der therapeutisch unterschiedlichen Strategien beim NSTEMI und STEMI ist vor allem die EKG-Befundung von großer Bedeutung. EKG-Veränderungen zeigen sich deutlich vor einem Enzymanstieg und können außerdem sofort diagnostiziert werden. Somit kann bei auffälligem EKG die Zeit bis zur Revaskularisation verkürzt werden. [5] Ist kein Infarkt abgelaufen, liegt auch in 50 % einer schweren KHK keine elektrokardiographische Veränderung vor [6]. Patienten mit ACS haben in ungefähr 55 % der Fälle ein normales oder nicht verwertbares EKG [4]. Zur Basisdiagnostik gehört zusätzlich eine transthorakale Echokardiographie (TTE). Hier können

Wandbewegungsstörungen ausgeschlossen, die systolische und diastolische Ventrikelfunktion beurteilt aber auch Aneurysmen entdeckt werden. [6]

1.2.2 Ischämie-Diagnostik

Zur weiterführenden Ischämie-Diagnostik bei Patienten mit keinem akuten Geschehen gehört zunächst ein Langzeit-EKG, das unter Alltagsbedingungen und in täglichen Belastungssituationen durchgeführt wird. Hier können ST-Senkungen enttarnt werden.[6] Zusätzlich kann ein Belastungs-EKG erfolgen. Dabei soll unter kontrollierten Bedingungen eine dynamische Belastung mittels Ergometrie stattfinden. Es folgt eine Steigerung des Herzminutenvolumens und damit konsekutiv eine Erhöhung des Sauerstoffbedarfs. Hat der Patient eine signifikante KHK wird so eine ischämische Situation ausgelöst, die sich elektrokardiographisch in einer ST-Veränderung zeigt. Das Belastungs-EKG hat allerdings in bestimmten Fällen nur eine eingeschränkte Aussagekraft, wie zum Beispiel bei der Einnahme von ST-Strecken-senkenden Medikamenten oder fehlendem Erreichen der submaximalen Herzfrequenz (bei Einnahme von Betablockern). Eine höhere Sensitivität ist mittels Belastungstests in Kombination mit einem bildgebenden Verfahren zu erreichen. Hier kann zusätzlich die bildmorphologische Lokalisierung des betroffenen Areals erfolgen. Zu diesen diagnostischen Tools zählen die Belastungsechokardiographie, das Stress-MRT, die Positronen-Emissions-Tomographie (PET) oder auch die Myokardszintigraphie (MSZ) in Verbindung mit einem Belastungstest. Die Belastungssituation kann jeweils durch körperliche Anstrengung, aber auch medikamentös induziert werden. Jedes dieser Verfahren hat bei unauffälligem Befund einen hohen prognostischen Wert. Zur genauen Beurteilung der Koronararterien ist zusätzlich die Durchführung einer entsprechenden CT-Bildgebung möglich. [6]

Zum Goldstandard gehört heutzutage vor allem die Koronarangiographie inklusive Lävokardiographie. Bei diesem invasiven Verfahren ist nicht nur die Diagnostik, sondern auch die Möglichkeit der Intervention von entscheidender Bedeutung. Es können bereits deutlich geringere Stenosen nachgewiesen und die Lokalisation genau bestimmt werden. Der Zugang erfolgt bei hämodynamisch stabilen Patienten als Goldstandard über die Arteria radialis. Ein Führungsdraht wird vorsichtig durch die Arterie in Richtung des Herzens vorgeschoben. Ein Katheter wird über den Führungsdraht bis in die Koronararterien eingeführt, um die Blutgefäße des Herzens zu untersuchen.

Der Katheter wird unter röntgenologischer Kontrolle so positioniert, dass die Koronargefäße gut sichtbar werden. Im Anschluss wird Kontrastmittel injiziert, sodass nun der Stenosegrad, die Stenosemorphologie und die Koronardurchblutung beurteilt werden können. [6]

1.3 Der akute Myokardinfarkt

Sowohl beim STEMI, als auch beim NSTEMI zeigen sich serologische Auffälligkeiten, wie eine Erhöhung des hochsensitiven Troponins T oder I (hs-cTn), mit mindestens einem Wert oberhalb der 99 % Perzentile. Das Troponin ist ein Marker für eine myokardiale Zellschädigung. Das bedeutet, dass dieser Wert auch bei zahlreichen anderen Krankheiten erhöht sein kann. Eine Troponin-Erhöhung kann zum Beispiel bei Niereninsuffizienz, Herzmuskelentzündungen, strukturellen Herzerkrankungen, Lungenarterienembolien, Aortendissektionen, Herzrhythmusstörungen, Herzklappendefekten, Sepsis, hypertensiven Krisen oder auch bei einer chronischen Kardiomyopathie vorliegen. Dies gilt es durch die Troponin-Verlaufskontrolle auszuschließen. Zur Beurteilung der Entität ist ein zeitlicher Verlauf des Parameters wichtig, weshalb eine Troponin-Verlaufskontrolle erfolgen sollte. [56, 57]. Seit 2020 ist die Klasse-1a-Empfehlung ein 0/1-h- oder 0/2-h-Algorithmus. Das heißt, dass eine laborchemische Bestimmung des Troponins zum Zeitpunkt der initialen Triage (0h) und nach einer beziehungsweise zwei Stunden erfolgen sollte. Ist der Befund in der Verlaufskontrolle nicht eindeutig, sollte eine erneute Kontrolle nach insgesamt drei Stunden nach der initialen Abnahme erfolgen. Eine relevante Troponin-Dynamik kann unter anderem jedoch ebenfalls bei einer Lungenarterienembolie oder Myokarditis vorliegen. In dem Fall sollten weitere diagnostische Untersuchungen erfolgen.

Neben dem Troponin gibt es noch weitere Biomarker, die zwar bei der Diagnostik und dem Verlauf hilfreich sein können, in der Akutsituation jedoch im Vergleich von untergeordneter Bedeutung sind. [58, 59]

Hierzu zählt unter anderem die Kreatinkinase. Dieser Wert zeigt sich im Allgemeinen bei unterschiedlichen Erkrankungen erhöht, wie zum Beispiel bei Herzmuskelerkrankungen (auch beim Myokardinfarkt), Skelettmuskelerkrankungen oder bei vorliegender Hämolyse. Auch verschiedene Medikamente, wie zum Beispiel Statine, können zu laborchemisch erhöhten CK-

Werten führen. Der Nachweis eines Anstiegs ist somit nicht spezifisch und findet im Fall des Myokardinfarktes auch erst nach circa 6–8 h statt. Im Gegensatz dazu gilt der Anstieg des Isoenzym CK-MB als Infarkt-spezifisch und kann nach ungefähr vier bis sechs Stunden nachgewiesen werden. [2, 58, 60]

Der akute Myokardinfarkt lässt sich in weitere Kategorien einteilen. Eine wichtige Einteilung erfolgt dabei in Abhängigkeit von dem betroffenen Infarktareal, das – unter Berücksichtigung des interindividuellen Versorgungstyps – dem Versorgungsgebiet der entsprechenden stenosierte Koronararterie entspricht. In den meisten Fällen ist die linke Herzhälfte betroffen. [6] In über 30 % der Fälle liegt ein Vorderwandinfarkt vor [61, 62]. Hierbei ist der Ramus interventricularis anterior der Arteria coronaris sinistra (RIVA) oder ihre kleineren Äste verschlossen. Elektrokardiographisch zeigt sich meistens eine ST-Hebung in den Brustwandableitungen V1-V6 und in den Extremitätenableitungen I und aVL. Beim Hinterwandinfarkt oder auch inferioren Infarkt ist die Arteria coronaria dextra (RCA) oder der Ramus interventricularis posterior (RIVP) als Abgang dieser Arterie betroffen. Als frühes Zeichen zeigt sich hier eine ST-Strecken-Senkung in der Ableitung aVL. Eine ST-Strecken-Hebung zeigt sich in der Regel in den Ableitungen II, III und avF. [6] Beim Hinterwandinfarkt kann es zu einer Ischämie des AV-Knotens kommen und somit ein Herzschrittmacher notwendig sein [4]. Mit weniger als 15 % ist der Seitenwandinfarkt der seltenste Infarkt [63]. Die Stenose betrifft dabei den Ramus circumflexus der Arterie coronaria sinistra (RCX). Im EKG zeigen typische Veränderungen in den Ableitungen V4-V6, I und aVL. [5, 6]

Die kritischste und hochgradig vulnerable Phase nach einem Myokardinfarkt sind die ersten 48 h. Ungefähr 40 % der Patienten überleben den ersten Tag nach Infarktgeschehen nicht. [6]

1.4 Therapie des akuten Koronarsyndroms

Da vor allem beim STEMI jede Minute bis zur Revaskularisation zählt, ist bereits eine außerklinische Diagnostik wichtig. Besteht bei einem Patienten der Verdacht auf ein ACS oder sogar einen akuten Myokardinfarkt wird derzeit nach aktueller Leitlinie die Gabe von Acetylsalicylsäure (150–300 mg intravenös) und Heparin (unfraktioniertes Heparin, 70–100 IE/kg Körpergewicht, maximal 5000 IE intravenös) empfohlen. Zuvor sollten Kontraindikationen ausgeschlossen werden. [4, 58, 64]

In vielen Situationen präsentieren die Patienten einen Bluthochdruck, der einerseits in vielen Fällen vorbekannt ist, oft jedoch der aktuellen Stress- und Angstsituation geschuldet ist. Hier können fraktioniert Opiate oder bei großer Angst auch Benzodiazepine gegeben werden. Sollten auch nach Symptomlinderung weiterhin Blutdrücke über 180 mmHg systolisch vorliegen, können Nitrate zur Symptomkontrolle gegeben werden. Einen Einfluss auf das Überleben haben Nitrate nicht. Bei zusätzlich vorliegender Tachykardie können Betablocker vorsichtig intravenös gegeben werden. [58, 64, 65]

Ist die gemessene Sauerstoff-Sättigung auf $< 90\%$ erniedrigt, sollte sukzessive Sauerstoff verabreicht werden. Ist die Sättigung normwertig, hat eine prähospitale Therapie mit Sauerstoff keinen Vorteil in der Langzeitprognose. [66]

Bei sehr starkem Thoraxschmerz kann Morphin (5–10 mg) zur Analgesie verabreicht werden [67].

Für alle außerklinischen Interventionen gilt: Kontraindikationen erfragen und Risiko und Nutzen abwägen.

Das Ziel der präklinischen Versorgung ist es, den Patienten schnellmöglich in einem klinisch stabilen Zustand in die nächstgelegene entsprechend ausgestatte Klinik zu transportieren.

Das weitere Procedere ist nun abhängig von der Art des akuten Koronarsyndroms. Patienten mit einem STEMI oder einem NSTEMI mit sehr hohem Risikoprofil sollten umgehend notfallmäßig in eine Klinik gebracht werden, die über die Möglichkeit einer Koronarangiographie verfügt. Die Zeit zwischen Diagnosestellung und Intervention sollte nicht mehr als 90 min betragen. [64, 68, 69] Ein sehr hohes Risikoprofil könnte zum Beispiel bei zusätzlich neu aufgetretener Herzinsuffizienz, einer hämodynamischen Instabilität oder neuen lebensbedrohlichen Arrhythmien vorliegen [58]. Patienten mit einem NSTEMI und hohem Risikoprofil sollten innerhalb von 24 h einer invasiven Koronarangiographie unterzogen werden. Beispiele hierfür sind Patienten mit einem bestätigten NSTEMI und dynamischen T-Wellen-Veränderungen oder intermittierenden ST-Strecken-Hebungen. [59, 70] Lange Zeit galt auch ein GRACE (Global Registry of Acute Coronary Events) -Score von über 140 als dringender Indikator für eine frühe Koronarangiographie. Eine neue Studie aus dem Jahr 2024 konnte jedoch keinen Vorteil in Bezug auf die Mortalität, das Myokardinfarkt- oder Schlaganfallrisiko innerhalb eines Jahres im Vergleich zu einer verzögerten Koronarangiographie zeigen [71]. Der GRACE-Risk-Score dient der Abschätzung der Sterblichkeit während des Krankenhausaufenthalts, sowie der Beurteilung des Sterblichkeitsrisikos innerhalb von 6 Monaten nach Entlassung bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom. In diesen Score fließen unter anderem das Alter, der Blutdruck, die

Herzfrequenz, Serum-Kreatinin (mg/dL oder $\mu\text{mol/L}$), Killip-Klasse, Kreislaufstillstand bei Aufnahme, erhöhte Herzmarker (Troponin ng/dL) und die ST-Veränderung mit ein. [72]

Hat ein Patient keine Risikofaktoren, kann abhängig vom klinischen Verdacht eine verzögerte Koronarangiographie erfolgen [73].

Erfolgt bei einem Patienten eine Koronarangiographie, werden zunächst die Koronararterien inklusive der verdächtigen Engstellen mittels Kontrastmittel unter Röntgenkontrolle dargestellt. Nutzt man dieses Verfahren für interventionelle Zwecke im Sinne einer Angioplastie, wird es auch perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA) genannt. Der Zugang erfolgt aufgrund weniger Blutungskomplikationen über die radiale Arterie. [74] Hierbei wird ein Ballonkatheter in die Stenose eingeführt und für kurze Zeit erfolgt die Inflation des Ballons. In den meisten Fällen wird zusätzlich ein Stent implantiert. Dieser kann auch ohne vorherige Dilatation durch einen Ballon positioniert werden. Der Stent wird über den Ballonkatheter in die Stenose vorgeschoben und dort platziert. [75] Heutzutage werden vorwiegend Drug-eluting-Stents (DES) verwendet, die mit antiproliferativen Substanzen beschichtet sind. Dadurch wird das Risiko einer erneuten Stenose im Bereich des Stents reduziert. [76]

Ist eine PTCA bei einem Patienten mit einem echokardiographischen Nachweis eines STEMI im Zeitraum von 120 min nicht möglich, sollte, wenn keine Kontraindikationen vorliegen, innerhalb von 10 min nach Diagnosestellung eine Fibrinolyse erfolgen. Zur medikamentösen Fibrinolyse wird bevorzugt Tissue Plasminogen Activator (t-PA) eingesetzt, welches die Umwandlung von Plasminogen zu Plasmin katalysiert. [77] Auch nach erfolgter Lysetherapie wird die Verlegung in ein Zentrum mit Herzkatheterlabor empfohlen, denn eine PTCA sollte auch nach erfolgreicher Lysetherapie innerhalb von zwei bis 24 h erfolgen [78, 79].

Zusätzlich zur Gabe von Aspirin ist ein periinterventionelles Aufsättigen mit P2Y₁₂-Rezeptor-Inhibitoren wie Prasugrel oder Ticagrelor notwendig. Auch postinterventionell besteht die Empfehlung, eine duale antithrombozytäre Therapie (DAPT) weiterzuführen. Die Dauer der Therapie und die Wahl des P2Y₁₂-Rezeptor-Inhibitors hängen dabei unter anderem von Kontraindikationen und dem Blutungsrisiko ab. [80-82] Eine Antikoagulation sollte ebenfalls Bestandteil der akuten Behandlung sein. Die Wahl des richtigen Medikaments ist dabei ebenfalls von Kontraindikationen, Vorerkrankungen, der Vormedikation und dem geplanten Procedere abhängig. [58, 83]

Ist eine PTCA nicht erfolgreich oder nicht möglich – zum Beispiel aufgrund der Koronaranatomie – kann eine koronararterielle Bypass-Operation in Betracht gezogen werden [84, 85].

Für eine zeitnahe mikrovaskuläre Reperfusion und damit die Begrenzung des irreversibel verletzten Myokards ist die schnelle Wiederherstellung der epikardialen Koronararteriendurchgängigkeit bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt notwendig [86]. Neben der linksventrikulären Auswurffraktion ist die Menge des infarzierten Myokards, die Infarktgröße, als unabhängiger Faktor für schwere unerwünschte Herzereignisse und negative linksventrikuläre Umgestaltung nach Myokardinfarkt von großer Bedeutung [87]. Auch nach erfolgreicher Intervention im Sinne einer Reperfusion wird in einigen Studien von einem Reperfusionsschaden berichtet. Hierbei kommt es paradoxerweise trotz Revaskularisation zu einem akzelerierten Schaden des Myokards mit Arrhythmien, kontraktile Dysfunktion und mikrovaskulären Schäden durch Apoptose und Nekrose. [4, 88]

Verschiedene Pathomechanismen wie Inflammation, zunehmende Zellschwellung, Freisetzung von intramitochondrialen Kalziumphosphat-Partikeln und als Endpunkt die mechanische Zerstörung der Zellmembran der Herzmuskelzelle werden aktuell diskutiert und sind Teil neuer Forschungen für therapeutische und präventive Ansätze zur Behandlung des Reperfusionsschadens. [65, 88-90]

Haben die Patienten bereits einen akuten Myokardinfarkt erlitten, sollten möglichst zeitnah Maßnahmen zur Sekundärprävention eingeleitet werden. Hier gibt es unterschiedliche Bereiche, in denen eine Verbesserung erzielt werden kann. Zunächst sollte eine duale Plättchenhemmung mit ASS und einem P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten, wie zum Beispiel Clopidogrel, initiiert werden. Dyslipidämie sollte mit Hilfe einer Kombination aus Lebensstiländerung und Lipid-senkenden Medikamenten wie Statinen therapiert werden. Das Ziel wäre hier eine LDL-Konzentration von ≤ 55 mg/dL und eine Senkung des initialen Wertes um ≥ 50 %. Der Blutdruck sollte im Durchschnitt systolisch unter 130 mmHg gehalten und bei Diabetikern ein HbA_{1c} von unter 7 % angestrebt werden. Insbesondere bei begleitender Herzinsuffizienz haben sich verschiedene Medikamente in der Sekundärprophylaxe bewährt. Dazu zählen Betablocker, Angiotensin-Rezeptor-Neprilyson-Inhibitor (ARNI), SGLT-2-Inhibitoren (*sodium-glucose cotransporter-2 inhibitor*) und Aldosteronantagonisten, wie zum Beispiel Spironolacton. Möglichst zeitnah nach dem stattgehabten Ereignis sollte eine interdisziplinäre kardiologische Rehabilitation mit dem Ziel der Patientenedukation, psychologischer Betreuung, Unterstützung bei einer gesünderen Lebensweise, Raucherentwöhnung und Einführung in geeignete sportliche Aktivitäten angetreten werden. Bei Patienten mit einer Herzinsuffizienz und einer Ejektionsfraktion von ≤ 35 % nach akutem Myokardinfarkt und vor allem zusätzlich vorliegenden Herzrhythmusstörungen besteht (abhängig vom individuellen Risikoprofil) vierzig Tage nach dem Ereignis die Indikation zur

Implantation eines ICD (implantierbarer Kardioverter-Defibrillator). Hier konnte ein deutlicher Vorteil im Überleben gezeigt werden. [91-103]

Vergleicht man das Outcome der Patienten mit STEMI und NSTEMI lässt sich feststellen, dass die Patienten mit STEMI ein erhöhtes Mortalitätsrisiko im kurzfristigen Verlauf hatten. Patienten mit einem NSTEMI hingegen zeigten eine erhöhte Langzeitsterblichkeit [104, 105].

1.5 Anämie

1.5.1 Überblick

Eine Anämie ist durch eine Verminderung des Hämoglobingehalts entsprechend der WHO-Definition bei Männern auf unter ≤ 13 g/dl und bei nicht schwangeren Frauen auf unter ≤ 12 g/dl und oft auch eine Verminderung des Hämatokrits und der Erythrozytenzahl gekennzeichnet. Abhängig von dem Hämoglobingehalt, kann die Anämie in unterschiedliche Schweregrade eingeteilt werden. Bei Erwachsenen ist ein Hämoglobinwert unter ≤ 8 g/dl als schwere Anämie zu werten. [106, 107]

Die Ursache einer Anämie bedarf einer Abklärung. Sie wird unter anderem nach mittlerem korpuskulärem Volumen (MCV), der mittleren korpuskulären Hämoglobinkonzentration (MCHC) und dem mittleren korpuskulären Hämoglobingehalt (MCH) eingeteilt. [108] Diese Parameter beschreiben die Morphologie der Erythrozyten in Bezug auf ihre Größe (MCV) und ihre Hämoglobinausstattung (MCH, MCHC) und sind essenziell für die Diagnostik von Anämien sowie anderen hämatologischen Erkrankungen. Das MCV (mittleres korpuskuläres Volumen) gibt das durchschnittliche Volumen eines einzelnen roten Blutkörperchens an und ermöglicht somit eine Beurteilung der Erythrozytengröße. Der MCH (mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt) schätzt die Menge an Hämoglobin ab, die ein einzelner Erythrozyt enthält. Dies spiegelt indirekt die Farbdichte der Zelle wider, liefert jedoch keine Informationen über das Zellvolumen. Die mittleren korpuskulären Hämoglobinkonzentration beschreibt die Konzentration von Hämoglobin pro Volumen der Erythrozyten und ist der genaueste Parameter zur Beurteilung der Farbdichte der Zellen (z. B. hypochrom oder normochrom).

Die Kombination dieser Werte ermöglicht eine präzise Beurteilung morphologischer und funktioneller Veränderungen der Erythrozyten, was von zentraler Bedeutung für das

Verständnis der Ursachen einer Anämie ist und die Grundlage für eine gezielte Therapie darstellt.

Der Ursprung einer Anämie kann sehr unterschiedlich sein, wie zum Beispiel eine akute oder chronische Blutung, vermehrte Hämolyse oder Folsäuremangel. Die mit Abstand häufigste Ursache mit ca. 80 % einer Anämie ist die Eisenmangelanämie. Hiervon sind ca. 80 % Frauen. Die zweithäufigste Anämieursachen sind chronische Erkrankungen, die mit einer Eisenverwertungsstörung oder verringerter Erythrozytenbildung einhergehen.

Symptome einer Anämie können zum Beispiel Dyspnoe, Müdigkeit, Blässe, Kopfschmerzen, Konzentrationsschwäche und Tachykardie sein. [6, 108]

1.5.2 Physiologische Funktion von Erythrozyten

Die Hauptaufgabe der Erythrozyten ist der Transport von Sauerstoff (O_2) und Kohlenstoffdioxid (CO_2) zwischen der Lunge und dem peripheren Gewebe. Im Laufe der Jahre wurde außerdem festgestellt, dass Erythrozyten einen großen Einfluss auf weitere biologische Prozesse von hoher Wichtigkeit für die kardiovaskuläre Funktion haben, wie Abb. 1 zeigt. Sie spielen eine Rolle bei der kardiovaskulären Hämostase, als regulatorische Komponente beim Transport von Adenosintriphosphat (ATP) und Stickstoffmonoxid (NO), wie auch aufgrund hoher antioxidativer Kapazitäten im komplexen Redoxsystem. [107, 109] Verschiedene Studien konnten zeigen, dass die Zellen einen kardioprotektiven Effekt haben. Über welche Mediatoren dieser Effekt jedoch vermittelt wird, ist noch nicht eindeutig geklärt [110].

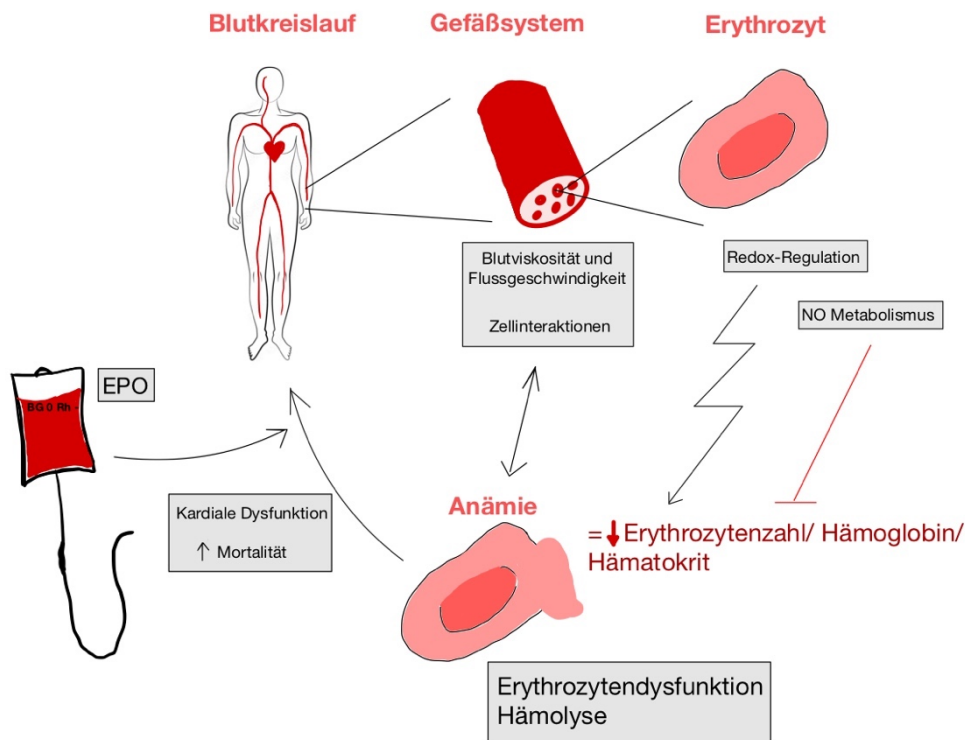


Abb. 1: Erythrozytenfunktion und -dysfunktion. Die oben gezeigte Abbildung zeigt schematisch Teilaspekte der Funktionen und Dysfunktionen von Erythrozyten. Erythrozyten haben neben der Funktion als Transporter von Gasen und Nährstoffen auch einen großen Einfluss auf das Redox-Gleichgewicht und den NO-Metabolismus (NO = Stickstoffmonoxid). Über intrinsische Mechanismen können sie ihre Form als Reaktion auf Änderung des Flusses oder Gefäßdurchmessers ändern und damit die Rheologie des Blutes beeinflussen. Auch über komplexe Zell-Zell-Interaktion und den Hämatokrit haben sie einen Einfluss auf die Fließgeschwindigkeit und die Blutviskosität. Über das vaskuläre Gefäßsystem spielen sie somit eine große Rolle im systemischen Blutkreislauf. Liegt nun eine Anämie und eine damit einhergehende Erythrozytendysfunktion vor, resultiert dies in einer Redox-Dysregulation, einem dysregulierten NO-Metabolismus und einer Hämolyse. Hierüber wird die systemische Hämodynamik, sowie die kardiale Funktionalität nachhaltig beeinträchtigt und resultiert bei kardiovaskulär vorerkrankten Patienten in einer erhöhten Mortalität. Hämostase und Thromboembolierisiko können zum aktuellen Stand nicht effektiv über Bluttransfusionen oder die Gabe von Erythrozyten-stimulierenden Wirkstoffen (EPO = Erythropoetin) beeinflusst werden. Quelle: In Anlehnung an Kuhn, V., et al., Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. *Antioxid Redox Signal*, 2017. 26(13): p. 718-742. [104]

Erythrozyten transportieren NO jedoch nicht nur, sondern synthetisieren NO beim Zustand der Hypoxie über die Reduktion von Nitrit und produzieren NO bei Normoxie über eine aktive endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) und tragen so zum zirkulierenden NO-Pool bei. [111-113] NO wird dabei durch verschiedene Stickstoffmonoxid-Synthasen (NOS) mit Hilfe von molekularem Sauerstoff durch die Umwandlung von L-Arginin zu L-Citrullin synthetisiert [113].

Die beiden oben genannten Aminosäuren kann der menschliche Körper unter anderem über den Harnstoffzyklus synthetisieren [4].

NO wird in den roten Blutkörperchen (RBCs) inaktiviert, indem es mit Oxyhämoglobin (oxyHb) reagiert und Methämoglobin (metHb) sowie Nitrat bildet. NO kann im Plasma, in Geweben und in Erythrozyten zu Nitrit (NO_2^-), Nitrat (NO_3^-) und weiteren Metaboliten oxidiert werden. Unter hypoxischen Bedingungen reagiert NO_2^- mit Desoxyhämoglobin (deoxyHb), wodurch erneut NO gebildet werden kann. Dieser Prozess trägt zur hypoxischen Vasodilatation bei und hemmt gleichzeitig die Thrombozytenaggregation. [107] Zusätzlich kann auch die Hypoxie-induzierte ATP-Freisetzung aus Erythrozyten durch Aktivierung der eNOS im Endothel eine Vasodilatation induzieren. In der Hypoxie wird die lösliche Guanylatcyclase NO bedingt aktiviert, was zu einem Anstieg des zyklischen Guanosinmonophosphats führt und somit die Proteinkinase G im Herzen aktiviert. [107, 110] Somit hat NO neben der plättchenhemmenden Funktion auch eine relaxierende Wirkung auf glatte Muskelzellen. [112] Die eNOS ist in der Membran der Erythrozyten und der Gefäßwand lokalisiert und kann die Gefäßfunktion akut und chronisch beeinträchtigen [113]. Eine kurze schematische Zusammenfassung der Funktion der Erythrozyten im NO-Metabolismus ist in der folgenden Abb. 2 zu sehen.

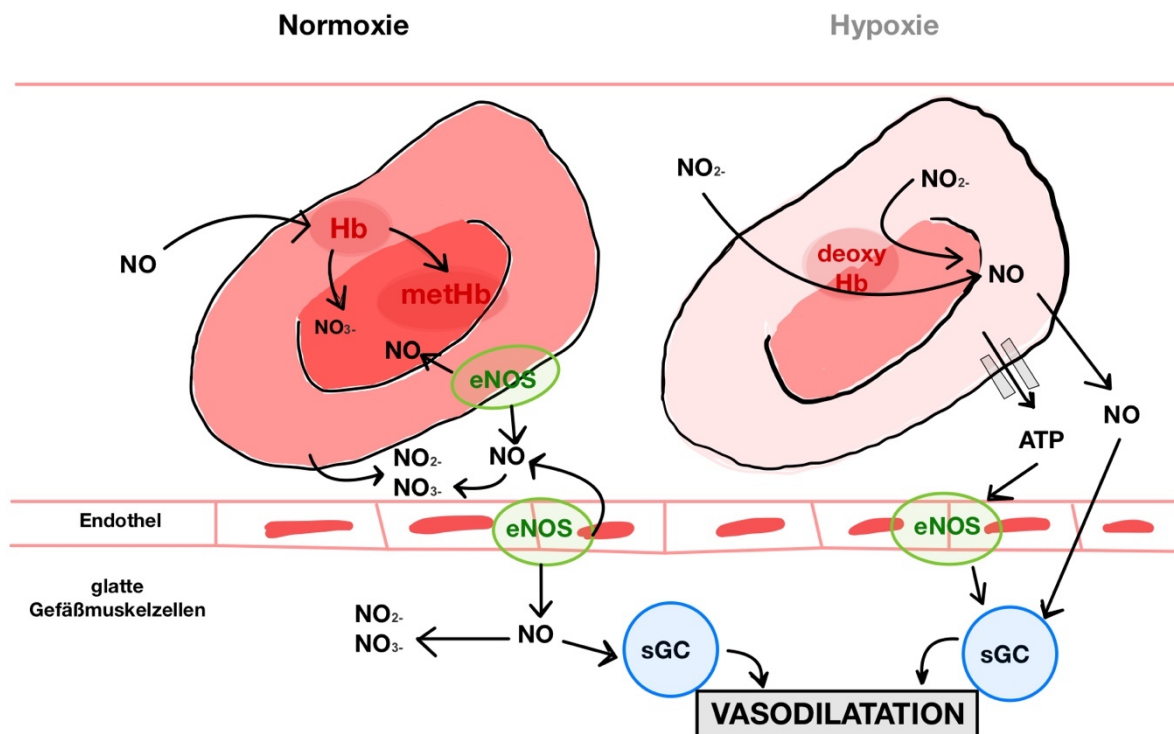


Abb. 2: Einfluss der Erythrozyten auf den NO-Metabolismus. NO wird durch das Enzym eNOS in Endothelzellen aber auch in Erythrozyten produziert. Es vermittelt über die sGC eine Relaxation der glatten Muskelzellen und führt somit zu einer Vasodilatation. Außerdem wird die Plättchenaggregation gehemmt. Unter normoxischen Bedingungen wird das NO in die Erythrozyten aufgenommen und reagiert zusammen mit Hb zu methHb und Nitrat. NO kann außerdem in Plasma, Gewebe und Erythrozyten zu NO₂⁻ oder NO₃⁻ und anderen Metaboliten reagieren. Bei Hypoxie wird vermehrt NO gebildet. Hierbei reagiert unter anderem NO₂⁻ mit deoxyHb zu NO. Neben NO hat auch das ATP, das im hypoxischen Zustand aus den Erythrozyten befördert wird, einen Einfluss auf das Gefäßsystem. Es sorgt ebenfalls über die Aktivierung der eNOS im Endothel für eine Aktivierung der sGC und damit zur Vasodilatation. (ATP = Adenosintriphosphat, deoxyHb = Desoxyhämoglobin, eNOS = endotheliale NO-Synthase, Hb = Hämoglobin, methHb = Methämoglobin, NO = Stickstoffmonoxid, NO₂⁻ = Nitrit, NO₃⁻ = Nitrat, sGC = soluble guanylate cyclase (lösliche Guanylatcyclase)) Quelle: In Anlehnung an Kuhn, V., et al., Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia. Antioxid Redox Signal, 2017. 26(13): p. 718-742. [104]

Bei Diabetikern, Patienten mit arterieller Hypertonie und chronischer Niereninsuffizienz kommt es durch erhöhte Bildung freier Radikale, mechanische Belastung der Gefäßwände und gestörte Stoffwechselprozesse zu einer eNOS-Entkoppelung und reduzierter NO-Bioverfügbarkeit, was eine endotheliale Dysfunktion fördert. Diese Dysfunktion begünstigt die Entstehung von Arteriosklerose und anderen kardiovaskulären Komplikationen. [111, 114-116] Ein Mangel an zirkulierendem NO kann somit unter anderem den Blutdruck erhöhen, die Schwere eines Herzinfarktes determinieren oder die Umgestaltung des linken Ventrikels nach einem Myokardinfarkt beeinflussen. [111, 117-119]

Zusammengefasst kann man sagen, dass Erythrozyten und vor allem die eNOS somit eine kardioprotektive Eigenschaft im akuten Myokardinfarkt besitzen können. [111, 120-122]

Die Ursache der fehlenden Erzeugung von NO im Herzen während der Hypoxie, was die lokale Erzeugung von zyklischem Guanosinmonophosphat stimulieren würde, ist bislang noch ungeklärt. Unter anderem kann die vaskuläre eNOS im Herzen kein NO produzieren, wenn der Sauerstoffgehalt unter einen kritischen Wert fällt – bei den Erythrozyten ist das genaue Gegenteil der Fall. Hier wird die Produktion von NO unter diesen Bedingungen sogar beschleunigt. Zu viel NO in den Kardiomyozyten kann die Mitochondrien schädigen oder auch oxidative Schäden aufgrund von reaktiven Sauerstoffspezies hervorrufen. [110]

1.5.3 Anämie beim akuten Koronarsyndrom

Die Anämie bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom ist nicht selten. Somit haben etwa 30–40 % der Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt eine Anämie oder entwickeln diese im stationären Aufenthalt. [123]

Es gibt einige klinische Studien, die zeigen konnten, dass die Anämie bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt aufgrund von schweren Komplikationen mit einer schlechten Prognose vergesellschaftet ist. Hierzu zählen unter anderem vermehrte Blutungen, thromboembolische Ereignisse, Bluthochdruck und ein erhöhtes Risiko für Arrhythmien. [124, 125]

In der Anämie eines chronisch kranken Patienten ist das Gleichgewicht des Eisenstoffwechsels durch Zytokin-vermittelte inflammatorische Störungen verhindert. Es kommt zu einer vermehrten Eisenaufnahme in die Zellen des retikuloendoplasmatischen Systems und gleichzeitig auch zu einer geringeren Freisetzung des Eisens. Erythroide Vorläuferzellen können dadurch weniger proliferieren und differenzieren.

Die Anämie kann somit nicht durch intrinsische Mechanismen ausgeglichen werden. Bei dieser Form der Anämie handelt es sich um eine normozytäre, normochrome Anämie.

In diesem Zustand ist die Sauerstoffsättigung des Gewebes erniedrigt, denn die Transportmöglichkeiten über Erythrozyten sind eingeschränkt. Reflektorisch sollte nun eine Produktionssteigerung des Hormons Erythropoetin erfolgen, dass die Bildung der Erythropoese zentral steuert. Der Stimulus erfolgt über eine Hypoxie in den Nierenarterien.

Bei chronisch kranken Patienten sorgt die Inflammation jedoch dafür, dass die Produktion und die Wirkung des Erythropoetins sich verringert und die Lebenszeit der Erythrozyten sich deutlich verkürzt. [126-128]

In experimentellen Vorarbeiten der Arbeitsgruppe mit dem isolierten Mausherzmodell konnte gezeigt werden, dass die Erythrozyten von anämischen Mäusen aber auch humane Erythrozyten von Patienten mit ACS und Anämie ihre oben genannten kardioprotektiven Eigenschaften verlieren. Die Anwendung von N-Acetyl-L-Cystein – mit der Funktion freie Sauerstoffradikale abzufangen – konnte die Erythrozyten-vermittelte protektive Eigenschaft aufrechterhalten. An dieser Stelle könnte somit ein potenzieller Therapieansatz bestehen. [111] Die in der Anämie verbleibenden Erythrozyten zeigen sich unter anderem über eine verstärkte Eryptose, eine vermehrte Membranbrüchigkeit, eine erhöhte Produktion von reaktiven Sauerstoffradikalen und eine reduzierte NO-Bioaktivität dysfunktional. [111, 120, 121]

Wir stellten die Hypothese auf, dass auch bei Patienten mit einem akuten STEMI und einer begleitenden Anämie die kardioprotektive Funktion der Erythrozyten eingeschränkt ist.

1.5.4 Therapieoptionen

Zur Behandlung einer Anämie können im klinischen Alltag verschiedene Therapiemöglichkeiten in Erwägung gezogen werden. Zunächst sollten mögliche Ursachen der Anämie, wie zum Beispiel Blutungen, behoben werden.

Des Weiteren gibt es in der Klinik die Möglichkeit der Transfusion von Erythrozytenkonzentraten, um neue Erythrozyten für den Gastransport zur Verfügung zu stellen. Ab welchem Hämoglobingehalt im Blut eine Transfusion erfolgen sollte, hängt dabei sowohl von der Dynamik des Laborparameters Hämoglobin als auch von Patienteneigenschaften und den vorliegenden Erkrankungen ab.

Im Falle des akuten Myokardinfarktes konnte die Durchführung von Bluttransfusionen bislang keine eindeutige Umkehrung der durch die Anämie hervorgerufenen Komplikationen erzielen. [129-131]

Der Vorteil der frühen Transfusion im akuten Myokardinfarkt ist die Aufrechterhaltung eines höheren Hämoglobinspiegels und damit die erhöhte Sauerstoffzufuhr zum geschädigten Myokard. Der Nachteil könnte sein, dass die Transfusion zu einer erhöhten Blutviskosität, Volumenbelastung bei Patienten mit Herzinsuffizienz, vermehrten Gefäßentzündung und Verringerung des NOs führen kann, was eine schlechtere Prognose bedeuten könnte. [132] In den meisten klinischen Studien wurde gezeigt, dass eine restriktive Transfusion ab einem Hämoglobin-Schwellenwert von 7–8 g/dl genau so effektiv ist, wie eine liberale Transfusionsstrategie ab einem Wert von 9–10 g/dl. [130, 132]

Die Ende 2023 veröffentlichten Ergebnisse einer groß angelegten randomisierten Studie (MINT-Studie) zum Vergleich der liberalen oder restriktiven Transfusionsstrategie konnten ebenfalls keine signifikante Risikoreduzierung für einen erneuten Myokardinfarkt oder die Mortalität nach 30 Tagen in einer der beiden Gruppen feststellen [133].

Die Leitlinie aus dem Jahr 2020 der Gesellschaft für Kardiologie-, Herz- und Kreislaufforschung e.V. empfiehlt bei einem infarktbedingten kardiogenen Schock eine an das Alter und den Hämatokrit- beziehungsweise Hämoglobinwert angepasste Transfusionsstrategie. Bei Patienten unter 65 Jahren sollte eine restriktive Strategie (Hämoglobinwert < 7 g/dl) verfolgt werden. Bei Patienten ab 65 Jahren geht man eher von einer Multimorbidität und damit einem erhöhten Anämierisiko aus, sodass hier eine Transfusion ab einem Hämatokritwert von 30 % oder einem Hämoglobinwert von etwa 8 g/dl indiziert ist. Der Grund dafür ist, dass die Fähigkeit zur Anpassung der Sauerstoffversorgung im Alter physiologisch reduziert sein kann. [134]

Auch durch die Gabe von gentechnisch hergestelltem Erythropoetin nach erfolgreicher PTCA, konnte kein positiver Effekt für die linksventrikuläre Funktion, die Infarktgröße oder das Überleben festgestellt werden. Im Gegenteil wurden sogar teilweise höhere Raten an kardiovaskulären Ereignissen festgestellt. [79, 135, 136]

Eine eindeutige und effektive Behandlung der Anämie und der Folgekomplikationen gibt es somit zum aktuellen Zeitpunkt nicht. Die Entscheidung über die bestmögliche Therapie für den Patienten liegt im Ermessen des behandelnden Arztes/ der behandelnden Ärztin.

2 Fragestellung und Hypothese

Die übergreifende Hypothese in diesem Projekt ist, dass die Anämie zu einer erythrozytären Dysfunktion führt, welche im akuten Herzinfarkt die Funktion des linken Ventrikels und die hämostaseologischen Komplikationen negativ beeinflussen kann.

Im Einzelnen werden die folgenden spezifischen Fragestellungen untersucht:

1. Inwiefern beeinflussen Erythrozyten von Anämikern mit akutem Herzinfarkt die myokardiale Funktion im isolierten Langendorff-Modell nach Ischämie und Reperfusion?
2. Inwiefern verändern sich die Ergebnisse im isolierten Langendorff Modell, wenn weitere kardiovaskuläre Komorbiditäten vorliegen?
3. Inwieweit beeinflussen Erythrozyten von Anämikern mit stattgehabtem Herzinfarkt die myokardiale Funktion im isolierten Langendorff-Modell nach Ischämie und Reperfusion, wenn der Myokardinfarkt fünf Tage zurückliegt?
4. Welche Schlüsse lassen sich aus diesen Ergebnissen für den klinischen Alltag der Patienten mit akutem Myokardinfarkt und Anämie ziehen?

3 Material und Methoden

3.1 Versuchstiere

Die STEMI Untersuchungen werden im Einklang mit der Erklärung von Helsinki durchgeführt und sind von der regionalen Ethikkommission genehmigt worden (Genehmigungsnummer: 5903R; 5481R; 2019-557_3).

Die Tierversuchsgenehmigung wurde durch das Landesamt für Natur, Umwelt und Verbraucherschutz (LANUV) Nordrhein-Westfalen erteilt (Aktenzeichen: 81-02.04.2018.A234; 84-02.04.2015.A498; 81-02.04.2020.A73). Die Kompetenz zur fachgerechten Tötung der Tiere mit anschließender Organentnahme wurde durch erfolgreichen Abschluss eines FELASA-Kurses (F048/16) erworben.

Als Versuchstiere wurden männliche Mäuse der Linie C57BL/6J im Alter von elf bis zwölf Wochen eingesetzt. Das Körpergewicht der Mäuse betrug zwischen 25 und 35 g. Die Unterbringung und Pflege der Tiere wurde durch die Zentrale Einrichtung für Tierforschung und wissenschaftliche Tierschutzaufgaben des Universitätsklinikums Düsseldorf gewährleistet. Die Tiere wurden dort in Käfigen der vorgeschriebenen Größe (Typ3) in Gruppen von bis zu fünf Tieren gehalten. Konstante Haltungsbedingungen beinhalteten Futter, Raumtemperatur, Luftfeuchtigkeit und Trinkwasser. Für die Tiere bestand über die gesamte Zeit der Versuchsreihe ein 12-Stunden-Tag-Nacht-Zyklus.

3.2 Materialien

3.2.1 Verwendete Geräte

Gerät	Hersteller
Analysenwaagen (BP210D, PT1200)	Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG, Göttingen, Deutschland
BD FACSVerse™	BD Biosciences, US
Datenakquisitionssystem (Powerlab 8/30)	ADInstruments, US
Dialysekassette (66380)	Thermo Fisher Scientific, Darmstadt, Deutschland
Einhängethermostat (E100)	Lauda Dr. R. Wobser GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen, Deutschland
Infusionspumpe (Precidor)	Infors AG, Bottmingen, Schweiz
ISOTEC Pressure Transducer	Hugo Sachs Elektronik, Harvard Apparatus GmbH, March, Deutschland
Kaltlichtquelle Mikroskop (KL1500LCD)	Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland
Langendorff-Perfusor (<i>Apparatus isolated Heart, Size 1</i>)	Hugo Sachs Elektronik, Harvard Apparatus GmbH, March, Deutschland
Magnetrührer	IKA-Werke GmbH & CO. KG, Staufen, Deutschland
Magnetrührer mit Heizplatte	VWR International GmbH, Darmstadt, Deutschland
Magnetrührstab	Thermo Fisher Scientific, Darmstadt, Deutschland
Manometer	BOSCH + SOHN GmbH u. Co. KG, Jungingen, Deutschland
Mikroskop (MZ6)	Leica Microsystems, Wetzlar, Deutschland
Pinzette, grob (11051-10)	Fine Science Tools GmbH, Heidelberg, Deutschland
Pinzette, fein (11253-25)	Fine Science Tools GmbH, Heidelberg, Deutschland
Präzisionswaage (L2200P)	Sartorius Lab Instruments GmbH & Co. KG, Göttingen, Deutschland
Schere, stumpf (14575-11)	Fine Science Tools GmbH, Heidelberg, Deutschland
Schere, fein (14088-10, 15001-08)	Fine Science Tools GmbH, Heidelberg, Deutschland
Schlauchpumpe REGLO Digital, Ismatec	Cole-Parmer GmbH, Wertheim, Deutschland
Schrittmacher (HSE Stimulator P)	Hugo Sachs Elektronik, Harvard Apparatus GmbH, March, Deutschland
Spektralfotometer/ Fluorometer der Serie DS-11	DeNovix, Wilmington, US
Thermoschüttler	Carl Roth GmbH + Co. KG, Karlsruhe, Deutschland
Wärmelampe, infrarot (SN1947)	Beurer GmbH, Ulm, Deutschland
Wasserbad (LAUDA E100)	Lauda Dr. R. Wobser GmbH & Co. KG, Lauda-Königshofen, Deutschland
Zentrifuge (MIKRO 200R)	Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Deutschland
Zentrifuge (5810R)	Eppendorf SE, Hamburg, Deutschland

Tabelle 1: Übersicht der für die Versuche verwendete Geräte. Quelle: Eigene Darstellung.

3.2.2 Verwendete Medikamente

Bezeichnung	Hersteller
Heparin-Natrium 5000 IE/ml	B. Braun SE, Melsungen, Deutschland
Isofluran	Piramal Critical Care Deutschland GmbH, Hallbergmoos, Deutschland
Ketamin (Ketaset) 100 mg/ml	Zoetis Deutschland GmbH, Berlin, Deutschland
Xylazinhydrochlorid 20 mg/ml	Bayer Vital GmbH, Leverkusen, Deutschland

Tabelle 2: Übersicht der für die Versuche verwendeten Medikamente. Quelle: Eigene Darstellung.

3.2.3 Verwendete Chemikalien, Elektrolyte, Gase, Antikörper

Bezeichnung	Hersteller
Aqua dest. Milli Q	Millipore GmbH, Burlington, US
CD235a APC anti-human Antikörper	BioLegend, San Diego, US
CD41a APC-Vio 770 anti-human Antikörper	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland
Calciumchlorid (CaCl ₂)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Carbogen (95% O ₂ , 5% CO ₂)	Linde GmbH, Pullach, Deutschland
D-(+)-Glucose (C ₆ H ₁₂ O ₆)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Kaliumchlorid (KCl)	KMF optiChem Laborchemie Handels-GmbH, Lohmar
Kaliumdihydrogenphosphat (KH ₂ PO ₄)	KMF Laborchemie Handels-GmbH, Lohmar
Magnesiumsulfat (MgSO ₄)	Merck, Darmstadt, Deutschland
Natriumchlorid (NaCl)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Natriumhydrogencarbonat (NaHCO ₃)	Merck Supelco, Darmstadt, Deutschland
Natriumpyruvat (C ₃ H ₃ NaO ₃)	Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Steinheim, Deutschland
Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung (PBS)	Sigma, Steinheim, Deutschland

Tabelle 3: Übersicht der für die Versuche verwendeten Chemikalien, Elektrolyte und Gase. Quelle: Eigene Darstellung.

3.3 Anämie-Induktion

3.3.1 Akute Anämie

Die Induktion der akuten und chronischen Anämie erfolgte durch eine medizinisch-technische Angestellte des Labors und auf Basis eines bereits im Labor etablierten Protokolls [111]. Der Ablauf der Blutentnahmen ist schematisch in Abb. 3 gezeigt. Für die Induktion der akuten Anämie wurde den oben beschriebenen Versuchstieren an drei aufeinander folgenden Tagen Blut abgenommen. Die Abnahme erfolgte unter vorher induzierter Narkose mittels Isofluran. Hierzu wurden die Tiere zunächst in eine Kammer verbracht, die mit einem Luft-Sauerstoff-Gemisch (Sauerstoffanteil 40 %) und 3 Volumenprozent Isofluran begast wurde. Nach dieser Initialisierung der Narkose erfolgte deren Aufrechterhaltung über eine Nasenmaske mit 2 Volumenprozent Isofluran.

Nach erfolgreich induzierter Narkose erfolgte nun die Blutabnahme. Als Abnahmeorte dienten hierzu abwechselnd der retrobulbäre Venenplexus des rechten und linken Auges und die Vena facialis. Die Abnahme an den Augen erfolgte mit einer nicht abgebrochenen, nicht heparinisierten Kapillare mit einem maximalen Außendurchmesser von 0,8 mm. Für die Abnahme aus der V. facialis wurde die Punktion mittels einer circa 4 mm langen nicht-heparinisierten Lanzette dorso-caudal des H-Wirbels am Unterkiefer durchgeführt.

Pro Tag wurde den Tieren ein Volumen von 200 µl und damit < 15 % des gesamten Blutvolumens abgenommen. Als Volumenausgleich erfolgte die Gabe des doppelten Volumens von NaCl – 200 µl wurden subcutan und 200 µl intraperitoneal gespritzt.

3.3.2 Chronische Anämie

Die Induktion der chronischen Anämie erfolgte über einen Zeitraum von sechs Wochen. Die Abnahmen erfolgten jeweils an den ersten drei Tagen der Versuchsreihe und dann jeweils alle drei Tage. Als Blutabnahmestellen dienten hier ebenfalls der retrobulbäre Venenplexus des rechten und linken Auges, die Vena facialis beidseits und außerdem die Vena caudalis mediana. Die Abnahme am Auge und an der V. facialis unter Narkose erfolgte wie bereits zuvor beschrieben. Der Venenplexus hinter dem Auge wurde erst nach vierzehn Tagen erneut punktiert, um die Augen der Tiere nicht zu beschädigen. Bei der Schwanzvene wurde die Abnahme ebenfalls unter Isonarkose und nach vorherigem Hyperämisieren des Schwanzes durchgeführt. Hierzu wurde eine 22–23 G Kanüle mit abgesägtem Konus verwendet.

Auch hier wurde den Tieren jeweils 200 µl Blut abgenommen und als Volumenausgleich 400 µl NaCl subcutan beziehungsweise intraperitoneal injiziert.

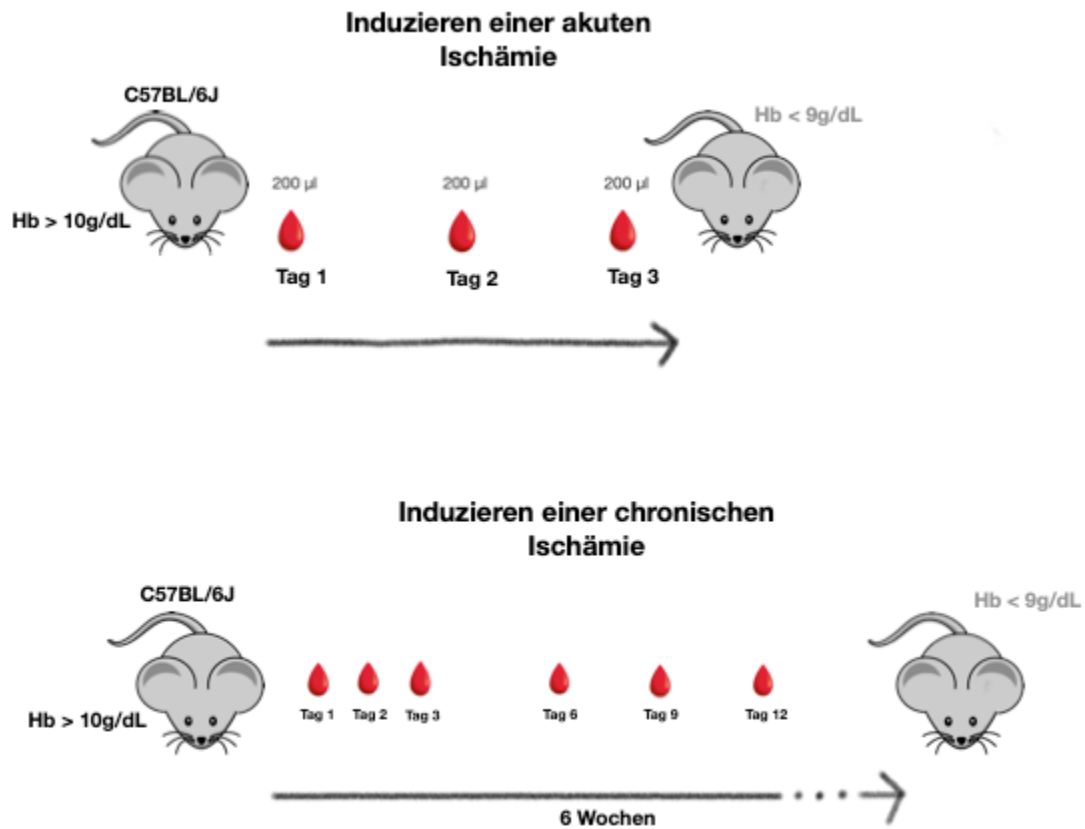


Abb. 3: Blutabnahmeschema zur Induktion einer akuten und chronischen Anämie. Zur Induktion der akuten Anämie werden Mäusen der Linie C57BL/6J mit einem Hb-Wert über 10 g/dL an drei aufeinander folgenden Tagen jeweils 200 µl Blut entnommen und NaCl-Lösung als Volumenausgleich injiziert. Am letzten Tag wurde ein Blutbild angefertigt, wobei ein Hb-Zielwert von unter 9 g/dL angestrebt wurde. Bei der chronischen Anämie wird die gleiche Mauslinie mit dem gleichen Ausgangs-Hb-Wert verwendet. Hier erfolgen die Blutentnahmen zunächst an Tag eins bis drei täglich und anschließend jeden dritten Tag über einen Zeitraum von sechs Wochen. Es werden ebenfalls 200 µl Blut entnommen und 400 µl NaCl-Lösung substituiert. Auch in diesem Fall muss vor Beginn des Experiments der Hb-Wert unter 9 g/dL liegen. (g/dL = Gramm pro Deziliter, Hb = Hämoglobin, µl = Mikroliter, NaCl = Natriumchlorid) Quelle: Eigene Darstellung [108]

3.4 Eigenschaften des isoliert perfundierten Herzens im Langendorff-Modell

Bereits vor über einhundert Jahren entwickelte der Physiologe Oskar Langendorff eine Technik, die es ermöglichte, ein vom Körper- und Lungenkreislauf komplett isoliertes Säugetierherz über mehrere Stunden am Schlagen zu halten. Dadurch ist es bis heute möglich gewesen, immer wieder neue Erkenntnisse zu der kontraktilen Leistung des Herzens, dem koronaren Blutfluss und dem Stoffwechsel des Herzens in den verschiedensten konstruierten Situationen zu erlangen.

Die Präparation des Herzens ist bis heute unverändert. Über eine Kanüle in der Aorta ascendens wird das Herz mittels einer sauerstoffreichen Flüssigkeit retrograd perfundiert. Durch den aufgebauten Druck verschließt sich die Aortenklappe und es entsteht eine dem diastolischen Zustand vergleichbare Situation im Herzen. Das Perfusat verlässt das Herz durch die Koronargefäße über den bei der Präparation eröffneten Sinus coronarius.

Das Modell ermöglicht es, verschiedenste Fragestellungen am isolierten Herzen zu untersuchen, wie zum Beispiel pharmakologische Effekte, Ischämie/ Reperfusion sowie die Bestimmung und Beeinflussung von Infarkten.

Der Vorteil dieses Experiments besteht darin, dass über mehrere Stunden ein stabiles isoliertes funktionelles System erschaffen werden kann, das unabhängig von systemischen Einflüssen – wie etwa hormonellen oder neuronalen Faktoren – arbeitet.

Die Nutzung des Langendorff-Modells ist in zwei verschiedenen Modi möglich: mit konstantem hydrostatischem Druck oder konstanter koronarer Durchflussrate. Das Einstellen eines konstanten Perfusionsdrucks am Manometer ermöglicht es dem Herzen, sich in pathologischen Situationen – wie einer Ischämie – über autoregulatorische Prozesse, beispielweise durch Anpassung der Kontraktionskraft, an veränderte Gegebenheiten anzupassen. [137]

3.5 Versuchsaufbau

3.5.1 Ein Überblick über die Funktionen des Langendorff-Modells

Nach der Präparation des Herzens, die im Folgenden noch beschrieben wird, wurde die Aorta auf eine Kanüle gezogen und das Herz an das Langendorff-System angeschlossen. Der innere Durchmesser der Kanüle betrug 1,3 mm und war somit in etwa so groß wie der Durchmesser der Mosaorta. Mit Hilfe zweier Pinzetten konnte die elastische Aorta über den etwas größeren äußeren Durchmesser der Kanüle gezogen werden. Die Aorta wurde bis knapp oberhalb der Aortenklappe aufgezogen, um eine Beschädigung der Aortenklappe zu verhindern und eine Perfusion der Koronararterien über die Ostien zu gewährleisten. Hatte die Aorta die richtige Position auf der Kanüle erreicht, konnte sie mit Hilfe einer Fadenligatur dort befestigt werden. Dabei musste darauf geachtet werden, dass der Faden nicht zu fest zugezogen wurde, um die Aorta nicht zu verletzen aber auch nicht zu lockergelassen wurde, da das Herz so durch zu starkes Schlagen von der Kanüle rutschen würde.

Die Kanüle konnte vorsichtig unter Vermeidung von Luftblasen in die Langendorff-Apparatur gehängt werden.

Nun wurde das Herz von der durch das Modell fließenden Krebs-Henseleit-Lösung perfundiert. Die Lösung musste zuvor in einem Wasserbad auf 39,3 °C erwärmt und konstant während des ganzen Experiments auf dieser Temperatur gehalten werden. Um *ex vivo* optimale Bedingungen für die Maus Herzen zu erreichen, wurde das Perfusat oxygeniert. Hierzu erfolgte die Begasung mit Carbogen (95 % O₂ und 5% CO₂) über eine Glasfritte.

Das vorbereitete Perfusat konnte mittels einer Rollerpumpe (Firma Cole-Parmer GmbH) durch die Langendorff-Apparatur geleitet werden. Nach Durchquerung des Aortenblocks und der Aortenkanüle floss das Perfusat direkt ins Herz und konnte es so mit Sauerstoff und Nährstoffen versorgen, sodass es wieder zu Schlagen begann. Innerhalb des Aortenblocks befanden sich einige Stationen und Einheiten, die im Folgenden näher beschrieben werden.

Die Compliance-Kammer, als letzte Station vor dem Durchfluss in die Aortenkanüle, diente dem Abfangen von eventuell entstanden Luftblasen, die in dem Herzen eine Luftembolie auslösen könnten und den Versuch somit beendet hätten. Außerdem befanden sich in dem Aortenblock ein Druckabnehmer (BOSCH + SOHN GmbH u. Co. KG) und Durchflussmesser (Firma Hugo Sachs Elektronik). Somit konnten sowohl der Fluss als auch der Perfusionsdruck bestimmt werden. In unserem Fall wurde der Perfusionsdruck mittels einer manuellen drehbaren Druckpumpe konstant eingestellt, sodass daraus ein sich mit den Bedingungen synchron ändernder Fluss resultierte. Der aktuelle Perfusionsdruck wurde auf einem Druckmanometer abgelesen. Das Perfusat, das durch die Koronarien strömte und vom

schlagenden Herz in die Herzkammer abtropfte, wurde über einen Schlauch abgeleitet. Die Herzkammer, bestehend aus doppelwandigem Plexiglas, wurde ebenfalls mit der 39,3 °C warmen Lösung durchströmt. Somit konnte eine thermostabile Umgebung für das empfindliche Herz geschaffen werden.

Überschüssiges Perfusat lief über einen Überlaufschlauch zurück in den Behälter mit dem begasten, erwärmten Perfusat.

Dieser Aufbau entspricht dem Grundaufbau des Langendorff-Modells, wie man in Abb. 4 erkennen kann.

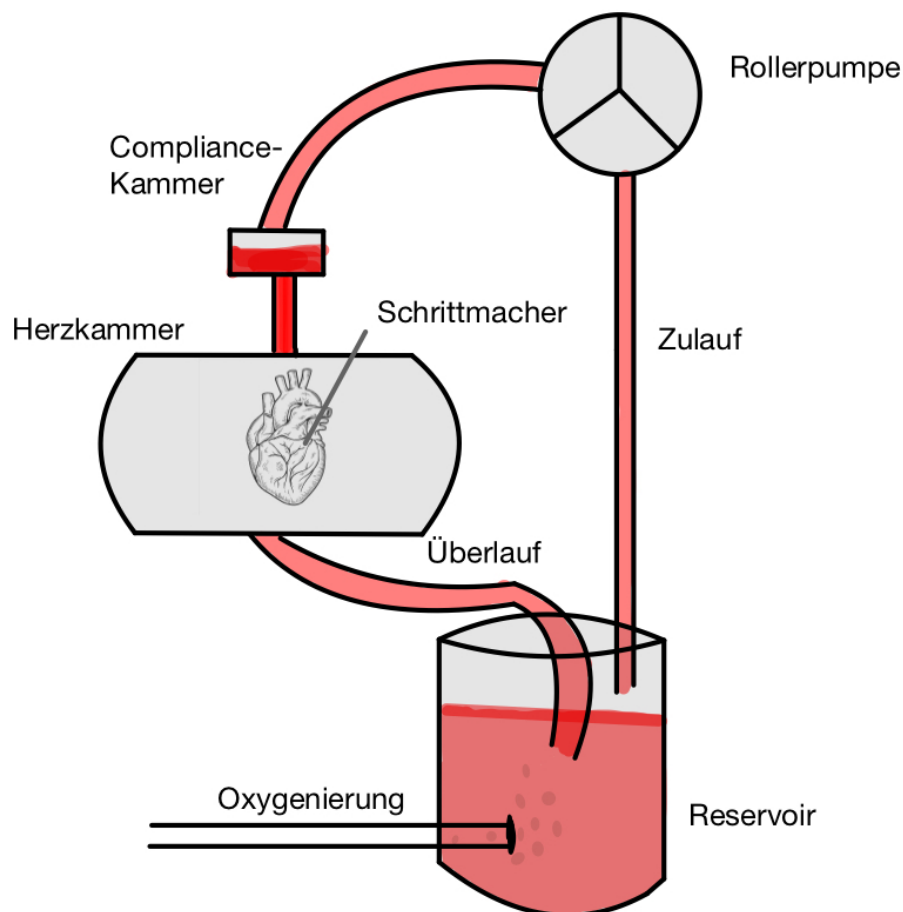


Abb. 4: Schematischer Aufbau eines Langendorff-Modells. Die vorliegende Abbildung zeigt den Grundaufbau des Langendorff-Modells. In der Herzkammer wird das Herz auf der Kanüle aufgehängt und mit einem Schrittmacher stimuliert. Vorgesaltet ist eine Compliance-Kammer als wichtiger Bestandteil des Aortenblocks. Hier werden Luftblasen abgefangen, um mögliche Luftembolien zu vermeiden. Das Perfusat zirkuliert über die Rollerpumpe und wird dann über die Compliance-Kammer in das Herz geleitet. Das überschüssige Perfusat tropft aus dem Herz und wird über einen Überlaufschlauch zurück in den Reservoir Behälter geleitet. Dort wird es erwärmt, oxygeniert und über einen Zulaufschlauch erneut über die Rollerpumpe geleitet. Quelle: Eigene Darstellung

Für die Durchführung bestimmter Versuche wurden noch weitere Systeme des Gerätes genutzt. Um Patientenblut in das Herz leiten zu können befand sich oben an der Langendorff-Apparatur ein Zulauf, mit dessen Hilfe man Medikamente im Sinne von Agonisten und Antagonisten beziehungsweise in diesem Fall auch Erythrozyten direkt über die Kanüle in das Herz perfundieren konnte. Somit müssen die Stoffe nicht die gesamte Herzkammer durchqueren, um in das Herz zu gelangen. Dies hatte den Vorteil, dass man nicht viel Material brauchte, diese Chemikalie oder auch Blutbestandteile gut dosieren konnte und zusätzlich nicht das Gerät unnötig verschmutzte. Die Erythrozyten wurden mit Hilfe einer Infusionspumpe mit konstanter Geschwindigkeit über 1 min in das Herz perfundiert. Somit konnte sichergestellt werden, dass bei jeder Patientenprobe die gleiche Menge an Erythrozyten im Herz ankam.

Für die Versuche mit Plasmaproben wurde ein weiteres Teil des Langendorff-Modells genutzt. Dieses bestand aus einem zusätzlichen Schlauchsystem mit Zu- und Ablaufschlauch, das es ermöglichte, das Plasma über die Rollerpumpe rezirkulieren zu lassen. Das Plasma wurde – ebenso wie zuvor das Perfusat – im Wasserbad unter denselben Bedingungen erwärmt und oxygeniert. Über Zu- und Ablaufschlauch zirkulierte nun das Plasma in der Apparatur und wurde konstant erwärmt und oxygeniert. Um das Plasma in das Herz zu leiten, konnte der Zulaufschlauch im Plasma über einen Drei-Wege-Hahn mit dem Zulaufschlauch im Perfusat verbunden werden, sodass nur noch Plasma und kein Perfusat das Herz durchströmte. Dies ermöglichte ein schnelles Umstellen von Perfusat auf Plasma und umgekehrt. Somit konnte das System keine Luft ziehen und das Herz wurde durchgehend perfundiert. Der Ablaufschlauch wurde in einen separaten Auffangbehälter geleitet, um das bereits durchgelaufene Plasma zu entsorgen.

Zusätzlich zum Perfusionsdruck und koronaren Fluss sollte die mechanische Aktion des Herzens in Form der Kontraktion des linken Ventrikels gemessen werden. Zusätzlich konnten der minimale ($LVdP/dt_{\min}$) und der maximale ($LVdP/dt_{\max}$) entwickelte Druck der linken Herzkammer abgeleitet werden. Hierzu wurde ein kleiner Ballon aus Polyvinylchlorid in den linken Ventrikel des Herzens eingeführt. Dieser Ballon war an einem kleinen Schlauch befestigt, über den er mit Hilfe einer Spritze mit Millipore befüllt werden konnte, bis er den Ventrikel komplett ausfüllte. Die Kontraktionen des linken Ventrikels übertrugen sich so auf den Ballon und konnte mittels eines Druckwandlers detektiert werden.

Ein weiteres Bauteil im Langendorff-Modell war eine Schrittmacherelektrode, die an den rechten Vorhof beziehungsweise Ventrikel angelegt wurde. Dadurch konnte bei allen Versuchen eine einheitliche Herzfrequenz erreicht werden.

3.5.2 Ballon-Katheter

Der Ballon-Katheter war ein selbst hergestelltes Hilfsmittel zur Messung der mechanischen Herzaktion des linken Ventrikels. Er wurde aus einem Stück Folie aus Polyvinylchlorid hergestellt, die man zunächst vorgedehnt hatte. Anschließend wurden einige Tropfen Millipore in der Mitte der Folie platziert und ein Ballon geformt, in dem ein circa zehn Zentimeter langer Tubus mit Kanüle platziert wurde. Der Ballon wurde nun über den Tubus bis auf die passende Größe aufgefüllt und anschließend mit einer Fadenligatur daran befestigt. Die Größe des Ballons wurde so gewählt, dass er den linken Ventrikel komplett ausfüllte. Das Wichtigste an der Herstellung des Ballons war, dass keine Luftblasen in dem System waren, die die Signalübertragung vom Ballon auf den Druckmesser gestört hätten.

Der Ballon konnte durch vorsichtiges Zusammendrücken kurzzeitig entleert werden und hatte so die richtige Größe, um über den linken Vorhof in den linken Ventrikel geschoben zu werden ohne wichtige Strukturen zu zerstören. Hatte er seine Endposition erreicht, konnte er über die Kanüle vorsichtig und luftblasenfrei mit Millipore aufgefüllt werden. Über einen Drei-Wege-Hahn wurde er mit einer Spritze und dem Druckmesser verbunden. Über die Spritze konnte Millipore abgelassen und zugeführt werden, sodass eine Vorlast mit einem enddiastolischen Druck von mindestens 10 mmHg simuliert werden konnte.

3.5.3 Herstellung der Krebs-Henseleit-Lösung

Die Krebs-Henseleit-Lösung wurde bereits 1932 von Hans Krebs und Kurt Henseleit entwickelt und seit jeher für eine Vielzahl an zum Beispiel Perfusions- und Organbadexperimente verwendet.

Die für die Perfusion und Präparation des Herzens verwendete Lösung wurde frühestens zwei Tage vor Versuchsbeginn hergestellt und aufbereitet. Auch zur Ansetzung des Plasma-Versuchs wurde dieser frisch angesetzte Puffer verwendet, um das Wachstum von Bakterien und Pilzen zu verhindern und für alle Versuche ähnliche Bedingungen zu schaffen.

Die hier verwendete Lösung war eine modifizierte Krebs-Henseleit-Lösung, bestehend aus NaCl (118 mM), KCl (4,7 mM), MgSO₄ (0,8 mM), NaHCO₃ (25 mM), KH₂PO₄ (1,2 mM), Glucose (5 mM) und Natriumpyruvat (110 mM). Diese Stoffe wurden zunächst abgewogen, in ein Becherglas gegeben und anschließend mit Millipore aufgefüllt. Anschließend wurde die Lösung für circa 15 min mit Carbogen (95 % O₂ / 5 % CO₂) begast und mit Hilfe eines Magnetrührers und einer Rührplatte gerührt.

Im nächsten Schritt wurde CaCl₂ (2,5 mM) hinzugefügt und die Lösung wurde weitere 5 min gerührt und begast. Das CaCl₂ wurde erst später hinzugegeben, um das Ausfallen des Calciums und Phosphats zu verhindern. Durch das Begasen mit Carbogen konnte ein konstanter, physiologische pH-Wert von 7,4 erreicht werden. Außerdem ermöglichte die Oxygenierung der Lösung erst eine ausreichende Versorgung des Herzens mit Sauerstoff. Deshalb musste der Puffer nicht nur bei der Herstellung, sondern auch etwa dreißig 30 min vor Versuchsbeginn sowie während des gesamten Versuchablaufs begast werden. Die 30 min Vorbereitungszeit wurden außerdem dazu genutzt das Perfusat auf die richtige Temperatur von 39,3 °C zu erwärmen.

Vor Verwendung der Krebs-Henseleit-Lösung musste diese zunächst mittels Filterpapier mit einer maximalen Porengröße von 0,45 µm filtriert werden. So konnten Staubpartikel entfernt werden, die eventuell die sehr kleinen Koronararterien blockiert und eine Embolie ausgelöst hätten.

Die Lagerung der Lösung erfolgte bei maximal 4 °C und für höchstens zwei Tage.

Ziel der Aufbereitung und Vorbereitung der Krebs-Henseleit-Lösung war es, auch *ex vivo* möglichst physiologische Bedingungen für das Mausherz zu schaffen und es sowohl mit Nährstoffen als auch mit Sauerstoff adäquat zu versorgen.

3.5.4 Präparation/ Herzentnahme

Zunächst erfolgte die Anästhesie der Mäuse mit einer Mischung aus Xylazin und Ketamin. Dies wirkte sowohl als Sedativum und Muskelrelaxans als auch als Analgetikum. Die Dosierung erfolgte gewichtsadaptiert. Injiziert wurde intraperitoneal. Nach circa 10 min wurden den Mäusen zur Vermeidung von Thromben 2 ml Heparin intraperitoneal injiziert. Mittels „*Tail Pinch*“ konnte die Narkosetiefe überprüft werden.

Das Narkotisieren und Töten der Tiere mit induzierter Anämie, einschließlich der *Sham*-Tiere, erfolgte durch eine medizinisch-technische Angestellte des Labors.

Das Tier wurde dann in Rückenlage an den oberen Extremitäten und dem Schwanz auf dem Präparationstisch fixiert.

Im ersten Schritt der Thorakotomie erfolgte nun das Entfernen der Haut über dem Sternum mittels gebogener Schere. Dazu wurde die Haut über dem Sternum mit einer Pinzette leicht angehoben und ein vertikaler Schnitt gesetzt. Im Anschluss wurde das Xyphoid mit der Pinzette fixiert und es folgte die Inzision des Thorax beziehungsweise der Faszie mit einem horizontalen Schnitt. Um nun das Sternum aufklappen zu können wurde auf beiden Seiten ein diagonaler Schnitt durch die Rippen in Richtung der Achseln durchgeführt und gleichzeitig das Xyphoid leicht angehoben. Nun wurden die Organe des Thorax sichtbar. Als nächster Schritt erfolgte die Mobilisierung des Herz-Lungen-Pakets aus dem Thorax. Hierzu wurde der Gefäßstrang am unteren Thoraxrand – bestehend aus Vena cava inferior und Aorta descendens – mit einer feinen Pinzette gefasst und unterhalb mit der Schere durchtrennt. Im Folgenden wurden die Gefäße aus dem Thorax gelöst, indem kleine Inzisionen direkt über der Wirbelsäule in cranialer Richtung erfolgten. Der Gefäßstrang wurde dabei leicht anteflektiert, sodass auch die cranialen Anteile abgetrennt und das Herz-Lungen-Paket aus dem Thorax mobilisiert werden konnten. Alle oben genannten Schritte mussten mit großer Sorgfalt und Vorsicht durchgeführt werden, um keine Strukturen zu verletzen.

Nach erfolgreicher Entnahme erfolgte ein sofortiges Ablegen in eine auf 4 °C gekühlte Kaltschale. Diese Kaltschale war mit bereits oxygenierter Krebs-Henseleit-Lösung und zusätzlich 9 ml Heparin gefüllt. Somit war das Herz während der Präparationszeit mit Nährstoffen und Sauerstoff versorgt und gleichzeitig konnte durch die Kühlung der Metabolismus runtergefahren werden. Durch die Heparinisierung konnte das Risiko für eine Thrombose minimiert werden.

Im nächsten Schritt wurden – mit Hilfe einer feinen, geraden Schere und der auch zuvor schon benutzten Pinzette – die einzelnen Lungensegmente abgetrennt. Außerdem wurden Thymus, Ösophagus und Trachea unter leichtem Zug abgetrennt, ohne dabei umliegende Strukturen zu beschädigen.

Nun wurde unter Zuhilfenahme des Mikroskops die Aorta frei präpariert und proximal des Truncus brachiocephalicus auf eine Länge von circa 1 cm gekürzt, was das Aufziehen auf die Kanüle erleichterte.

Um später den Ballonkatheter später korrekt im linken Ventrikel platzieren zu können, wurde ein Zugang durch den linken Vorhof geschaffen, indem die Venae pulmonales abgetrennt

wurden. Übriges Fett- und Bindegewebe wurde vorsichtig entfernt, um ein regelmäßiges Schlagen und einen ungehinderten Durchfluss zu ermöglichen.

Bevor die Aorta auf die Kanüle aufgezogen wurde, wurde zusätzlich die Arteria pulmonalis inzidiert, um einen ungehinderten Abfluss des Perfusats über die Koronarien zu gewährleisten. Mithilfe zweier feiner, leicht gebogener Pinzetten konnte die Aorta nun über die Kanüle gezogen und mit einer Fadenligatur fixiert werden.

Wie zuvor beschrieben erfolgte dann der möglichst luftfreie Anschluss an die Langendorff-Apparatur.

Der ganze Prozess – von der Eröffnung des Thorax bis zum Anschluss an die Apparatur – sollte maximal 6 min dauern, um ischämiebedingte Schäden zu vermeiden.

3.5.5 Aufbereitung der Patientenproben

Aufbereitung Erythrozyten

Das Blut für die Aufbereitung der Erythrozyten musste sehr frisch abgenommen sein und wurde danach direkt auf Eis gestellt. Benötigt wurden 6 ml Vollblut, die in Lithium-Heparin-Röhrchen abgenommen wurden. Diese 6 ml wurden nun auf drei 2-ml-Eppendorf Safe-Lock-Tubes aufgeteilt und anschließend für 10 min bei 800 g und 4 °C zentrifugiert. Im Anschluss wurde das Plasma vorsichtig mit einer Pipette in drei weitere Tubes abpipettiert. Außerdem wurde der *Buffy-Coat* entfernt und verworfen. Das Plasma wurde unmittelbar in Flüssigstickstoff eingefroren und anschließend bis zur weiteren Verwendung bei –80 °C im Gefrierschrank gelagert.

In die anderen Tubes wurden nun 1000 µl der Krebs-Henseleit-Lösung gegeben. Diese musste zuvor auf Eis gekühlt und mit Carbogen begast werden. Um die beiden Substanzen zu vermengen, wurde vorsichtig resuspendiert, indem man auf- und abpipettierte. Anschließend wurde erneut bei 800 g und 4 °C für 10 min zentrifugiert. Der Überstand wurde abpipettiert und erneut wurde Perfusat hinzugegeben. Zur Gewinnung einer reinen Erythrozytenfraktion wurde dieser Waschschrift nun dreimal wiederholt.

Um nun bei allen Proben einen einheitlichen Hämatokritwert von 40 % zu erreichen, wurden 420 µl (60 %) kaltes, begastes Perfusat mit 280 µl (40 %) Erythrozyten-Pellet resuspendiert. In die Pipette wurden 282 µl aufgezogen, da einige Erythrozyten in der Pipettenspitze verbleiben. Das Erythrozyten-Perfusat-Gemisch wurde nun für 12 min bei 38 °C im Thermoschüttler (Carl Roth GmbH + Co) erwärmt und ganz leicht geschüttelt.

Anschließend konnte die fertig aufbereitete Probe mit Hilfe einer Kanüle in eine 2 ml Spritze aufgenommen werden. Diese wurde über den Zulaufschlauch mit der Langendorff-Apparatur verbunden und in den Perfusor eingespannt.

Aufbereitung des Plasmas

Für die Versuche mit Patientenplasma wurden die wie zuvor beschrieben in Stickstoff eingefrorenen Proben aufgetaut. Im Anschluss wurden sie bei 4 °C und 4500 G für 10 min zentrifugiert. Es bildete sich eine weiße Ablagerung auf dem Boden der Tubes. Der Überstand in Form von Plasma wurde in neue Tubes überführt, das Sediment wurde entsorgt. Nun wurden 4 ml Plasma in eine 5 ml Spritze mit Hilfe einer Kanüle aufgenommen. Die Kanüle wurde gegen eine feine Nadel ausgetauscht, um ein einwandfreies Einfüllen in die Dialysekassette zu gewährleisten. Nach dem Einfüllen in diese Dialysekassette (Thermo Fisher Scientific), die Partikel mit einer Größe von 10 kDA dialysiert, wurde die überschüssige Luft aus der Kassette gezogen. Für die Dialyse wurde die Kassette nun in eine bereits vorbereitete Küvette mit 80 ml kaltem Perfusat und eingelegtem Rührfisch gelegt und untergetaucht. Die Küvette wurde nun auf einen Magnetrührer in einen 4 °C kalten Raum gestellt. Unter leichtem Rühren erfolgte nun die Dialyse des Plasmas für 24 h.

3.6 Überblick über die Funktionsweise der Durchflusszytometrie

Bei der Durchflusszytometrie, auch FACS (*Fluorescence-Activated Cell Sorting*) genannt, handelt es sich um eine komplexe Methode, die einzelne Zellen in einer Suspension, anhand bestimmter Eigenschaft sortiert und analysiert. Die Durchflusszytometrie wird seit 1969 benutzt und wurde erstmals durch Leonard Herzenberg beschrieben. [138] Die initial entwickelte und benutzte Durchflusszytometrie konnte die Zellen lediglich anhand ihrer Größe detektieren. Mittlerweile können bis zu zwanzig Parameter gleichzeitig analysiert werden, wozu neben der Zellgröße auch die Granularität und die Antigen-Expressionen zählen. Das Prinzip der Durchflusszytometrie beruht auf der Lichtstreuung und Fluoreszenzemission. Sie entsteht, wenn Licht der Lichtquelle auf die sich bewegenden Partikel in der Suspension trifft.

Die Hauptkomponenten des Durchflusszytometers sind ein Flusskanal, die Optik mit verschiedenen Lasern, multiple Detektoren und ein Computer, der die Impulse in sogenannte FACS-Plots umwandelt. Die eingebrachte Probe mit den zu analysierenden Zellen wird mittels laminarer Strömung in Richtung der drei Laser mit unterschiedlichen Wellenlängen (in unserem Labor 405nm, 488nm und 630nm) geleitet. Das Licht wird an den Zellrändern abgelenkt – ein Vorgang, der als Lichtstreuung bezeichnet wird – und anschließend mittels Detektoren erfasst. Dabei treten zwei Arten der Streuung auf: FSC (forward scatter) und SSC (sideward scatter). FSC ist dabei die Lichtstreuung entlang der Achse des Laserstrahls und damit proportional zur Zelloberfläche und -größe. SSC ist proportional zur Zellgranularität. Jede Zelle hat einen eigenen Wert für FSC und SSC.

Um die Zellen nun anhand weiterer verschiedener Eigenschaften – in diesem Falle vor allem spezifische Antigene – zu differenzieren, werden die passenden Antikörper eingesetzt, die an spezielle Fluorochrome gebunden sind. Jedes Fluorochrom hat dabei ein bestimmtes Licht-Absorptions- und Fluoreszenz-Emissionsspektrum. Vor der Durchführung der Versuchsreihe ist somit bereits mit der emittierten Wellenlänge ein Antikörper und damit auch das passende Antigen definiert. Die detektierten Werte werden nun mittels Computer in ein FACS-Plot umgewandelt, was die Zellverteilung repräsentiert. [139-141]

3.7 Versuchsprotokolle

Ziel der durchgeführten Experimente war es, die Auswirkungen einer Anämie in verschiedenster Form auf die Funktionsweise des Herzens im *ex vivo*-Modell zu untersuchen.

3.7.1 STEMI – Erythrozyten-Protokoll

Um den Einfluss der Erythrozyten von Patienten mit einem akuten STEMI im Langendorff-Modell zu untersuchen, musste das Experiment innerhalb von 24 h (in Ausnahmefällen nach 48 h) nach dem akuten Ereignis erfolgen. Ausnahmefälle waren der Gegebenheit geschuldet, dass zunächst eine Testung auf Infektionskrankheiten (zum Beispiel COVID-19) erfolgen musste, um die Sicherheit der Experimente zu garantieren.

Zu Beginn eines Versuchs musste die bereits hergestellte Krebs-Henseleit-Lösung im Wasserbad auf 39,3 °C erwärmt und mit Hilfe von Carbogen oxygeniert werden. Nach circa 15 min wurde das Perfusat durch die Langendorff-Apparatur geleitet, um das System zu erwärmen und ein luftblasenfreies Anschließen später zu ermöglichen. Dazu wurde zusätzlich die Compliance-Kammer mit Perfusat befüllt, um eventuell bestehende Luftblasen darin abzufangen und eine Luftembolie zu verhindern. Der aktuelle Nullfluss des Systems wurde vor jedem Versuchsdurchlauf notiert. Das Perfusat wurde über ein Schlauchsystem rezirkuliert. Der Zulauf für die Erythrozyten wurde mit dem erwärmten Perfusat gespült und im Anschluss mit einem ebenfalls mit Perfusat befüllten Zulaufschlauch luftblasenfrei verbunden.

Für die Aufbereitung der Erythrozyten wurde ein Greiner mit ca. 25 ml oxygenierter und gekühlter Krebs-Henseleit-Lösung befüllt und auf Eis bereitgestellt.

Um das Mauserz im Langendorff-Modell und die Erythrozyten der Patienten möglichst vor äußeren Einflüssen zu schützen, die Experimentalzeit möglichst kurz zu halten und einheitliche und vergleichbare Ergebnisse zu erzielen wurden die folgenden Schritte ineinander verschachtelt.

Nach erfolgreicher Vorbereitung wurde der erste Schritt der Erythrozytengewinnung initiiert: das frisch venös vom Patienten entnommene Blut wurde in Tubes gefüllt und anschließend zentrifugiert. In der Zwischenzeit wurde die Maus narkotisiert. Nach Abnahme des Plasmas und der Einleitung des ersten Waschschrilles erfolgte dann die Präparation des Herzens. Bevor das Herz in die Langendorff-Apparatur gegangen wurde, wurde zunächst das Perfusat über die Herzkammer (Compliance-Kammer) geleitet, sodass es nicht länger nur zirkulierte, das Computerprogramm eingeschaltet, um die Aufzeichnung zu starten und über das Manometer ein Perfusionsdruck von ungefähr 100 mmHg eingestellt. Dann wurde das Herz an die Apparatur angeschlossen und der Ballonkatheter über den linken Vorhof in den linken Ventrikel geschoben. Über die verbundene Spritze wurde ein enddiastolischer Druck von mindestens 10 mmHg eingestellt.

Zusätzlich wurde das Herz über einen externen Schrittmacher, der am rechten Vorhof platziert wurde, auf eine Herzfrequenz von 600 Schlägen pro Minute stimuliert.

Nun erfolgte der Start des vorher festgelegten Protokolls und die Aufzeichnung der Initialphase über 1 min. Hier konnten Perfusionsdruck und enddiastolischer Druck korrigiert und angepasst werden.

Es folgte eine Äquibrierungsphase über 20 min.

In der Zwischenzeit wurden weitere Waschschrilles der Erythrozyten durchgeführt. Zur Prüfung der koronaren Flussreserve des Herzens wurde nach 20 min Äquibrierung eine Kurzischämie

über 20 s und eine anschließende Erholungsphase von 5 min aufgezeichnet. Hierzu wurde der Durchfluss des Perfusats für 20 s unterbunden, indem das Ventil oberhalb der Aortenkanüle wieder auf Zirkulieren gestellt wurde. Darauf folgte die erneute Reperfusion für 5 min. Zur Ermittlung der koronaren Flussreserve wurde zunächst eine *Baseline* vor der Kurzischämie aufgezeichnet. Anschließend erfolgte die Erfassung des *Peaks* des koronaren Flusses 20 s nach Auslösung der Ischämie.

Nach Beendigung der Erholungsphase des Herzens und dem Aufziehen der Erythrozyten in die 2-ml-Spritze konnte diese an den Zulaufschlauch angeschlossen und in die Infusionspumpe (Infors AG, Bottmingen, Schweiz) eingespannt werden.

Es wurde eine zweite *Baseline* aufgezeichnet.

Die Erythrozyten wurden bis zur Herzkammer vorgespült, die Rollerpumpe gestoppt und die Erythrozyten für 1 min mit einer Geschwindigkeit von 5,2 mm/min ins Herz perfundiert. Das entspricht ungefähr einem Volumen von 0,4 ml und war ausreichend, um das Herz mit dem Patientenblut zu befüllen. In der Zwischenzeit wurde ein kleines Becherglas mit Hilfe einer Spritze mit erwärmtem, präoxygeniertem Krebs-Henseleit-Puffer befüllt und der Perfusionsdruck auf 0 mmHg heruntergestellt.

Nach Ablauf einer Minute wurde die 40minütige Ischämie gemäß Protokoll gestartet und das Becherglas in der Langendorff-Apparatur so positioniert, dass der Puffer das Herz komplett vollständig umschloss. Der Schrittmacher musste so platziert werden, dass er weiterhin den rechten Vorhof stimulieren konnte.

Kurz vor Ablauf der 40-minütigen Ischämie wurde der Perfusionsdruck am Manometer wieder auf 100 mmHg eingestellt und das Becherglas entfernt.

Die Reperfusion erfolgte durch Anschalten der Rollerpumpe. Diese Phase dauerte 60 min; alle 10 min wurden die aktuellen Werte akquiriert.

Der Schrittmacher sollte weiterhin am rechten Vorhof platziert sein. Seine Intensität wurde schrittweise erhöht, sodass die Herzfrequenz am Ende des Versuchs erneut bei 600 Schlägen pro Minute lag.

Nach Ablauf der Reperfusion über 60 min wurde die Kanüle von der Langendorff-Apparatur abgezogen und die Fadenligatur gelöst. Das Herz wurde von der Kanüle abgezogen und sein Feuchtgewicht bestimmt.

Nach Ende des Versuchs wurden alle Zulaufe und Schlauchsysteme sorgfältig mit Millipore-Wasser gespült. Anschließend wurde die Langendorff-Apparatur für weitere 60 min mit erwärmtem Millipore-Wasser durchgespült.

3.7.2 STEMI – Plasma-Protokoll

Das Protokoll zum Ischämie-Reperfusionsexperiment mit Plasma verlief streckenweise analog zum Protokoll mit Erythrozyten. Dennoch bestanden einige entscheidende Unterschiede.

Zunächst lief die Vorbereitung anders ab, da das Zulaufsystem an der Langendorff-Apparatur nicht benötigt wurde. Stattdessen wurde das Dialysat über einen Drei-Wege-Hahn mit dem Zulaufschlauch aus dem Perfusat verbunden und somit durch das gesamte Gerät gespült.

Das kalte Dialysat wurde zunächst in eine Schottflasche gefüllt und wie das Perfusat im Wärmebad auf 39,3 °C erwärmt und mit Carbogen oxygeniert.

Bis einschließlich zur zweiten *Baseline* lief nun das Protokoll äquivalent zum zuvor genannten Protokoll ab. Während der Äquilibrationsphase wurde das Dialysat über ein separates Schlauchsystem geleitet, um eben dieses zu erwärmen und Luftblasen zu entfernen.

Nach der Aufzeichnung der Kurzischämie und einer kurzen Erholungsphase wurde das Schlauchsystem über einen Drei-Wege-Hahn mit dem Zulaufschlauch aus dem Perfusat verbunden.

Der Überlaufschlauch, über den das nicht benötigte Perfusat ablaufen konnte, wurde kurzzeitig in einen separaten Behälter geführt, um Plasmareste und Perfusat nicht zu vermischen. Nun wurde im Protokoll die 15-minütige Plasmainfusion ausgewählt und der Drei-Wege-Hahn so umgestellt, dass das Dialysat in das Herz laufen konnte. Da sich die Menge des Dialysats nur auf 80 ml beschränkte wurde der Überlaufschlauch nach circa 1,5 min, wenn man sicher war, dass sich nur noch Dialysat im Schlauchsystem befand, wieder in die Schottflasche geleitet. Nach 15 min Plasmainfusion wurde der Drei-Wege-Hahn wieder auf Perfusat gestellt. Es erfolgte eine Spülung des Herzens für 5 min.

Während beider Phasen sollte der Perfusionsdruck immer auf 100 mmHg korrigiert und eingestellt werden.

Auch hier wurde nach ca. 1,5 min der Überlaufschlauch wieder in die Perfusatflasche geleitet. Nach Ablauf der Spülphase wurde eine erneute *Baseline* aufgezeichnet und daraufhin die Ischämie eingeleitet. Der weitere Verlauf des Protokolls entsprach dem vorherigen.

3.7.3 Mauserzen Anämie - Protokoll

Auch in diesem Versuch wurde der Einfluss einer Anämie auf die mechanische Herzaktion und den koronaren Fluss bestimmt. Hierzu wurden bei den Tieren zunächst eine akute beziehungsweise chronische Anämie induziert. Am Tag des Versuchs wurde den Tieren Blut entnommen und aus dieser Probe ein Blutbild angefertigt, um den tagesaktuellen Hämoglobinwert zu bestimmen. Die Anämieinduktion war erfolgreich bei Erreichen eines Hämoglobinwertes von ≤ 9 g/dl. [111]

Die Präparation der Herzen und das Aufhängen in der Langendorff-Apparatur erfolgte entsprechend den zuvor beschriebenen Protokollen. Da jedoch der Einfluss der induzierten Anämie auf die Kontraktilität der Mauserzen untersucht wurde, erfolgte weder eine Plasmainfusion und noch eine Infusion mit Erythrozyten. Stattdessen erfolgte die Perfusion ausschließlich mit der zuvor beschriebenen Krebs-Henseleit-Lösung.

Nach Auslösen der Kurzischämie und einer anschließend folgenden 5-minütigen Erholungsphase wurde die längere Ischämie über 40 min gestartet. Nach der darauffolgenden Reperfusion wurden die erhobenen Werte dokumentiert.

3.7.4 Messwerte

Während der oben durchgeführten Versuche wurden viele Werte erfasst. Im Folgenden sind die Relevantesten für diese Arbeit zusammengefasst:

Messparameter	Einheit	Erläuterung
dP/dt_{\max}	mmHg	maximale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckanstieg = Kontraktilität
dP/dt_{\min}	mmHg	minimale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs/ maximale Rate der Druckabnahme während der Relaxation = schnellster Druckabfall = Relaxation
Flow	ml/min	koronarer Fluss
HF	bpm	Herzfrequenz
LVDP	mmHg	linksventrikulär entwickelter Druck

Tabelle 4: Wichtigsten gemessenen Parameter des isolierten Herzens im Langendorff-Modell.
Quelle: Eigene Darstellung.

3.7.5 Durchführung der Durchflusszytometrie

Zur Quantifizierung der Erythrozyten und der Plättchen in den gewonnenen Proben vor allem nach den beschriebenen Waschschritten, erfolgte die Durchführung der Durchflusszytometrie. Hierzu wurde sowohl vor dem ersten Waschschrift nach Zentrifugation der Erythrozyten als auch nach dem jedem weiteren Waschschrift jeweils eine Probe des Blutes genommen.

10 μ l des Blutes wurden mit 1 ml phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) verdünnt. Daraufhin wurden 96 μ l dieser verdünnten Probe in 5-ml-FACS-*Tubes* pipettiert. Die Antikörper wurden in einer Verdünnung von 1:50 zugegeben. Hierfür wurden 2 μ l des Antikörpers gegen CD41a – gekoppelt an das Fluorochrom APC-Vio 770 – sowie 2 μ l des Antikörpers gegen CD235a – gekoppelt an APC – hinzugegeben. Bei CD41a handelt es sich um ein Oberflächenprotein, das auf Thrombozyten exprimiert wird. Das Oberflächenantigen CD235a, auch Glycophorin A genannt, ist ein transmembranöses Glykoprotein und wird auf erythroiden Vorläuferzellen und Erythrozyten exprimiert. [142, 143]

Die Probe wurde nun für 25 min bei 4 °C in einer dunklen Umgebung inkubiert. Von einem weiteren Waschschrift wurde abgesehen, um die Lebensfähigkeit der Zellen zu erhalten.

Nach der Inkubation wurde die Probe zur Messung am Flow-Cytometer in 200 μ l PBS gelöst. Die Auswertung der Daten erfolgte mit flowJo®_v10.8.1 (BD Biosciences, US).

3.7.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der erhobenen Parameter im Langendorff-Modell erfolgte mit Hilfe der Software GraphPad Prism 9.0 (GraphPad software Inc, San Diego, US) und Microsoft Excel für Macintosh. Die Angabe der Ergebnisse erfolgte als Mittelwert \pm Standardabweichung. Zum Teil erfolgte die Angabe der Werte als absolute Werte, zum Teil als prozentualer Anteil im Vergleich zu den erhobenen *Baseline*-Werten.

Zum Vergleich zweier unabhängigen Gruppen erfolgte die Auswertung mittels t-test. Bei zwei oder mehr unabhängigen Gruppen erfolgte der Vergleich mittels zweifaktorieller Varianzanalyse (*Two-Way-ANOVA*). Ein Signifikanzniveau von $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angenommen.

Programm	Hersteller
EndNote 21.2	Clarivate Analytics, Philadelphia, Pennsylvania
flowJo®_v10.8.1	BD Biosciences, US
GraphPad Prism 9.0	GraphPad software Inc, San Diego, US
iox 2.4.5.6, 2008	Emka Technologies, Paris, Frankreich
Microsoft® Excel Version 16.89.1	Microsoft Corporation, Redmond, USA
Microsoft® Word Version 16.66	Microsoft Corporation, Redmond, USA

Tabelle 5: Übersicht der für die vorliegende Arbeit verwendeten Softwareprogramme. Quelle: Eigene Darstellung.

4 Ergebnisse

4.1 Langendorff-Versuche

4.1.1 Patientencharakteristika

Die Einteilung der Patienten in zwei Gruppen – Anämie und Nicht-Anämie – erfolgte anhand des aktuellen Hämoglobingehalts im Blut, bestimmt im Aufnahmelaor (fachgerecht abgenommen und ausgewertet durch die Mitarbeiter der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie und der Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Düsseldorf). Männer mit einem Hämoglobinwert ≤ 13 g/dl und nicht-schwangere Frauen mit einem Hämoglobinwert ≤ 12 g/dl gelten gemäß WHO-Richtlinien als anämisch. Des Weiteren erfolgte die Analyse der Patientendaten in Bezug auf einige kardiovaskuläre Vorerkrankungen und weitere Laborwerte, die in Tabelle 6 und Tabelle 7 aufgeführt werden.

Bezüglich der laborchemischen Parameter zeigte sich gemäß der Einteilung in die beiden Gruppen ein signifikanter Unterschied im Hämoglobin- und auch im Hämatokritwert, sowie in der mittleren korpuskulären Hämoglobinkonzentration. Der durchschnittliche Hämoglobinwert in der Anämie-Gruppe betrug $11,57 \pm 1,2$ g/dl, der Hämatokrit $35,54 \pm 3,5$ %. In der anderen Gruppe lag der Hämoglobinwert bei $14,69 \pm 1,3$ g/dl und der Hämatokrit bei $44,19 \pm 3,9$ %. Der durchschnittliche Hämoglobinwert, bezogen auf alle erhobenen Patientendaten, lag bei $13,59 \pm 2$ g/dl. Der Wert der mittleren korpuskulären Hämoglobinkonzentration zeigte sich signifikant ($p = 0,037$) niedriger in der Gruppe der STEMI-Patienten mit Anämie mit einem Wert von $32,67 \pm 1,1$ g/dl gegenüber $33,26 \pm 1$ g/dl. Auch der durchschnittliche korpuskulärer Hämoglobingehalt (MCH) war in dieser Anämie-Gruppe erniedrigt mit $29,6 \pm 2$ g/dl, jedoch ohne nachweisbares Signifikanzniveau ($p = 0,079$).

Ein weiterer signifikanter Unterschied zwischen den Laborergebnissen der Patienten mit und ohne Anämie lag bei dem Wert der Kreatinkinase vor. Hier zeigte die Gruppe der Patienten mit Anämie signifikant höhere Werte ($p = 0,034$) von 849 ± 1000 U/l, was etwa dem Doppelten der Werte der Gruppe ohne Anämie entspricht (siehe Tabelle 6).

Charakteristika	Patienten (gesamt) n = 59	± SD	STEMI ohne Anämie (n = 38)	± SD	STEMI mit Anämie (n = 21)	± SD	p-Wert
Laborchemische Parameter							
Creatinin [mg/dl]	1,08	± 1,2	1,17	± 1,5	0,91	± 0,2	0.436
GFR [ml/min/1,73m ²]	81,8	± 20,5	82,53	± 21,3	80,48	± 19,3	0.716
Hämoglobin [g/dl]	13,58	± 2	14,69	± 1,3	11,57	± 1,2	< 0.0001
Hämatokrit [%]	41,11	± 5,6	44,19	± 3,9	35,54	± 3,5	< 0.0001
MCV [fl]	91,31	± 4,4	91,41	± 4,4	91,12	± 4,7	0.813
MCH [pg]	30,11	± 1,7	30,4	± 1,4	29,6	± 2	0.079
MCHC [g Hb/dl]	33,05	± 1	33,26	± 1	32,67	± 1,1	0.037
Eisen [µg/l]	70,07	± 35,3	72,89	± 35,8	61,62	± 36,4	0.254
Transferrin [mg/dl]	212,7	± 40,2	202,3	± 48,6	221,3	± 47	0.15
Transferrinsättigung [%]	24,98	± 14,3	26,5	± 15,2	24,98	± 12,9	0.171
Ferritin [µg/l]	387,3	± 804,4	501,5	± 980,1	180,9	± 173	0.144
Retikulozytenindex	1,48	± 0,7	1,6	± 0,8	1,28	± 0,4	0.086
RDW [%]	13,52	± 1	13,36	± 0,8	13,8	± 1,4	0.117
Vitamin B12 [pg/ml]	375,9	± 205,1	383,1	± 234,1	327,1	± 167	0.337
Folsäure [ng/ml]	5,8	± 3,4	5,9	± 3,3	5,2	± 3,9	0.466
sTFR [mg/l]	1,01	± 0,24	0,82	± 0,39	0,91	± 0,49	0.415
Haptoglobin [mg/dl]	137,3	± 73,1	140,1	± 68	132,2	± 83,1	0.698
LDH [U/l]	443,4	± 718,2	349,9	± 217,9	612,8	± 1279	0.219
Bilirubin [mg/dl]	0,57	± 0,4	0,6	± 0,3	0,52	± 0,4	0.444
Retikulozyten (absolut) [x1000/µl]	74,63	± 21,7	77,34	± 22,3	69,71	± 20,3	0.2
Retikulozyten-Hb [pg]	34,67	± 2,4	34,82	± 2,1	34,52	± 2,4	0.623
CK [U/l]	573	± 749	421	± 522	849	± 1000	0.034
Troponin [ng/l]	1154	± 2495	1030	± 2714	1377	± 2084	0.613
NT-proBNP [pg/ml]	1228	± 2128	1173	± 2284	1328	± 1862	0.791
Gesamtcholesterin [mg/dl]	175,9	± 40,9	175,9	± 49,3	167,6	± 41,8	0.52
Triglyceride [mg/dl]	107,3	± 59,5	107,4	± 60,4	107,2	± 59,4	0.991
LDL [mg/dl]	110,1	± 46,9	108,3	± 52,8	97,8	± 50,6	0.46
HDL [mg/dl]	41,16	± 14	36,79	± 15,9	41,24	± 19	0.341
Lipoprotein A [nmol/l]	65,8	± 72	53,34	± 67	51,86	± 75	0.612
HbA1c [%]	6,04	± 1,1	6,07	± 1,3	5,68	± 1,5	0.938
INR	1,43	± 0,5	1,47	± 0,5	1,37	± 0,6	0.491

Tabelle 6: Laborchemische Parameter der beiden Patientengruppen im Vergleich. In der linken Spalte wurden alle STEMI-Patienten zusammen betrachtet, daneben jeweils die Patienten ohne und mit Anämie. Die einzelnen Laborwerte sind mit den jeweiligen Standardabweichungen (SD = *standard deviation*) angegeben. Am rechten Rand befinden sich die p-Werte; farbig markiert sind die Signifikanzen mit $p < 0,05$. Signifikant sind nach erfolgtem t-Test zwischen den beiden Gruppen lediglich der Hämoglobin-, Hämatokrit-, MCHC- und CK-Wert. (dl = Deziliter, fl = Femtoliter, g = Gramm, l = Liter, µl = Mikroliter, µg = Mikrogramm, mg = Milligramm, ml = Milliliter, nmol = Nanomol, ng = Nanogramm, pg = Pikogramm, U = *Units*; Einheiten, % = Prozent, CK = Creatinkinase, GFR = glomeruläre Filtrationsrate, Hb = Hämoglobin, HbA1c = Hämoglobin A1c, HDL = *high density* Lipoprotein, INR = International Normalized Ratio, LDL = *low density* Lipoprotein, MCH = *mean corpuscular haemoglobin*; mittleres korpuskuläres Hämoglobin, MCHC = *mean corpuscular haemoglobin concentration*; mittlere korpuskuläre Hämoglobin-Konzentration, MCV = *mean corpuscular volume*; mittleres korpuskuläres Volumen, n = Anzahl, NT-proBNP = N-Terminal pro-B-Type Natriuretic Peptide, RDW = *red cell distribution width*; Erythrozytenverteilungsbreite, STEMI = *ST-elevated myocardial infarction*; ST-Hebungsinfarkt, sTFR = *soluble transferrin receptor*; löslicher Transferrin-Rezeptor) Quelle: Eigene Darstellung.

Die folgende Tabelle 7 zeigt die Patientencharakteristika inklusive Angaben zum kardiovaskulären Risikoprofil (arterielle Hypertonie, Hyperlipoproteinämie, Diabetes mellitus, Nikotinkonsum, chronische Niereninsuffizienz), zu kardiovaskuläre Vorerkrankungen (periphere arterielle Verschlusskrankheit, Schlaganfall, koronare Herzerkrankung), zu klinischen Parametern zum Zeitpunkt der Aufnahme sowie zu den unterschiedlichen Infarktbedingungen. Hier zeigte sich ein signifikanter Unterschied in der Häufigkeit des Auftretens einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit. Diese zeigte sich bei drei Patientin in der Gruppe der Patienten mit Anämie und bei keinem Patienten in der Gruppe der Patienten ohne Anämie. Des Weiteren zeigte sich ein signifikant höheres Vorliegen einer vorangegangenen perkutanen Koronarintervention (PCI) bei den Patienten, die zusätzlich eine Anämie hatten. Diese Intervention war in der anämischen Gruppe bei ungefähr 43 % der Patienten bereits durchgeführt worden im Gegensatz zu 5 % in der nicht-anämischen Gruppe. Die Ein-Gefäß-KHK lag im Schnitt etwas häufiger bei Patienten ohne Anämie vor als bei denen mit Anämie.

Charakteristika		Patienten (gesamt) n = 59	± SD/ prozentualer Anteil	STEMI ohne Anämie (n = 38)	± SD/ prozentualer Anteil	STEMI mit Anämie (n = 21)	± SD/ prozentualer Anteil	p-Wert
Alter [Jahren]		63,24	12,2	61,37	11,67	66,62	12,68	0.114
Geschlecht [männlich, %]		47	80 %	32	84 %	15	71 %	0.316
Medizinische Vorgeschichte								
Hypertonie [n, %]		36	61 %	20	53 %	16	76 %	0.098
Hyperlipoproteinämie [n, %]		16	27 %	9	24 %	7	33 %	0.543
Diabetes mellitus [n, %]		23	39 %	15	40 %	9	43 %	> 0.999
Raucher (aktuell) [n, %]		32	54 %	19	50 %	13	62 %	0.424
pAVK [n, %]		3	5 %	0	0 %	3	14 %	0.041
Schlaganfall [n, %]		3	5 %	2	5 %	1	5 %	> 0.999
Chronische Nierenerkrankung [n, %]								
	CKD I–II [n, %]	50	85 %	33	87 %	17	81 %	0.708
	CKD ≥ III [n, %]	9	15 %	5	13 %	4	19 %	0.708
Prozedurale Charakteristika								
Vorangegangene PCI [n, %]		11	19 %	2	5 %	9	43 %	< 0.001
Mikroangiopathie [n, %]		0	0 %	0	0 %	0	0 %	> 0.999
1-Gefäß-KHK [n, %]		10	17 %	9	24 %	1	5 %	0.08
2-Gefäß-KHK [n, %]		8	14 %	5	13 %	3	14 %	> 0.999
3-Gefäß-KHK [n, %]		41	70 %	24	63 %	17	81 %	0.238
Klinische Parameter								
BMI [kg/m ²]		26,6	± 3,29	26,71	± 3,59	26,52	± 2,93	0.84
Herzfrequenz [bpm]		76,9	± 16,82	76,71	± 17,87	77,24	± 15,15	0.909
Systolischer Blutdruck [mmHg]		133,9	± 26,17	132,2	± 26,42	137,1	± 26,05	0.492
Diastolischer Blutdruck [mmHg]		74,68	± 17,28	75,18	± 17,44	74,33	± 17,39	0,858
Infarktcharakterisierung								
Reanimation [n, %]		9	15 %	5	13 %	4	19 %	0.708
Impella [n, %]		4	7 %	3	8 %	1	5 %	> 0.999
Kardiogener Schock [n, %]		2	3 %	1	3 %	1	5 %	> 0.999
Infarktverursachende Läsion	LAD [n, %]	30	51 %	18	47 %	12	57 %	0.589
	RCA [n, %]	23	39 %	17	45 %	6	29 %	0.273
	RCX [n, %]	6	10 %	3	8 %	3	14 %	0.656

Tabelle 7: Klinische und medizinische Charakteristika der Patientengruppen. In der linken Spalte wurden alle STEMI-Patienten zusammen betrachtet, daneben jeweils die Patienten ohne und mit Anämie. Die einzelnen Charakteristika sind mit den jeweiligen Standardabweichungen (SD = *standard deviation*) beziehungsweise als prozentuale Anteile angegeben. Am rechten Rand sind die p-Werte aufgeführt; farblich hervorgehoben sind statistisch signifikante Unterschiede mit $p < 0,05$. Signifikant erhöht ist die Anzahl der Patienten mit pAVK und die der Patienten mit vorangegangener PCI in der Gruppe der STEMI-Patienten mit Anämie gegenüber der Anzahl ohne Anämie. Die chronische Nierenerkrankung wird in der gegebenen Tabelle in den Stadien I und II zusammengefasst sowie ab Stadium III und höher eingeteilt. Dabei erfolgt die Einteilung in die verschiedenen Stadien anhand der glomerulären Filtrationsrate (GFR). Stadium I bedeutet eine GFR von $>89 \text{ ml/min/1,73m}^2$, Stadium II eine GFR zwischen 60 und $89 \text{ ml/min/1,73m}^2$, Stadium III eine GFR zwischen 30 und $59 \text{ ml/min/1,73m}^2$, Stadium IV eine GFR zwischen 15 und $29 \text{ ml/min/1,73m}^2$ und Stadium V eine GFR unter $15 \text{ ml/min/1,73m}^2$. Stadium I steht für eine normale Nierenfunktion, und auch Stadium II, ohne Nachweis einer Proteinurie bedeutet, dass die Patienten nicht nierenkrank sind. Stadium V hingegen kennzeichnet eine chronische Niereninsuffizienz. [144, 145] (bpm = *beats per minute*; Schläge pro Minute, kg/m^2 = Kilogramm pro Quadratmeter, ml = Milliliter, min = Minute, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule, n = Anzahl, % = Prozent, BMI = *Body Mass Index*; Körpermasseindex, CKD = *chronic kidney disease*; chronische Nierenerkrankung, KHK = Koronare Herzkrankheit, LAD = *left anterior descending artery*, Ramus interventricularis anterior (aus linker Koronararterie), pAVK = periphere arterielle Verschlusskrankheit, PCI = perkutane Koronarintervention, RCA = Arteria coronaria dextra; rechte Koronararterie, RCX = Ramus circumflexus (aus der linken Koronararterie)) Quelle: Eigene Darstellung.

4.1.2 Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens im Langendorff-Modell

Erythrozyten-Perfusion

Insgesamt wurden 59 Patienten in die Studie eingeschlossen, davon hatten bei Aufnahme 21 Patienten einen STEMI mit begleitender Anämie und 38 Patienten einen STEMI ohne begleitende Anämie. Die Mehrzahl der Proben wurde innerhalb von 24 h nach stattgehabtem STEMI entnommen. In acht Fällen erfolgte die Blutentnahme innerhalb von 48 h. Drei von diesen acht Patienten wiesen keine Anämie auf, während bei fünf Patienten eine Anämie diagnostiziert wurde.

Der Versuch mit den aus den Patientenproben gewonnenen Erythrozyten zeigte im Langendorff-Modell, wie in Abb. 5 dargestellt, einen signifikanten Unterschied in der hämodynamischen Herzfunktion. Dieser Unterschied trat nach der Beladung mit Erythrozyten, einer 40-minütigen globalen Ischämie und einer 60-minütigen Reperfusionphase auf und war abhängig davon, ob die Patienten eine Anämie hatten oder nicht. Die Auswertung der Daten erfolgte mittels t-Test.

Neben der Kontraktilität und Relaxation des Ventrikels wurde auch der koronare Fluss ermittelt (siehe Abb. 5A). Hier zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen der anämischen und nicht-anämischen Gruppe in der Erholung des Koronarflusses im Vergleich zur *Baseline* ($p=0,3$). Es zeigte sich eine prozentuale Erholung des koronaren Flusses gegenüber der *Baseline* von $83,24 \pm 19,17$ % in der anämischen Gruppe und $81,95 \pm 21,41$ % in der nicht-anämischen Gruppe.

Der LVDP der Mauserzen, die mit Erythrozyten von Patienten mit Anämie und STEMI perfundiert wurden, war mit einem LVDP von $17,76 \pm 5,52$ mmHg ($***p < 0,0001$, $n = 59$) signifikant vermindert im Vergleich zu Herzen, die mit Blut der Patienten ohne Anämie und mit STEMI perfundiert wurden. Hier zeigte sich nach 60 min Reperfusion ein LVDP von $27,89 \pm 10,46$ mmHg. Prozentual stellte sich das Ganze als eine Erholung des LVDP von $19,76 \pm 6,94$ % im Vergleich zur *Baseline* in der Anämie-Gruppe vs. $32,53 \pm 12,68$ % in der Nicht-Anämie-Gruppe ($****p < 0,0001$, $n = 59$) dar und zeigt somit eine bessere linksventrikuläre Funktion der Mauserzen bei den nicht-anämischen Patientenproben (Abb. 5B).

Ein weiterer Bestandteil der funktionellen Analyse des isolierten Herzens ist die Bestimmung der Parameter dP/dt_{\max} und dP/dt_{\min} .

Der dP/dt_{\max} entspricht dabei der maximalen Rate des Druckanstiegs des linken Ventrikels während der Ventrikelkontraktion und wird in der Literatur als Indikator für die Kontraktilität des isolierten Herzens verwendet [146]. Analog zu den Ergebnissen aus dem oben genannten Vergleich des links-ventrikulären Drucks konnte auch hier ein signifikanter Unterschied ($***p = 0,0004$, $n = 59$) zwischen der Anämie-Gruppe mit einem dP/dt_{\max} von $737,5 \pm 223,1$ mmHg/s und damit einer Erholung von $21,33 \pm 8,15$ % und der nicht-anämischen Gruppe mit einem dP/dt_{\max} von $1164 \pm 491,3$ mmHg/s und damit einer Erholung von $35,26 \pm 14,65$ % festgestellt werden (Abb. 5C).

Der dP/dt_{\min} entspricht analog des dP/dt_{\max} der maximalen Rate des Druckabfalls im linken Ventrikel während der Ventrikelrelaxation und verschafft damit einen Eindruck über die Fähigkeit der Relaxation des isolierten Herzens [147]. Hier zeigt sich in der Untersuchung in der anämischen Gruppe ein dP/dt_{\min} von $-505,9 \pm 144,8$ mmHg/s, entsprechend einer Erholung von $18,24 \pm 6,36$ % und in der nicht-anämischen Gruppe ein dP/dt_{\min} von $-752,8 \pm 298,2$ mmHg/s, entsprechend einer Erholung von $28,24 \pm 11,59$ %. Auch hier liegt ein signifikanter Unterschied vor ($***p = 0,0008$, beziehungsweise $0,006$), was eine bessere Erholung der Relaxation in der nicht-anämischen Gruppe zeigt (Abb. 5D).

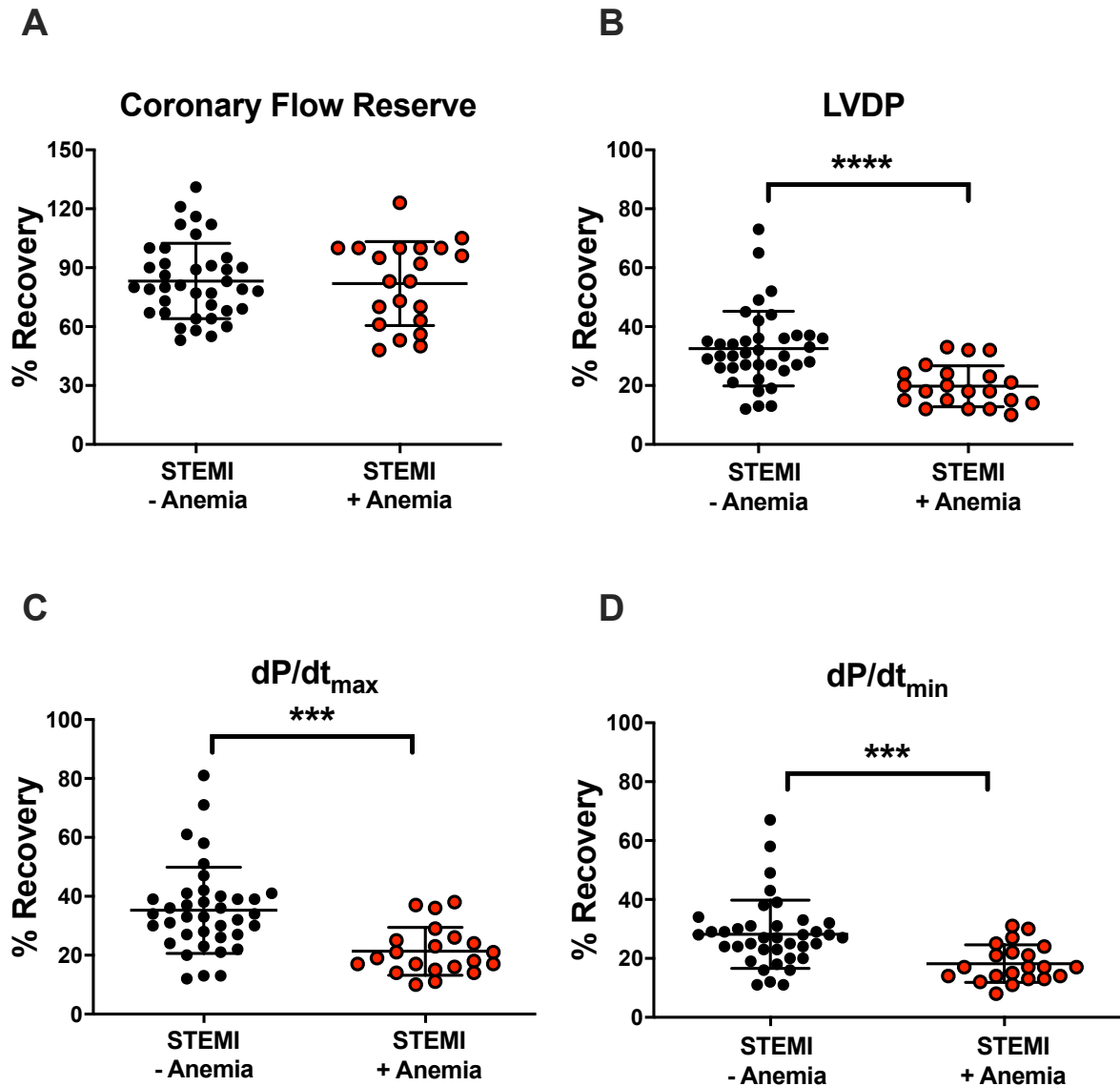


Abb. 5: Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens im Langendorff-Modell nach Perfusion mit Erythrozyten. Abgebildet ist die jeweilige prozentuale Erholung (*Recovery*) (y-Achse) der einzelnen Parameter im Vergleich zur erhobenen *Baseline*. In Schwarz sind die einzelnen Werte aus dem Langendorff-Modell mit Patientenproben von Patienten mit STEMI (*ST-elevated myocardial infarction*, ST-Hebungsinfarkt) und ohne Anämie ($n = 38$) dargestellt, in Rot die Werte der Patienten mit STEMI und zusätzlich einer Anämie ($n = 21$). Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sind mit einem Stern markiert ($***p < 0,001$, $****p < 0,0001$). A zeigt die *Coronary Flow Reserve* (koronare Flussreserve), bei der sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen zeigt. B zeigt den signifikant ($p < 0,0001$) erniedrigten LVDP (*left ventricular developed pressure*, linksventrikulärer enddiastolischer Druck) in der Gruppe der Patienten mit Anämie. Auch Abbildung C und D zeigt hier einen Vorteil zugunsten der nicht-anämischen Gruppe im Sinne einer deutlich besseren Erholung der Werte dP/dt_{min} (minimale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckabfall = Relaxation) und dP/dt_{max} (maximale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckanstieg = Kontraktilität) des isolierten Mausherzens nach Reperfusion und damit einer besseren Kontraktilität und Relaxation. Quelle: Eigene Darstellung.

Die nachfolgende Tabelle 8 zeigt die Rohdaten zu den oben genannten Ergebnissen.

Grunddatensatz Erythrozytenloading von STEMI-Patienten

Fluss						
Baseline [ml/min]		Nach 60 Minuten Erholung [ml/min]		Prozentuale Erholung [%]		
Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	
2,8	2,6	3	2,6	107	100	
2,9	2,6	2,9	2,4	112	92	
3	2,4	2,2	2,4	73	100	
3,6	2	3	1,4	83	70	
3,2	2,9	2,6	2,4	81	83	
3,3	2,6	2,1	1,9	64	73	
2,6	3	2	1,9	77	83	
2,6	2,5	2	2,4	77	96	
3	2,2	2	2,2	67	100	
2	2,2	1,8	2,1	90	95	
2,5	2	2	2,1	80	105	
3,6	3	3,3	2,5	92	83	
3,4	2,2	3,1	1,2	91	50	
1,9	3,3	1	2	67	61	
2,1	2,5	1,9	1,2	90	48	
1,8	1,7	1,4	2,1	78	123	
3,5	2,8	2,4	2,8	69	100	
3,9	1,9	3,1	1	79	53	
2,4	3,4	2,3	1,9	131	56	
2,4	2,3	1,4	2,3	58	100	
2,9	2,7	1,6	1,9	55	70	
4,7	2,5	2,5	5,3	53		
3,4	3,8		112			
4,3	3,7		86			
1,9	1,7		89			
2,4	1,7		71			
3,8	3		79			
2,2	2,2		100			
2	1,6		80			
1,8	2,2		116			
2,2	1,4		64			
2,3	2,3		100			
2,5	1,5		60			
2,8	2,5		89			
2,2	2,1		95			
2,2	1,3		59			
1,4	1,7		121			
2,2	1,5		68			
Mittelwert ± Standardabweichung:	2,697 ± 0,778	2,514 ± 0,452	2,211 ± 0,689	2,033 ± 0,485	83,24 ± 19,17	81,95 ± 21,41
p-Wert:	0,327		0,302		0,814	

LVDP						
Baseline [mmHg]		Nach 60 Minuten Erholung [mmHg]		Prozentuale Erholung [%]		
Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	
103	81	36	28	35	32	
73	81	15	27	21	33	
93	106	12	21	13	20	
107	78	38	19	36	24	
83	85	30	23	36	27	
93	100	32	18	34	15	
86	122	26	12	30	10	
85	97	38	17	45	18	
80	85	29	18	36	21	
73	89	36	16	49	18	
84	95	23	30	27	32	
91	87	25	21	27	24	
81	85	15	10	19	12	
110	99	30	15	27	15	
92	82	30	16	33	20	
83	99	23	15	28	15	
73	104	23	15	32	14	
89	75	33	17	37	23	
75	82	48	10	65	12	
81	82	24	10	30	12	
104	112	19	20	18	18	
94		24		26		
89		46		52		
84		23		27		
76		26		34		
71		31		44		
80		25		31		
86		25		29		
82		30		37		
88		64		73		
80		20		25		
91		20		22		
100		12		12		
74		22		30		
97		25		26		
95		33		35		
89		37		42		
89		12		13		
Mittelwert ± Standardabweichung:	86,95 ± 9,836	91,71 ± 12,33	27,89 ± 10,46	17,76 ± 5,522	32,53 ± 12,68	19,76 ± 6,935
p-Wert:	0,109	*** 0,0001	**** <0,0001			

dP/dt _{max}						
Baseline [mmHg/s]		Nach 60 Minuten Erholung [mmHg/s]		Prozentuale Erholung [%]		
Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	
4213	2639	1532	983	36	38	
2480	2803	472	1044	21	37	
3296	4277	425	886	13	21	
4317	3178	1726	797	40	25	
3373	3129	1427	908	42	29	
3788	4148	1486	622	39	15	
3457	5120	1160	510	34	10	
3195	4402	1204	786	36	18	
2762	3474	1146	742	41	21	
2445	4091	1406	697	58	17	
2865	3627	927	1326	32	36	
3516	3364	1052	869	30	26	
2831	3487	618	392	22	11	
4235	3673	1308	636	31	17	
3909	3051	1302	701	33	23	
3605	3628	964	624	27	17	
2739	3829	1003	629	37	16	
3588	2918	1407	696	39	24	
3088	3065	2195	418	71	14	
3147	3056	942	441	30	14	
4039	3958	800	771	20	19	
3531		809		23		
3271		1992		61		
3527		885		27		
2904		994		34		
3126		1263		51		
3277		1136		36		
3142		1080		33		
3529		1284		41		
3017		2872		81		
3409		915		30		
3755		827		24		
2874		481		13		
3630		751		26		
3653		1021		28		
3319		1407		39		
3779		1563		47		
3571		438		12		
Mittelwert ± Standardabweichung:	3363 ± 458	3567 ± 612,8	1164 ± 491,3	737,5 ± 223,1	35,26 ± 14,65	21,33 ± 8,145
p-Wert:	0,152	*** 0,0004	*** 0,0002			

dP/dt _{min}						
Baseline [mmHg/s]		Nach 60 Minuten Erholung [mmHg/s]		Prozentuale Erholung [%]		
Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	
-3322	-2470	-1060	-738	32	30	
-2252	-2533	-360	-792	16	31	
-2875	-3226	-339	-544	12	17	
-3664	-2173	-1054	-539	29	25	
-2619	-2505	-852	-610	33	24	
-3076	-3077	-856	-442	28	14	
-2692	-3863	-729	-310	27	8	
-2490	-3021	-687	-503	28	17	
-2348	-2389	-787	-501	34	21	
-2168	-2806	-942	-445	43	17	
-2640	-3010	-655	-806	25	27	
-2710	-2632	-687	-577	25	22	
-2522	-2480	-476	-294	19	12	
-3516	-3138	-849	-426	31	24	
-2907	-2649	-821	-460	28	17	
-2516	-3358	-600	-480	24	14	
-2546	-3500	-586	-468	23	13	
-2734	-2358	-874	-488	31	21	
-2106	-2566	-1230	-345	58	13	
-2332	-2591	-678	-294	29	11	
-3290	-3736	-521	-563	16	15	
-2805		-511		18		
-2741		-1354		49		
-2500		-506		20		
-2329		-628		27		
-2172		-824		36		
-2361		-682		29		
-2664		-718		27		
-2599		-789		30		
-2719		-1620		67		
-2428		-585		30		
-2840		-562		20		
-3290		-373		11		
-2188		-496		23		
-3133		-768		25		
-3073		-954		31		
-2745		-1078		39		
-2789		-316		11		
Mittelwert ± Standardabweichung:	-2702 ± 383,5	-2857 ± 489,3	-752,8 ± 298,2	-505,9 ± 144,8	28,24 ± 11,59	18,24 ± 6,355
p-Wert:	0,183	*** 0,0008	*** 0,0006			

Tabelle 8: Rohdatensatz zum Versuchsaufbau mit Erythrozyten. Die vorliegende Tabelle zeigt den Grunddatensatz zum Versuchsaufbau mit Erythrozyten-Perfusion innerhalb von 24 h nach stattgehabtem STEMI. Zu sehen sind sowohl die gemessenen Daten, die berechneten Mittelwerte mit Standardabweichung, wie auch die daraus im t-Test resultierenden p-Werte. Signifikante Unterschiede hier in rot hervorgehoben. Dabei bezeichnet die *Baseline* die erhobenen Werte vor der Ischämieauslösung. Die dritte und vierte Spalte beziehen sich jeweils auf die erhobenen Werte nach 60 min, während die letzten beiden Spalten die prozentuale Erholung der jeweiligen Parameter im Vergleich zur *Baseline* nach 60 min zeigen. (dP/dt_{min} = minimale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckabfall; dP/dt_{max} = maximale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckanstieg; min = Minute, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule; mmHg/s = Millimeter Quecksilbersäule pro Sekunde; STEMI = ST-elevated myocardial infarction, ST-Hebungsinfarkt, % = Prozent) Quelle: Eigene Darstellung.

Zusätzlich zur Anämie ist es interessant, weitere Risikofaktoren beziehungsweise kardiovaskuläre Vorerkrankungen mit in die Betrachtung einzubeziehen. Abb. 6 zeigt neben dem Einfluss von Anämie und STEMI auf die prozentuale Erholung nach einem Ischämie-Reperfusion-Versuch im isolierten Mausherzen auch den Effekt eines vorliegenden Diabetes mellitus bei den untersuchten Patientenproben. Insgesamt konnten 58 Patientenproben einbezogen werden. Die Werte eines Patienten beziehungsweise einer Patientin stellten sich in dieser Auswertung als Ausreißer dar und wurden daher ausgeschlossen. Die Einteilung der verbleibenden Ergebnisse erfolgte erneut anhand des aktuellen Hämoglobinwertes sowie unter Berücksichtigung eines anamnestisch bekannten Diabetes mellitus. Dabei wurde vernachlässigt, ob es sich um einen Diabetes mellitus Typ 1 oder 2 handelte. Es konnten 24 Patienten in die Gruppe ohne Anämie und ohne Diabetes mellitus eingeschlossen werden, dreizehn Patienten boten einen Diabetes mellitus aber keine Anämie, zwölf Patienten hatten eine Anämie aber keinen bekannten Diabetes mellitus und neun Patienten hatten sowohl eine Anämie als auch einen Diabetes mellitus. In der Auswertung der Ergebnisse zeigte sich, wie zuvor in der Abb. 5 schon beschrieben, dass die Anämie eine signifikante Verschlechterung der linksventrikulären Pumpfunktion verursacht. Nimmt man den Diabetes mellitus mit in die Betrachtung als weiteren Risikofaktor dazu, bestand ein weiterer Abfall des LVDP und damit eine noch schlechtere prozentuale Erholung der isolierten Mausherzen, nach Reperfusion. In der Gruppe der Patienten ohne Anämie und Diabetes mellitus zeigte sich eine prozentuale Erholung von der *Baseline* von $32,79 \pm 11,26$ %. Ohne Anämie aber mit Diabetes mellitus als Risikofaktor zeigte sich eine Erholung von $28,85 \pm 10,06$ %. Zwischen diesen Gruppen zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Erholung. In der Gruppe der Patientenproben ohne Diabetes mellitus aber mit Anämie bot sich ein Wert von $22,50 \pm 6,95$ % und in der Gruppe mit beiden Risikofaktoren beziehungsweise Vorerkrankungen ein mittlerer Wert von $16,11 \pm 5,26$ %.

Vergleicht man die Gruppe ohne diese beiden kardiovaskulären Vorerkrankungen mit jener, die ausschließlich eine vorbestehende Anämie aufweist, zeigte sich bereits eine signifikant schlechtere Erholung ($**p = 0,0067$). Wird zusätzlich der Diabetes mellitus berücksichtigt, ergibt sich im Vergleich zur „gesunden“ Kontrollgruppe (ohne Anämie und Diabetes) ein hochsignifikanter Unterschied ($***p = 0,0002$). Auch bei Patienten mit beiden Vorerkrankungen – Anämie und Diabetes mellitus – zeigte sich eine signifikante Verschlechterung der Erholung der Pumpfunktion ($**p = 0,0024$) im Vergleich zur Gruppe mit Diabetes mellitus aber ohne Anämie.

Damit lässt sich zusammenfassen, dass eine Anämie bei den isolierten Mausherzen eine schlechtere Erholung der Pumpfunktion verursachte. Der Diabetes mellitus isoliert betrachtet zeigte hier keine signifikante Verschlechterung. Haben die Patienten jedoch beide Risikofaktoren, wurde bei vorliegendem Diabetes mellitus eine progrediente Verschlechterung der Pumpfunktion festgestellt.

Die statistische Auswertung mittels zweifaktorieller Varianzanalyse zeigte ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den zuvor verglichenen Gruppen.

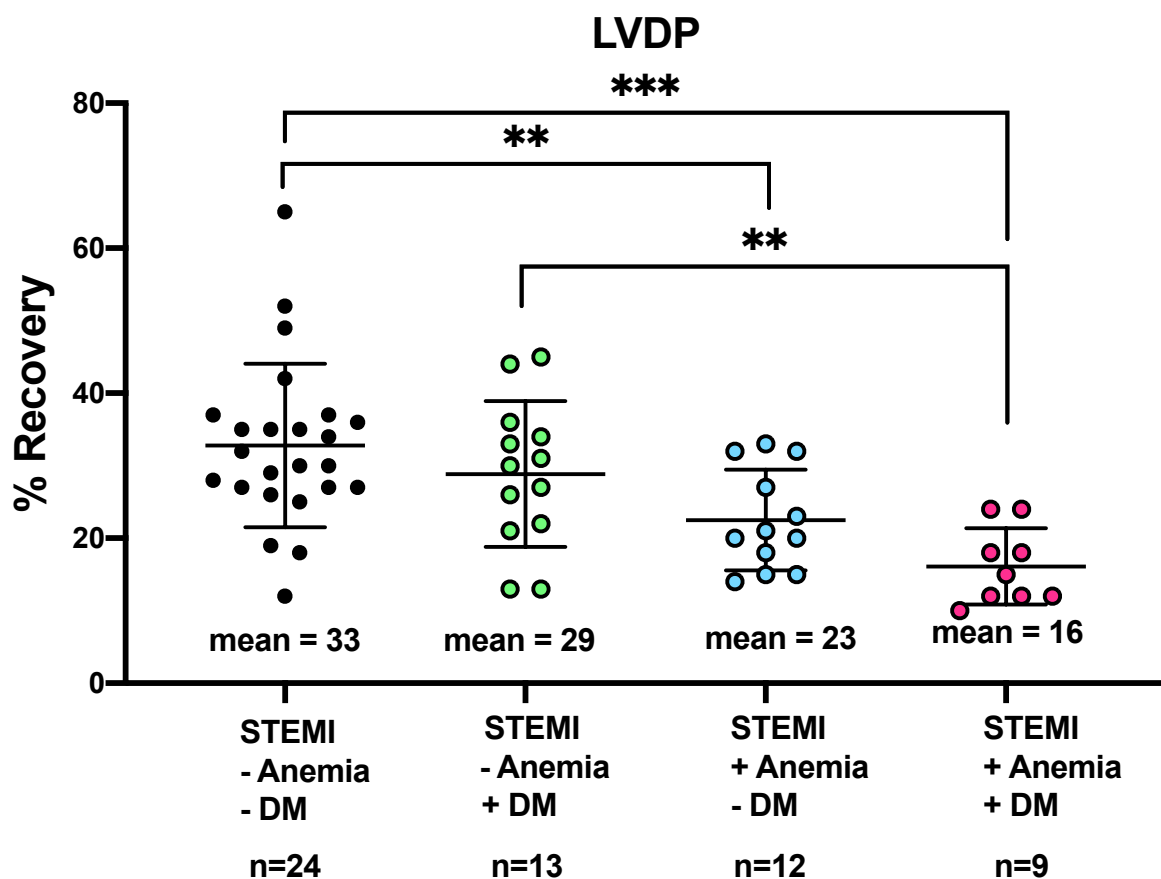


Abb. 6: Kardiale Pumpfunktion des isolierten Herzens nach Ischämie-Reperfusion bei vorliegender Anämie und Diabetes mellitus bei den Patienten. Abgebildet ist die prozentuale Erholung (*Recovery*) (y-Achse) des LVDP (*left ventricular developed pressure*, linksventrikulärer enddiastolischer Druck) im Vergleich zur erhobenen *Baseline*. In Schwarz abgebildet sind die einzelnen Werte aus dem Langendorff-Modell mit den Patientenproben der Patienten mit STEMI (*ST-elevated myocardial infarction*, ST-Hebungsinfarkt), ohne Anämie und ohne Diabetes mellitus (DM) ($n = 24$) mit einem ungefähren Mittelwert (*mean*) von 33 %, in Grün die der Patienten mit STEMI, ohne Anämie und mit Diabetes mellitus ($n = 13$); mittlere Erholung von 29 %, in Blau die der Patienten mit STEMI, Anämie und ohne Diabetes mellitus ($n = 12$), mittlere Erholung von 23 %, in Rot die der Patienten mit STEMI, Anämie und Diabetes mellitus ($n = 9$), mittlere Erholung von 16 %. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sind mit einem Stern markiert (** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). Quelle: Eigene Darstellung.

Wie bereits bei der Betrachtung des Diabetes mellitus zeigte sich unabhängig vom Vorliegen einer arteriellen Hypertonie eine signifikante Verschlechterung der kardialen Pumpfunktion, wenn zusätzlich eine Anämie vorlag.

Bei achtzehn Patienten lag keine Anämie, dafür aber eine arterielle Hypertonie vor. Hier konnte eine Erholung der kardialen Pumpfunktion im Langendorff-Modell von $30,4 \pm 12,3$ % erreicht werden. Im Vergleich zu der Gruppe, bei der zusätzlich eine Anämie vorlag (sechszehn Patienten), zeigte sich eine signifikante (** $p = 0,0077$) Verschlechterung der linksventrikulären Pumpfunktion auf $20,38 \pm 7,77$ %. Lag keiner der beiden Vorerkrankungen vor (siebzehn Patienten), war die Erholung der Pumpfunktion am besten ($32,59 \pm 9,17$ %). Bei fünf Patienten mit Anämie und ohne arterielle Hypertonie war der Wert im Durchschnitt am niedrigsten ($17,8 \pm 2,78$ %). Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zu der Gruppe, bei der zusätzlich eine arterielle Hypertonie vorlag. Somit zeigte sich auch hier die Anämie als größter Einflussfaktor auf die Erholung der Pumpfunktion im Ischämie-Reperfusion-Modell nach Langendorff. Bei Hinzunahme der arteriellen Hypertonie zeigte sich lediglich ein additiver Effekt. Das Signifikanzniveau zwischen der Gruppe ohne Anämie und mit arterieller Hypertonie und der Gruppe mit Anämie und dafür ohne arterielle Hypertonie zeigte sich in der zweifaktoriellen Varianzanalyse nicht.

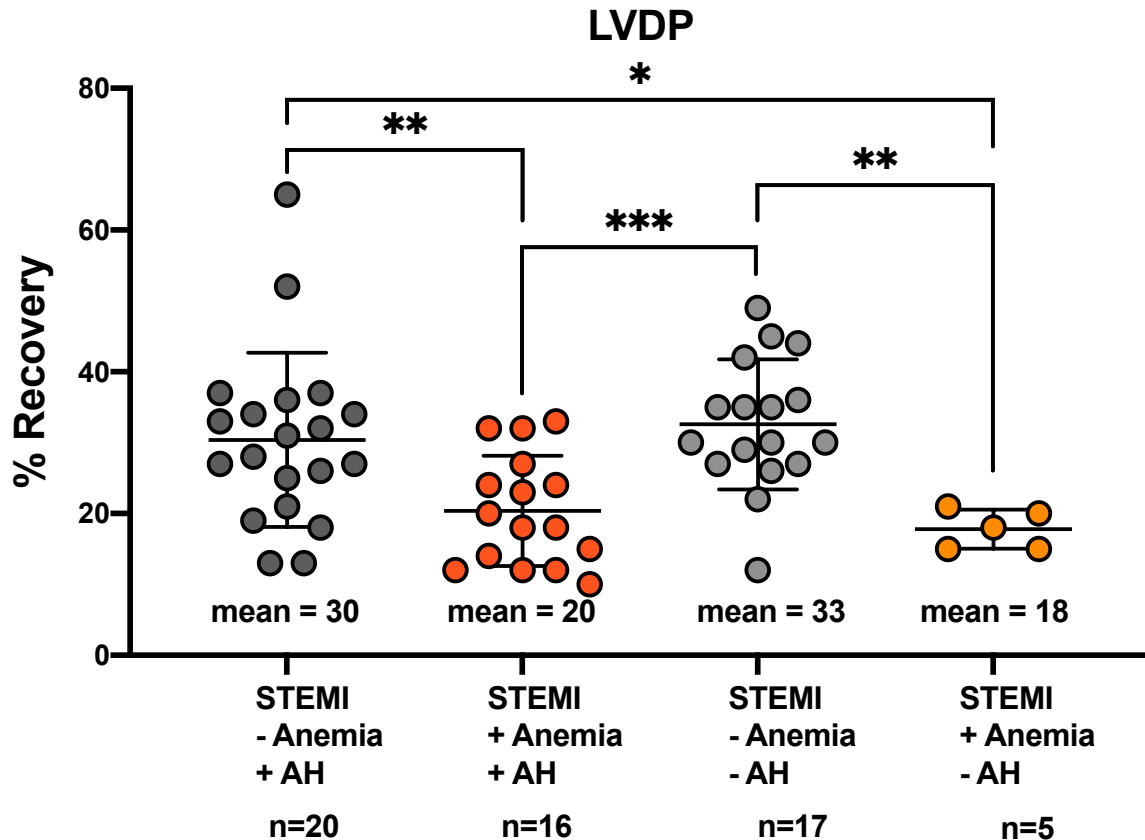


Abb. 7: Kardiale Pumpfunktion des isolierten Herzens nach Ischämie-Reperfusion bei vorliegender Anämie und arterieller Hypertonie bei den Patienten. ist die prozentuale Erholung (Recovery) (y-Achse) des LVDP (*left ventricular developed pressure*, linksventrikulärer enddiastolischer Druck) im Vergleich zur erhobenen *Baseline*. In Schwarz abgebildet sind die einzelnen Werte aus dem Langendorff-Modell mit den Patientenproben der Patienten mit STEMI (*ST-elevated myocardial infarction*, ST-Hebungsinfarkt), ohne Anämie und mit arterieller Hypertonie (AH) ($n = 20$) mit einem ungefähren Mittelwert (*mean*) von 30 %, in Rot die der Patienten mit STEMI, mit Anämie und arterielle Hypertonie ($n = 16$); mittlere Erholung von 20 %, in Grau die der Patienten mit STEMI, ohne Anämie und arterielle Hypertonie ($n = 17$), mittlere Erholung von 33 %, in Orange die der Patienten mit STEMI, mit Anämie und ohne arterielle Hypertonie ($n = 5$), mittlere Erholung von 18 %. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sind mit einem Stern markiert (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$). Quelle: Eigene Darstellung.

Als weiterer Risikofaktor wurde die chronische Nierenerkrankung in die Analyse einbezogen (siehe Abb. 8). Patienten mit einer CKD ab Stadium 3 wurden der Gruppe „mit CKD“ zugeordnet, während Patienten mit einer GFR von über 59 ml/min/1,73m² der Gruppe „ohne CKD“ zugeteilt wurden. Es zeigte sich, dass die Gruppe der 17 Patienten mit Anämie, jedoch ohne CKD, die geringste Erholung der kardialen Pumpfunktion im murinen Langendorff-Modell aufwies – mit $18,47 \pm 6,66$ % des LVDP im Vergleich zur *Baseline*. Im Gegensatz dazu erreichte die Gruppe ohne Anämie und ohne CKD ($n = 32$) mit $31,59 \pm 10,3$ % eine signifikant bessere Erholung (**** $p < 0,0001$) und erzielte damit im Vergleich zu allen anderen Gruppen

das beste Ergebnis. Eine CKD ab Stadium 3 lag insgesamt bei neun der eingeschlossenen Patienten vor. Davon wiesen vier zusätzlich eine Anämie auf und zeigten im Langendorff-Modell mit $25,25 \pm 5,85$ % die geringste Erholung. Die nierenkranken Patienten ohne Anämie erzielten hingegen eine Erholung von $30,2 \pm 15,55$. Dieser Unterschied war in der statistischen Auswertung mittels t-Test signifikant ($*p = 0,02$) und zeigte eine bessere Erholung im Vergleich zur Gruppe der Patienten mit Anämie, jedoch ohne CKD.

In der Auswertung mittels zweifaktorieller Varianzanalyse zeigte sich ein Signifikanzniveau mit $*p = 0,0227$ zwischen der Gruppe ohne Anämie und ohne CKD und der Gruppe mit Anämie und ohne CKD.

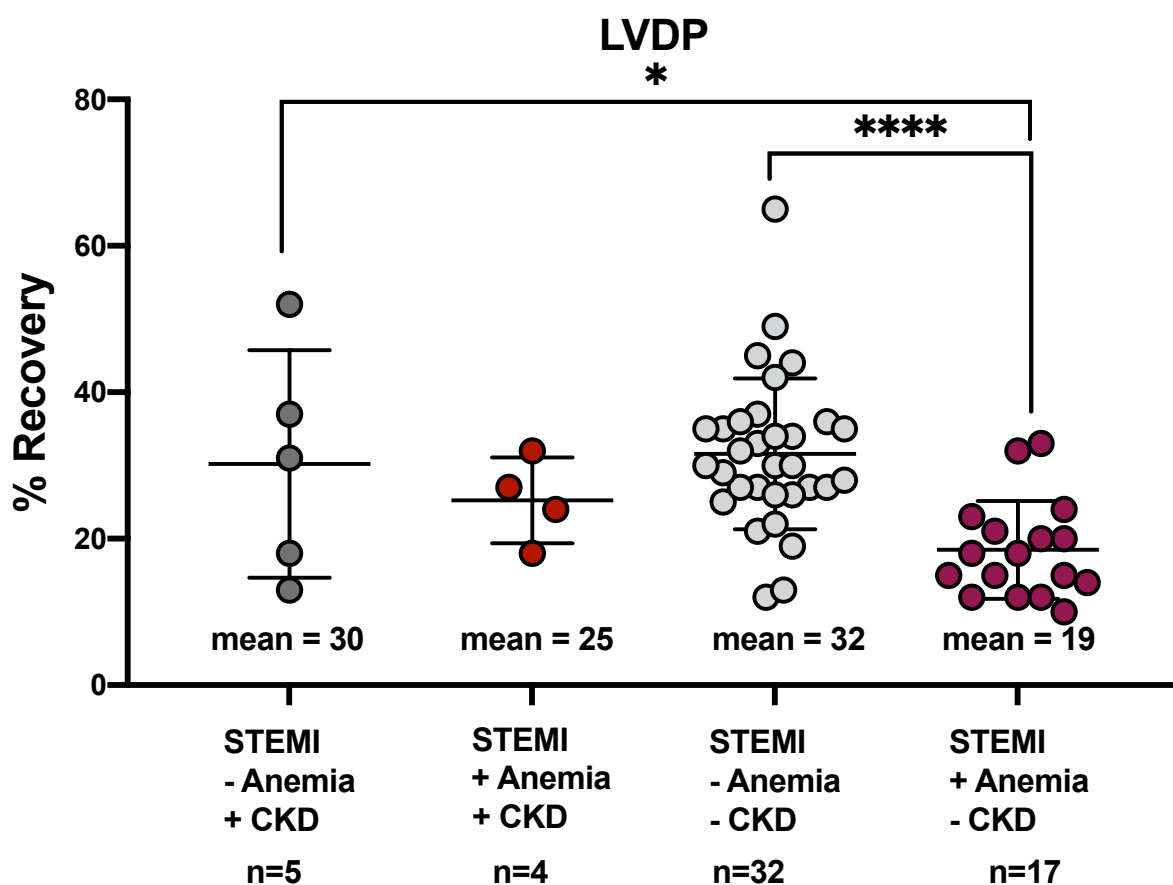


Abb. 8: Kardiale Pumpfunktion des isolierten Herzens nach Ischämie-Reperfusion bei vorliegender Anämie und CKD bei den Patienten. Abgebildet ist die prozentuale Erholung (*Recovery*) (y-Achse) des LVDP (*left ventricular developed pressure*, linksventrikulärer enddiastolischer Druck) im Vergleich zur erhobenen *Baseline*. Ganz links (dunkelgrau) abgebildet sind die einzelnen Werte aus dem Langendorff-Modell mit den Patientenproben der Patienten mit STEMI (*ST-elevated myocardial infarction*, ST-Hebungsinfarkt), ohne Anämie (*Anemia*) und mit CKD (*chronic kidney disease*, chronische Nierenerkrankung) ($n = 5$) mit einem ungefähren Mittelwert (*mean*) von 30 %, in rot die der Patienten mit STEMI, Anämie und CKD ($n = 4$); mittlere Erholung von 25 %, in hellgrau die der Patienten mit STEMI, ohne Anämie und CKD ($n = 32$), mittlere Erholung von 32 %, in lila die der Patienten mit STEMI, Anämie und ohne CKD ($n = 17$), mittlere Erholung von 19 %. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen sind mit einem Stern markiert ($*p < 0,05$, $****p < 0,0001$). Quelle: Eigene Darstellung.

Plasma-Perfusion

Zusätzlich zu der Beladung von Erythrozyten erfolgte ein Versuch mit einer Beladung beziehungsweise Durchlauf von isolierten Plasma-Proben von Patienten mit STEMI und mit und ohne Anämie durch das isolierte Mausherz. Im Gegensatz zu den zuvor genannten Ergebnissen zeigte sich im Plasmaversuch kein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe mit Anämie ($n = 11$) und der Gruppe ohne Anämie ($n = 9$); siehe Abb. 9. Es zeigte sich eine prozentuale Erholung des koronaren Flusses in der anämischen Gruppe von $53,82 \pm 17,26 \%$ vs. $55,33 \pm 18,14 \%$ in der nicht-anämischen Gruppe ($p = 0,85$).

Der LVDP zeigte ebenfalls nach erfolgter Ischämie und Reperfusion keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen (Anämie: $17,64 \pm 5,12$ mmHg vs. Nicht-Anämie $19,22 \pm 5,61$ mmHg). Auch Kontraktilität und Relaxation, im Experiment gemessen an dP/dt_{\max} und dP/dt_{\min} , zeigten kein Signifikanzniveau im direkten Vergleich beider Gruppen. Die Erholung des dP/dt_{\max} lag in der anämischen Gruppe bei $23,36 \pm 9,48 \%$, in der nicht-anämischen Gruppe bei $25 \pm 6,61 \%$ ($p = 0,667$). Die Erholung des dP/dt_{\min} lag in der anämischen Gruppe bei $21,36 \pm 9,03 \%$, in der nicht-anämischen Gruppe bei $21,22 \pm 4,97 \%$ ($p = 0,967$).

Die passenden Rohdatensätze finden sich im Anschluss an die folgende Abbildung in Tabelle 9.

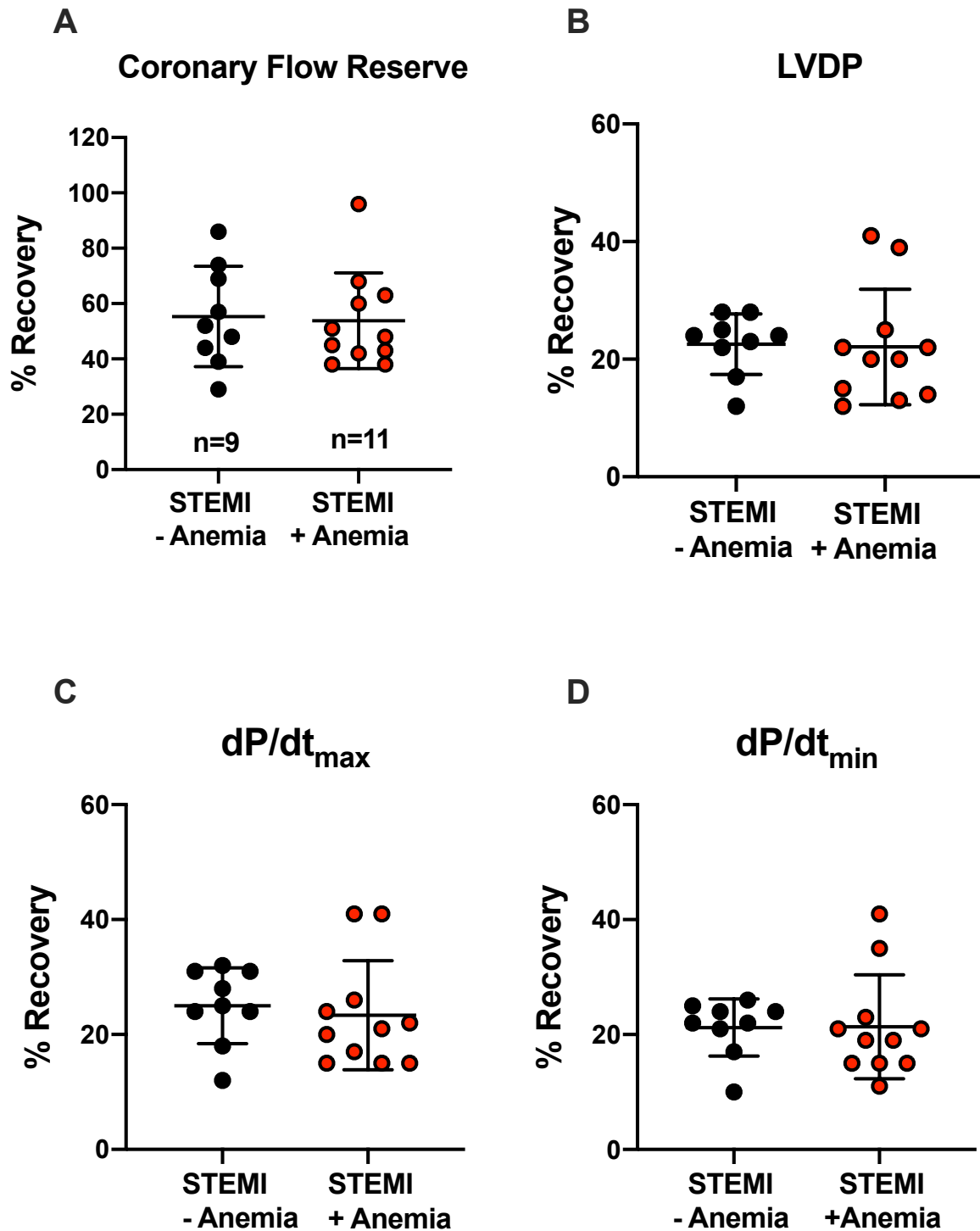


Abb. 9: Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens im Langendorff-Modell nach Perfusion mit Plasma. Abgebildet ist die jeweilige prozentuale Erholung (*Recovery*) (y-Achse) der einzelnen Parameter im Vergleich zur erhobenen *Baseline*. In Schwarz abgebildet sind die einzelnen Werte aus dem Langendorff-Modell mit den Patientenproben der Patienten mit STEMI (*ST-elevated myocardial infarction*, ST-Hebungsinfarkt) und ohne Anämie (*Anemia*) ($n = 9$), in Rot die der Patienten mit STEMI und zusätzlich einer Anämie ($n = 11$). Es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen. A zeigt die *Coronary Flow Reserve* (koronare Flussreserve). B zeigt die Erholung des LVDP (*left ventricular developed pressure*, linksventrikulärer enddiastolischer Druck). Auch Abbildung C und D zeigen keinen Vorteil zugunsten einer Gruppe gemessen am dP/dt_{min} (minimale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckabfall = Relaxation) und dP/dt_{max} (maximale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckanstieg = Kontraktilität). Quelle: Eigene Darstellung.

Grunddatensatz Plasmaloading von STEMI-Patienten

Fluss						LVDP						
Baseline [ml/min]		Nach 60 Minuten Erholung [ml/min]		Prozentuale Erholung [%]		Baseline [mmHg]		Nach 60 Minuten Erholung [mmHg]		Prozentuale Erholung [%]		
Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	
3,7	3,2	2,1	1,2	57	38	104	81	29	11	28	14	
3,1	2,1	1,2	1	39	48	85	77	19	17	22	22	
2,8	2,9	0,8	1,3	29	45	54	89	13	12	24	13	
2,3	4,2	1,7	1,8	74	43	76	92	21	11	28	12	
4,8	3,8	2,1	2,6	44	68	111	85	13	21	12	25	
2,3	1,9	1,2	0,8	52	42	75	110	13	17	17	15	
2,2	1	1,9	0,6	86	60	80	51	19	21	24	41	
2,9	1,9	2	1,2	69	63	91	72	21	28	23	39	
4,2	2,4	2	0,9	48	38	99	86	25	17	25	20	
	2,4		2,3		96		82		18		22	
	3,5		1,8		51		105		21		20	
Mittelwert ± Standardabweichung:	3,144 ± 0,913	2,664 ± 0,953	1,667 ± 0,48	1,409 ± 0,638	55,33 ± 18,14	53,82 ± 17,26	86,11 ± 17,41	84,55 ± 15,82	19,22 ± 5,608	17,64 ± 5,124	22,56 ± 5,151	22,09 ± 9,803
p-Wert:	0,268		0,331		0,851		0,8356		0,5175		0,8995	

dP/dt _{max}						dP/dt _{min}						
Baseline [mmHg/s]		Nach 60 Minuten Erholung [mmHg/s]		Prozentuale Erholung [%]		Baseline [mmHg/s]		Nach 60 Minuten Erholung [mmHg/s]		Prozentuale Erholung [%]		
Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	Ohne Anämie	Mit Anämie	
3916	3154	1209	468	31	15	-3152	-2376	-795	-351	25	15	
3275	3251	777	679	24	21	-2444	-2114	-532	-437	22	21	
2031	3379	570	489	28	15	-1565	-2592	-377	-392	24	15	
2804	3370	887	488	32	15	-2331	-2786	-614	-298	26	11	
4289	3244	526	858	12	26	-3608	-2534	-378	-594	10	23	
2907	4299	510	722	18	17	-2917	-3444	-377	-511	17	15	
2981	2137	739	868	25	41	-2440	-1451	-586	-592	24	41	
3505	2988	841	1114	24	41	-2792	-2233	-598	-778	21	35	
3737	3466	1155	695	31	20	-3163	-2651	-705	-495	22	19	
	3177		764		24		-2432		-516		21	
	3998		861		22		-3352		-625		19	
Mittelwert ± Standardabweichung:	3272 ± 679,8	3288 ± 573,7	801,6 ± 254,7	727,8 ± 197,6	25,00 ± 6,614	23,36 ± 9,479	-2712 ± 597,4	-2542 ± 552,5	-551,3 ± 150,6	-508,1 ± 137,3	21,22 ± 4,969	21,36 ± 9,025
p-Wert:	0,9554		0,4748		0,6672		0,183		0,5107		0,967	

Tabelle 10: Rohdatensatz zum Versuchsaufbau mit Plasma. Die vorliegende Tabelle zeigt den Grunddatensatz zum Versuchsaufbau mit Plasma-Perfusion innerhalb von 24 h nach stattgehabtem STEMI (*ST-elevated myocardial infarction*, ST-Hebungsinfarkt). Zu sehen sind sowohl die gemessenen Daten, die berechneten Mittelwerte mit Standardabweichung, wie auch die daraus im t-Test resultierenden p-Werte. Dabei bezeichnet die *Baseline* die erhobenen Werte vor der Ischämieauslösung. Die dritte und vierte Spalte bezieht sich jeweils auf die erhobenen Werte nach 60 min und die letzten beiden Spalten der jeweiligen Parameter zeigen die prozentuale Erholung nach 60 min im Vergleich zur *Baseline*. (dP/dt_{min} = minimale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckabfall; dP/dt_{max} = maximale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckanstieg; min = Minute, mmHg = Millimeter Quecksilbersäule; mmHg/s = Millimeter Quecksilbersäule pro Sekunde; % = Prozent) Quelle: Eigene Darstellung. Quelle: Eigene Darstellung.

Erythrozyten-Perfusion fünf Tage nach stattgehabtem STEMI

Fünf Tage nach stattgehabtem STEMI erfolgte zur genauen Beurteilung der Erholung der Erythrozyten nach Infarktgeschehen eine erneute Blutabnahme bei den Patienten, sowie eine Wiederholung des Langendorff-Modell-Experiments. Hier zeigte sich im Durchschnitt sowohl in der Gruppe mit Anämie als auch ohne Anämie ein leichter Anstieg der linksventrikulären Pumpfunktion, jedoch keine signifikante Verbesserung des koronaren Flusses oder der Pumpfunktion in beiden Gruppen. In der anämischen Gruppe wurden acht Patienten eingeschlossen, in der nicht-anämischen Gruppe konnten neun Patienten einbezogen werden. Wie in Abb. 10 B zu sehen ist, zeigte sich eine Verbesserung der prozentualen Erholung der linksventrikulären Funktion von 15,75 ± 3,85 % an Tag eins auf 21,88 ± 10,01 % an Tag fünf.

In der Patientengruppe ohne Anämie zeigte sich ein Anstieg von $30,22 \pm 9,59$ % an Tag eins auf $32,56 \pm 12,66$ % nach fünf Tagen. Der dP/dt_{\max} zeigte bei den nicht-anämischen Patientenproben, die 24 h nach STEMI gewonnen wurden, eine Erholung von $32,33 \pm 12,06$ %. In der anämischen Gruppe zeigte sich an Tag eins eine Erholung von $17,63 \pm 3,82$ % 1 h nach erfolgter Ischämie. Bei den Patientenproben, die fünf Tage nach stattgehabtem STEMI gewonnen wurden, verbesserte sich dieser Wert auf $35,11 \pm 14,39$ % (nicht-anämische Patienten) beziehungsweise $23,38 \pm 10,78$ %. Ähnlich dazu zeigte sich auch der dP/dt_{\min} mit Werten von $25,89 \pm 9,14$ % (nicht-anämisch) vs. $14,5 \pm 3,12$ % (anämisch) bei den Proben gewonnen an Tag eins mit einer jeweiligen Verbesserung auf $28,78 \pm 11,99$ % (nicht-anämisch) vs. $19,25 \pm 8,7$ % (anämisch) an Tag fünf.

Der koronare Fluss zeigte an Tag eins eine Erholung von $78,44 \pm 21,37$ % und an Tag fünf von $86 \pm 16,85$ % in der nicht-anämischen Gruppe sowie $79,13 \pm 27,97$ % an Tag eins und $69 \pm 20,56$ % an Tag fünf in der anämischen Gruppe. Somit zeigte sich im Durchschnitt eine leichte, jedoch keine signifikante Verbesserung der linksventrikulären Herzarbeit, der Relaxation und Kontraktilität nach fünf Tagen im Vergleich zu Tag eins.

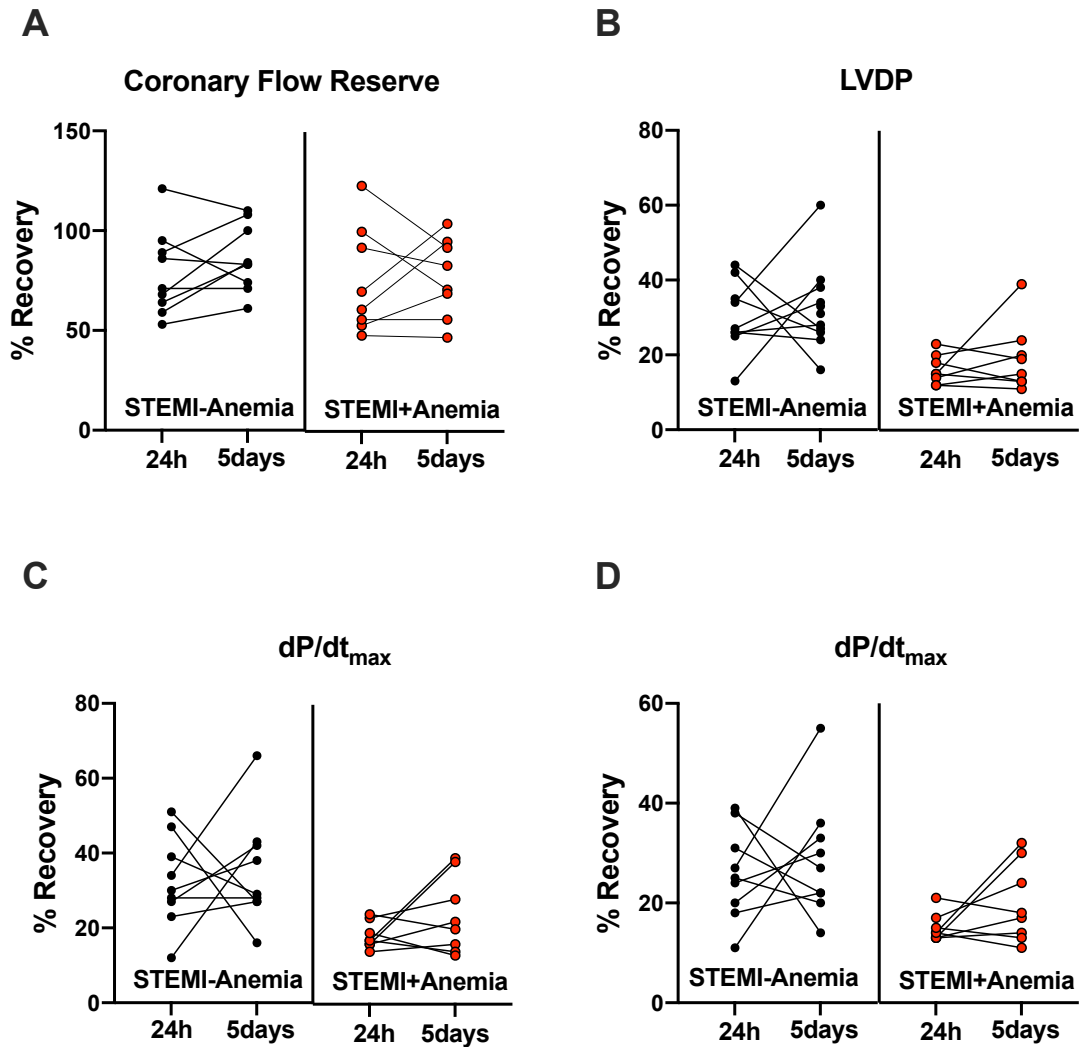


Abb. 10: Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens im Langendorff-Modell nach Perfusion mit Erythrozyten von Tag 1 und Tag 5 nach STEMI. Abgebildet ist die jeweilige prozentuale Erholung (*Recovery*) (y-Achse) der einzelnen Parameter im Vergleich zur erhobenen *Baseline*. In Schwarz abgebildet sind die einzelnen Werte aus dem Langendorff-Modell mit den Patientenproben der Patienten mit STEMI (*ST-elevated myocardial infarction*, ST-Hebungsinfarkt) und ohne Anämie (*Anemia*) ($n = 9$), in Rot die der Patienten mit STEMI und zusätzlich einer Anämie ($n = 8$). Die Werte der einzelnen Patienten an Tag 1 und Tag 5 nach stattgehabtem STEMI sind mit einer Linie verbunden. A zeigt die *Coronary Flow Reserve* (koronare Flussreserve). B zeigt die Erholung des LVDP (*left ventricular developed pressure*, linksventrikulärer enddiastolischer Druck) im Vergleich zwischen den Gruppen mit und ohne Anämie an Tag 1 und Tag 5, jedoch ohne signifikante Unterschiede. Tendenziell zeigt sich nach 5 Tagen im Vergleich zu Tag 1 eine bessere Erholung des LVDP sowie der Parameter dP/dt_{min} (minimale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckabfall = Relaxation, Abb. C) und dP/dt_{max} (maximale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckanstieg = Kontraktilität, Abb. D) in beiden Gruppen. Quelle: Eigene Darstellung.

Experimentelle Untersuchung an Herzen von naiven, chronisch & akut anämischen Mäusen

Es erfolgte die Durchführung des Langendorff-Experiments mit isolierten Herzen von Mäusen ohne induzierte Anämie, mit induzierter akuter oder chronischer Anämie. Die Perfusion der Herzen erfolgte nicht mit Patientenblut, sondern mit Pufferlösung. Es konnten zehn nicht-anämische, neun akut anämische und neun chronisch anämische Mäuse in den Versuch eingeschlossen werden. Aufgezeichnet wurden die *Baseline*-Werte, die Werte nach 40 min Ischämie sowie nach einstündiger Reperfusion. In Abb. 11 sind die *Baseline*-Werte der drei Gruppen des koronaren Flusses, des LVDP, des dp/dt_{max} und dp/dt_{min} vor erfolgter Ischämie und Reperfusion abgebildet.

Der koronare Fluss zeigte zwischen den einzelnen Gruppen keine signifikanten Unterschiede. In der Gruppe der *Sham*-Tiere (keine Anämie) lag der koronare Fluss vor Auslösung der Ischämie bei $2,93 \pm 0,61$ ml/min. In der Gruppe der akut anämischen Mäuse lag dieser Wert bei $2,46 \pm 0,64$ ml/min und in der chronisch anämischen Gruppe bei $3,57 \pm 1,6$ ml/min.

Guckt man sich nun die anderen Parameter bezüglich der kardialen Pumpfunktion an, zeigten sich hier sehr eindeutige Unterschiede. Die *Baseline* des LVDP lag bei den *Sham*-Tieren bei $97,6 \pm 11,25$ mmHg. Signifikant (** $p = 0,0058$) erniedrigt war im Vergleich dazu der LVDP bei den Tieren mit einer akuten Anämie, $85,56 \pm 2,13$ mmHg betrug. Im Vergleich zur akuten Mausgruppe weiter signifikant (**** $p < 0,0001$) erniedrigt zeigte sich die *Baseline* des LVDP in der Gruppe der chronisch anämischen Mäuse mit einem Wert von $75,78 \pm 3,38$ mmHg.

Parallel dazu zeigte sich der dp/dt_{max} und dp/dt_{min} . Die Kontraktilität gemessen am dp/dt_{max} zeigte sich bei den *Sham*-Tieren bei $3728 \pm 506,1$ mmHg/s, bei den akut anämischen Tieren signifikant (* $p = 0,026$) erniedrigt bei $3245 \pm 331,1$ mmHg/s und bei den chronisch anämischen Tieren verglichen mit den akut anämischen Tieren nochmals signifikant (*** $p = 0,001$) erniedrigt mit $2739 \pm 179,9$ mmHg/s.

Die Relaxation gemessen am dp/dt_{min} zeigte folgende Werte: in der *Sham*-Gruppe -3200 ± 431 mmHg/s, in der akut anämischen Gruppe $-2681 \pm 114,2$ mmHg/s, in der chronisch anämischen Gruppe $-2329 \pm 195,8$ mmHg/s. Dabei zeigen höhere negative Werte eine bessere Relaxation an. Im Vergleich haben die Mausherzen der nicht-anämischen Mäuse eine signifikant (** $p = 0,0028$) bessere Relaxation gezeigt, als die der akut anämischen Mäuse und eine noch deutlich bessere (**** $p < 0,0001$) Relaxation als die der chronisch anämischen Mäuse.

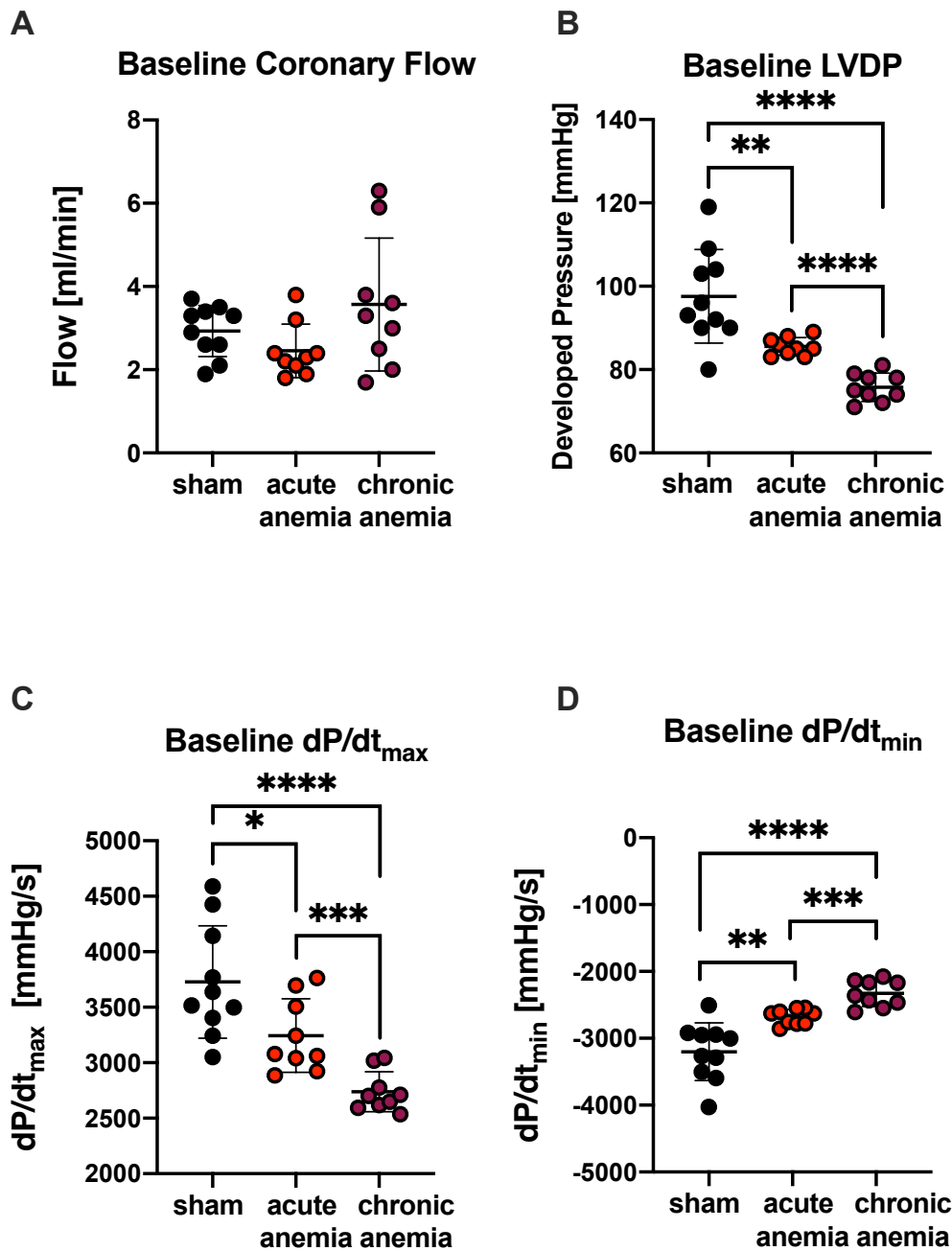


Abb. 11: Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens von nicht-anämischen, akut und chronisch anämischen Mäusen im Langendorff-Modell vor Ischämie und Reperfusion. Abgebildet ist die jeweilige *Baseline-Werte* (y-Achse) der einzelnen Parameter vor Ischämie und Reperfusion. In Schwarz sind die Einzelwerte aus dem Langendorff-Modell der *Sham*-Tieren (nicht-anämisch, $n = 10$) dargestellt, in Rot die der Mäuse mit induzierter akuter Anämie ($n = 9$) und in Lila die der Mäuse mit induzierter chronischer Anämie ($n = 9$). A zeigt die *Coronary Flow Reserve* (koronare Flussreserve) in ml/min (= Milliliter pro Minute), die sich zwischen den Gruppen kaum unterscheidet. B zeigt den LVDP (*left ventricular developed pressure*, linksventrikulärer enddiastolischer Druck) in mmHg (= Millimeter Quecksilbersäule) mit signifikant höheren Werten bei den *Sham*-Tieren und den niedrigsten Werten bei den chronisch anämischen Tieren. C zeigt den dP/dt_{max} (maximale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckanstieg = Kontraktilität) und D zeigt den dP/dt_{min} (minimale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckabfall = Relaxation) jeweils in mmHg/s (= Millimeter Quecksilbersäule pro Sekunde). Je niedriger der dP/dt_{min} , desto besser die Relaxation. Hier zeigen sich ebenfalls die höchste Kontraktilität und Relaxation bei den Mausherzen der *Sham*-Tiere, danach bei den akut anämischen Mäusen und die niedrigsten Werte bei den chronisch anämischen Mausherzen. Signifikante Unterschiede zwischen den jeweiligen Gruppen sind mit einem Stern markiert (* $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$). Quelle: Eigene Darstellung.

Zusätzlich zu den *Baseline*-Werten erfolgte außerdem die Aufzeichnung der Werte nach 40 min Ischämie und 1h Reperfusion. Die Perfusion erfolgte in diesem Fall nicht mit Blut, sondern mit Pufferlösung. Wie in Abb. 12 dargestellt, zeigte sich nach Durchführung des Versuchs eine Angleichung der jeweiligen Werte, die im Folgenden näher erläutert wird. Angegeben ist hier erneut die prozentuale Erholung in Abhängigkeit von den Ausgangswerten, nicht der absolute Wert. Die koronare Flussreserve zeigte in allen drei Gruppen eine gute Erholung auf: $92 \pm 27,62$ % in der *Sham*-Gruppe, $124,2 \pm 44,02$ % in der Gruppe mit akuter Anämie und $97,33 \pm 26,45$ % in der Gruppe mit chronischer Anämie. Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Vergleich der einzelnen Gruppen. Die prozentuale Erholung des LVDP von der *Baseline* zeigte sich in der chronisch anämischen Gruppe am besten mit $44,44 \pm 14,98$ % gegenüber den akut anämischen Mauserzen mit $41,33 \pm 17,12$ % und den nicht-anämischen Mauserzen mit $33,3 \pm 12,94$ %. Signifikante Unterschiede zeigten sich jedoch nicht. Auch der dP/dt_{\max} und dP/dt_{\min} zeigten ähnliche Ergebnisse. Der prozentuale dP/dt_{\max} in der nicht-anämischen Gruppe betrug $38 \pm 15,87$ %, $45,11 \pm 20,9$ % in der akut anämischen Gruppe und $49,87 \pm 16,10$ % in der chronisch anämischen Gruppe. Der dP/dt_{\min} zeigte eine Erholung nach Ischämie und Reperfusion von $29,79 \pm 11,54$ % (*Sham*-Tiere) vs. $37,11 \pm 15,02$ % (akut anämische Tiere) vs. $41,44 \pm 15,31$ % (chronisch anämische Tiere).

Zusammengefasst zeigte sich somit sowohl vor als auch nach der Versuchsdurchführung eine konstante koronare Flussreserve ohne Unterschiede zwischen den einzelnen Gruppen. Die linksventrikuläre Herzarbeit (Pumpfunktion), Kontraktilität und Relaxation des linken Ventrikels zeigte sich vor der Ischämie in den chronisch anämischen Mauserzen deutlich herabgesetzt und auch in den akut anämischen Mauserzen signifikant vermindert im Vergleich zu der Kontrollgruppe (*Sham*-Tiere). Die prozentuale Erholung nach Ischämie und Reperfusion zeigte sich jedoch dann ohne signifikante Unterschiede in den einzelnen Gruppen und sogar tendenziell am besten bei den Herzen aus chronisch anämischen Mäusen.

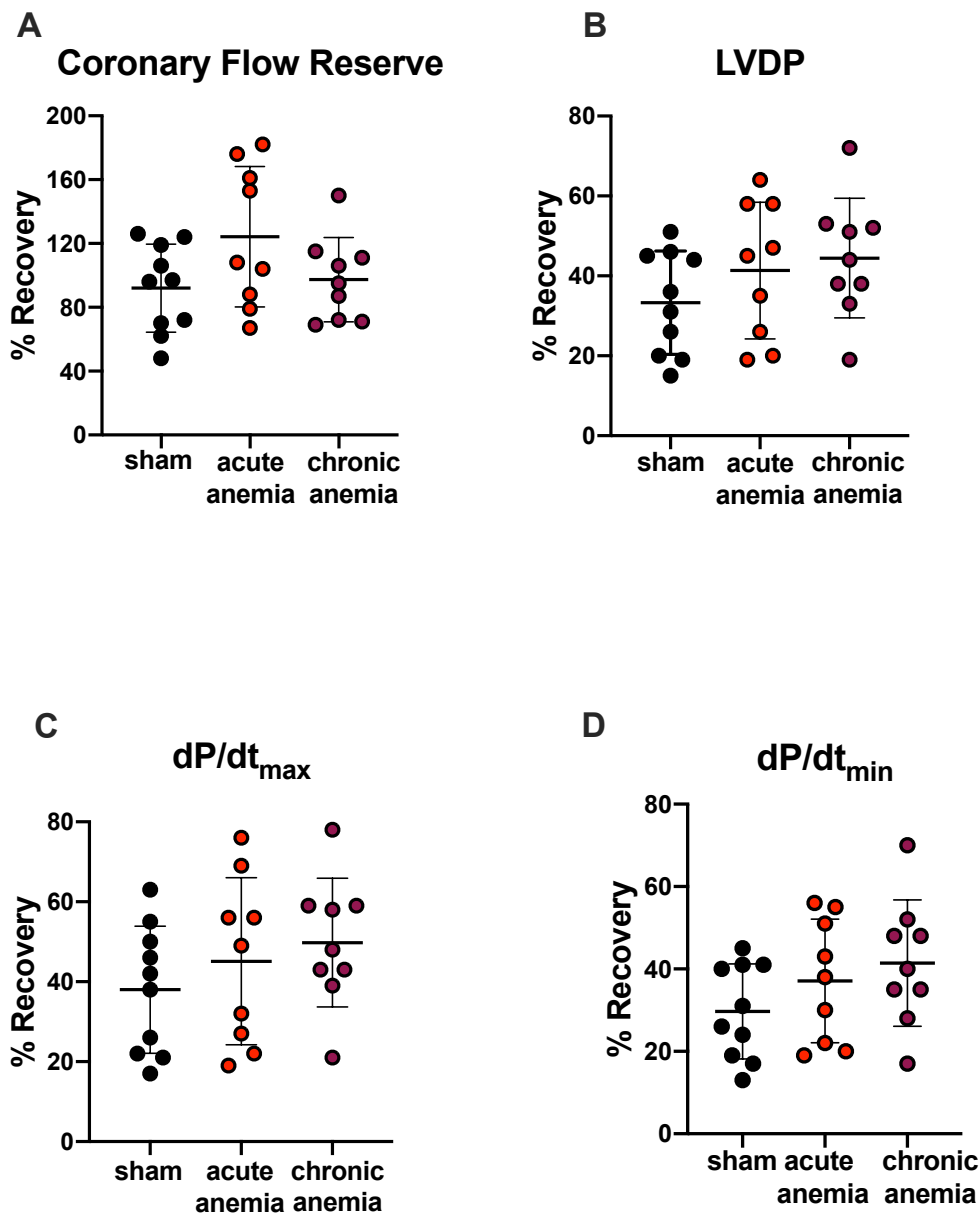


Abb. 12: Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens von nicht-anämischen, akut und chronisch anämischen Mäusen im Langendorff-Modell nach Ischämie und Reperfusion. Abgebildet ist die jeweilige prozentuale Erholung (*Recovery*) (y-Achse) der einzelnen Parameter nach Ischämie und Reperfusion in Abhängigkeit von den *Baseline*-Werten. In Schwarz sind die Einzelwerte aus dem Langendorff-Modell der *Sham*-Tieren (nicht-anämisch, $n = 10$) dargestellt, in Rot die der Mäuse mit induzierter akuter Anämie ($n = 9$) und in Lila die der Mäuse mit induzierter chronischer Anämie ($n = 9$). A zeigt die prozentuale *Coronary Flow Reserve* (koronare Flussreserve) in ml/min (= Milliliter pro Minute), die sich zwischen den Gruppen nicht signifikant unterscheidet. B zeigt den prozentualen LVDP (*left ventricular developed pressure*, linksventrikulärer enddiastolischer Druck) mit keiner signifikanten Überlegenheit einer Gruppe. C und D zeigen den prozentualen dP/dt_{max} (maximale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckanstieg = Kontraktilität) und dP/dt_{min} (minimale Rate des linksventrikulären Druckanstiegs = schnellster Druckabfall = Relaxation). Es liegen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen vor. Die höchste durchschnittliche Erholung zeigte sich in der Gruppe der chronisch anämischen Mäuserherzen. Quelle: Eigene Darstellung.

4.2 Durchflusszytometrie

Um zu überprüfen, ob die Erythrozyten den wesentlichen Einfluss auf die Ergebnisse des Langendorff-Modells ausüben, wurden sowohl die Vollblutprobe als auch die zentrifugierten Proben mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Es erfolgte die Identifikation der Zellen mittels spezifischer Antikörper für Erythrozyten und Thrombozyten.

Zu Beginn– vor Durchführung der Waschschritten – zeigte sich, dass ungefähr 99,4 % der Zellen Erythrozyten waren. Thrombozyten machten rund 0,34 % der Zellen aus. Die übrigen Zelltypen, in Abb. 13 als „*Other cells*“ (andere Zellen) bezeichnet, wurden in der weiteren Versuchsreihe nicht näher differenziert. Es zeigte sich, dass die übrigen Zellbestandteile des gewonnenen Blutes durch die einzelnen Waschschriffe extrahiert beziehungsweise ausgewaschen werden konnten. Bereits nach dem ersten Waschschriff machten die Erythrozyten 99,8 % der verbliebenen Zellen aus.

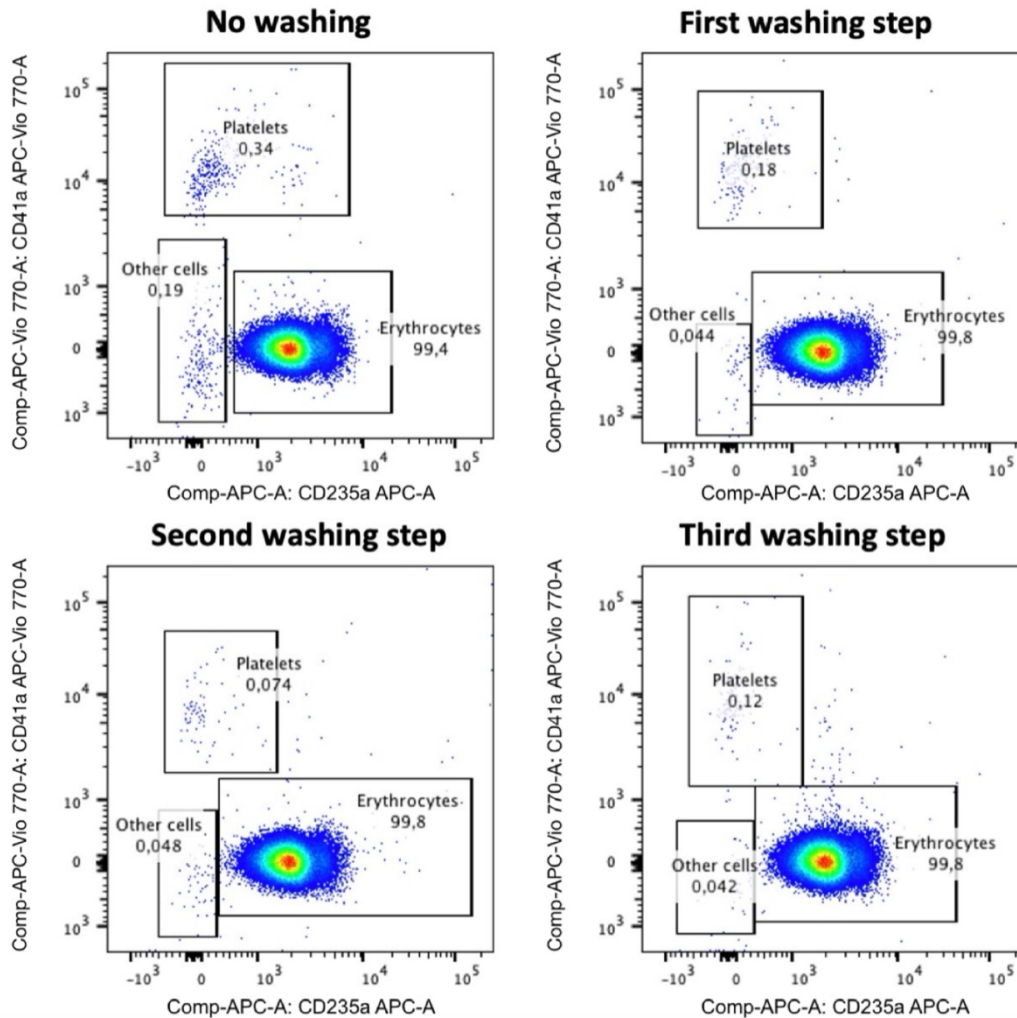


Abb. 13: Zellverteilung in den Proben nach erfolgten Waschschritten. Jeder einzelne Graph zeigt ein Ergebnis aus der FACS-Analyse (*Fluorescence-Activated Cell Sorting*, Fluoreszenz-aktivierte Zellsortierung) mit einer gewonnenen Probe nach dem jeweiligen Waschschrift beziehungsweise ohne einen Waschschrift. Auf der x-Achse ist der Antikörper gegen CD235a mit dem dazugehörigen Fluorochrom APC abgebildet. Somit lassen sich rechts in den jeweiligen Abbildungen die exprimierenden Erythrozyten (*erythrocytes*) darstellen, die jeweils mit einem Viereck eingefasst wurden. Auf der y-Achse ist der Antikörper gegen CD41a mit dem Fluorochrom APC-Vio 770 aufgezeichnet. Je höher man also auf der y-Achse geht, desto eher befinden sich dort die Thrombozyten (*platelets*); sie machen nach dem dritten und letzten Waschschrift ungefähr 0,12 % aus. Die jeweilige Zahl, die neben den Zellbezeichnungen steht, gibt somit den prozentualen Anteil an allen Zellen, die gemessen wurden, an. Die übrigen Zellen (*other cells*), die nach dem letzten Waschschrift 0,042 % der Zellen ausmachen bleiben unspezifiziert. Quelle: Eigene Darstellung.

5 Diskussion

5.1 Anämie bei STEMI-Patienten

Ziel dieser Arbeit war es, die erythrozytäre Funktion in der Anämie bei Patienten mit akutem ST-Hebungsinfarkt zu charakterisieren und die Auswirkungen auf den kardialen Schaden im Ischämie-Reperfusionen-Modell zu untersuchen. Viele Studien konnten zeigen, dass bei Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt und einer begleitenden Anämie bei Aufnahme eine erhöhte Mortalität vorliegt. [124, 125]

Bei dem gewählten Protokoll für das Langendorff-Modell mit Perfusion durch Erythrozyten handelt es sich um eine leicht modifizierte Form des bereits etablierten Protokolls nach Yang et al. [148]. Dieses ermöglicht eine präzise Analyse der Auswirkungen von Erythrozyten auf die kardiale Funktion. Die Perfusion der Maus Herzen mit humanen Proben erfolgt dabei erst kurz vor Beginn der Ischämie. Dadurch kann der Blutverbrauch minimiert und eine potenzielle Hämolyse verringert werden. Nach der Ischämie erfolgt eine Reperfusion mit dem hergestellten Krebs-Henseleit-Puffer. [148]

Die Patientencharakteristika in unserer Studie zeigten erwartungsgemäß einen signifikanten Unterschied im laborchemischen Nachweis des Hämoglobin- und Hämatokritwertes. Die mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration zeigte sich ebenfalls signifikant erniedrigt in der Patientengruppe mit STEMI und Anämie. Die Werte beider Gruppen waren jedoch im Normbereich bei Grenzwerten zwischen 32 und 36 g/dl. Das MCH zeigte sich in beiden Gruppen normwertig, in der anämischen Gruppe jedoch leicht erniedrigt. [149] Auch der Retikulozytenindex zeigte sich nicht erhöht, was eine Unterproduktion von Erythrozyten widerspiegelt. [126]

Es handelt sich bei der Gruppe der eingeschlossenen Patienten mit Anämie somit am ehesten um chronisch kranke Patienten mit einer milden normozytären und normochromen Anämie. In Betrachtung der klinischen Aspekte schien diese Form der Anämie sehr wahrscheinlich, da nicht nur eine hohe Zahl an bereits diagnostizierten Vorerkrankungen bei den Patienten vorlag, sondern auch die Dunkelziffer an weiteren Nebendiagnosen vermutlich um einiges höher war. Das signifikant vermehrte Vorliegen einer pAVK bei Patienten mit Anämie in diesem Setting scheint aufgrund dieser hohen Dunkelziffer und der niedrigen Fallzahl als vernachlässigbar und

müsste zur genaueren Betrachtung bei den hospitalisierten Patienten untersucht beziehungsweise explizit ausgeschlossen werden, um eine reliable Aussage an dieser Stelle treffen zu können.

Insgesamt wird die Bevölkerung der westlichen Industrieländer immer älter, was mit einer Zunahme von Multimorbidität einhergeht. Studien konnten zeigen, dass mehr als die Hälfte der Patienten mit einem AMI mindestens eine nicht-kardiovaskuläre Vorerkrankungen aufweist. [150, 151]

Die Kreatinkinase als unspezifischer Marker für Zellzerfall zeigte sich in beiden Gruppen erhöht, lag jedoch mit 849 U/l in der anämischen Gruppe noch deutlich unter dem typischerweise zu erwartenden Wert bei einem AMI. Der Wert kann zusätzlich bei zum Beispiel einem Liegetrauma, Rhabdomyolyse, nach Medikamenteneinnahme und bei schweren Nierenschädigungen bereits im Vorfeld erhöht sein. [2, 58, 60, 152]

Die Ergebnisse dieser Arbeit beziehen sich zusammenfassend auf überwiegend chronisch erkrankte Patienten mit einer milden, normozytären und normochromen Anämie. Eine Übertragung der gewonnenen Erkenntnisse auf andere Anämieformen ist daher nur eingeschränkt möglich.

In der vorliegenden Untersuchung konnten Unterschiede in der Sauerstoffversorgung ausgeschlossen werden, da für beide Gruppen ein identischer Hämatokrit-Wert rekonstruiert wurde.

Wie bereits in Abb. 2 dargestellt, besitzt Hämoglobin die Fähigkeit, NO zu binden und dadurch dessen Bioverfügbarkeit zu verringern. Wischmann et al. zeigten, dass neben NO auch die Konzentration oxidativer Metabolite in den Erythrozyten von Patienten mit STEMI ohne Anämie signifikant höher waren, als bei STEMI-Patienten mit Anämie. Im Plasma hingegen fanden sich keine Unterschiede in der Konzentration dieser oxidativen Metabolite. [120]

Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass Hämoglobin einen relevanten Einfluss auf die Konzentration und Verfügbarkeit von NO hat und somit in komplexe zelluläre und systemische Prozesse eingreift.

5.2 Kardioprotektiver Effekt humaner Erythrozyten im *ex vivo* Langendorff-Modell

Bestimmte Studien konnten bereits zeigen, dass Erythrozyten von STEMI-Patienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe im *ex vivo*-Modell einen protektiven Effekt haben. Es zeigte sich in der Patientengruppe mit STEMI unter anderem eine signifikante Reduktion der Infarktgröße sowie eine signifikant bessere Erholung der linksventrikulären Pumpfunktion im Ischämie-Reperfusion-Modell. [122]

Vorarbeiten konnten zeigen, dass Anämie zu einer Erythrozyten-Dysfunktion sowohl im Mausmodell als auch bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom führt. Hierbei ist eine Hochregulierung der kardialen und vaskulären eNOS notwendig, um den reduzierten NO-Pool bei Anämie zu kompensieren. [111]

Studien zeigten, dass die verbliebenen Erythrozyten durch einen erhöhten Umsatz, Eryptose, Membranfragilität sowie ein gestörtes Redoxgleichgewicht mit erhöhter Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies gekennzeichnet sind. [111, 120-122]

In anämischen Mäusen konnte außerdem eine erhöhte Hämolyse mit vermehrtem plasmatischem, zellfreiem Hämoglobin sowie eine gesteigerte Produktion reaktiver Sauerstoffspezies nachgewiesen werden. [111] Dieses zellfreie Hämoglobin bindet im Rahmen der Hämolyse NO und führt zum Beispiel über eine gestörte NO-abhängige Vasodilatation und weitere systemische Veränderungen zu einer Organfunktionsstörung. Unter anderem kommt es zu einer insuffizienten Aktivierung der sGC und insgesamt zu einer veränderten NO-Bioverfügbarkeit. [153-156]

Der Pathomechanismus der Kardioprotektion beruht unter anderem auf der Stimulierung des purinergen Signalwegs und des P2Y₁₃-Rezeptors, was über nachgeschaltete Signalwege zu einer Aktivierung des NO-sGC-Signalwegs in Erythrozyten und der kardialen PKG führt. [121, 157]

NO spielt dabei eine entscheidende Rolle. Es gilt als Signalmolekül, das die Funktion der Gefäßwände und einiger Blutzellen moduliert. Es wird durch die Umwandlung von L-Arginin zu L-Citrullin über NO-Synthasen synthetisiert. Es wurde gezeigt, dass Erythrozyten nicht nur

NO transportieren, sondern auch über eine funktionelle endotheliale NO-Synthase zum zirkulierenden NO-Pool beitragen. [113]

Neben der beschriebenen enzymatischen Produktion von NO, entsteht dieses zusätzlich bei Gewebsazidose während der Ischämie bei niedrigem pO₂ und hoher NADH-Konzentration aus Nitrit. [158]

Kommt es nun zu oxidativem Stress, führt das zu einer Imbalance zwischen oxidativen und antioxidativen Enzymen. Es kommt zu einer hohen Konzentration an reaktiven Sauerstoffradikalen (ROS). Auch in der Anämie konnte bereits bei Mäusen eine erhöhte Konzentration an ROS nachgewiesen werden. Als Folge dessen zeigte sich ein veränderter Redoxzustand mit verändertem Verhältnis von freiem zu oxidiertem Glutathion zu Ungunsten des freien Zustandes des Moleküls. [111]

Die freien Sauerstoffradikale reduzieren die Bioverfügbarkeit von NO und reagieren mit diesem Molekül zu dem giftigen Peroxynitrit. Dieses kann die eNOS entkoppeln und wiederum zu vaskulärem oxidativem Stress führen. [107, 120, 159]

In der Anämie kommt es außerdem zu einem Anstieg des Kohlenstoffmonoxid (CO), was zu einer 50 % höheren Flussgeschwindigkeit, sowie Wandschubspannung führt. Das wiederum führt kompensatorisch zu einer erhöhten eNOS-Aktivierung. [111]

Somit wird in der Anämie zwar eNOS produziert beziehungsweise aktiviert, kann jedoch durch die Entkopplung kein freies NO mehr bilden.

In bestimmten Studien konnte bereits gezeigt werden, dass bei Mäusen eine Therapie mit ROS-*Scavengern*, wie zum Beispiel N-Acetylcystein (NAC) zu einer Erholung der endothelialen Dysfunktion führen kann. [160]

Somit ist es nicht verwunderlich, dass bei Vorliegen einer Anämie und der damit verbundenen erniedrigten NO-Konzentration die Prognose bei Herzinsuffizienz und Myokardinfarkt nachweislich schlechter ist. [161]

Inwieweit nun die Erythrozyten bei Patienten mit STEMI und mit und ohne Anämie die kardiale Pumpfunktion erhalten, war bislang noch nicht untersucht.

Die vorliegende Arbeit zeigt deutlich, dass die Erythrozyten von Patienten mit Anämie und STEMI dysfunktional sind und der kardioprotektive Effekt hier im *ex vivo*-

Ischämie/Reperfusionen-Modell verloren geht. Im Langendorff-Versuch mit Erythrozyten von STEMI-Patienten, sowohl mit als auch ohne Anämie, zeigten sich in der anämischen Gruppe signifikant erniedrigte Werte von LVPD, sowie dP/dt_{max} und dP/dt_{min} . Zusammengefasst zeigte sich eine schlechtere linksventrikuläre Pumpfunktion im *ex vivo*-Modell nach Perfusion mit Blut von STEMI-Patienten mit Anämie im Vergleich zu Patienten ohne Anämie.

Es konnte bereits nachgewiesen werden, dass die erythrozytäre NOS auch bei vorliegendem Diabetes mellitus, arterieller Hypertonie und Nierenerkrankung dysfunktional wird. [114-116] Bei Patienten mit KHK und arterieller Hypertonie konnte jedoch außerdem eine erhöhte NO-Plasma-Konzentration festgestellt werden. [162]

In den durchgeführten Ischämie-Reperfusionen-Experimenten zeigte sich kein isolierter Effekt der einzelnen Nebendiagnosen - chronische Nierenerkrankung, arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus – in Kombination mit Anämie auf die kardiale Pumpfunktion. Dennoch konnte, wie bereits in der Literatur beschrieben, eine Verschlechterung der kardialen Erholung beobachtet werden, wenn einzelne Risikofaktoren zusätzlich zur Anämie vorlagen.

Yang et al. zeigten, dass bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 die Arginase-Aktivität sowie die ROS-Produktion in Erythrozyten gesteigert sind, was den Ischämie-Reperfusionen-Schaden im Langendorff-Modell verstärkt. Über eine gesteigerte Arginase-1 Aktivität wird ROS NOS-abhängig produziert. Hierbei wird weniger NO produziert, da die Arginase mit der eNOS um das gemeinsame Substrat L-Arginin konkurriert und auch über die Entkopplung der eNOS mehr freie Sauerstoffradikale entstehen. Eine Inhibition sowohl der NOS als auch der Arginase-1 konnten eine Verbesserung der kardialen Erholung bewirken. [116]

Bereits einige andere Studien konnte zeigen, dass in Bezug auf einen vorliegenden Diabetes mellitus nicht nur die Erkrankung, sondern auch der HbA1c und damit die Einstellung des Diabetes eine Rolle spielt. So zeigte die Studie von Jiao et al. ebenfalls keine signifikante Verschlechterung der linksventrikulären bei Vorliegen eines gut eingestellten Diabetes mellitus. [121, 163]

Kashyap et al. konnten zeigen, dass ein erhöhter Spiegel der Arginase mit der Schwere der Hyperglykämie zusammenhängt und auch dass eine kurzzeitige Hyperinsulinämie mit Normoglykämie die Aktivität der Arginase in Diabetikern deutlich senkt. Insulin hat außerdem vasodilatatorische, sowie antiinflammatorische Eigenschaften und kann die Generierung von NO in glatten Muskelzellen, sowie Skelettmuskulatur stimulieren. [164-167]

5.2 Kardioprotektiver Effekt von humanem Plasma im ex vivo Langendorff-Modell

Den größten Anteil des zirkulierenden NO-Pools macht das Plasma aus. Hier zeigt sich kein signifikanter Unterschied des Nitrit- / Nitrat-Gehalts bei Vorliegen oder Fehlen einer Anämie. [111, 120, 168]

Um zu testen, ob das Plasma im Ischämie-Reperfusion-Modell in Abhängigkeit vom Vorliegen einer Anämie unterschiedliche kardioprotektive Effekte zeigt, wurden ebenfalls Herzen im Langendorff-Modell mit dem dialysierten Plasma derselben Patienten perfundiert. Es zeigte sich kein Unterschied in der Erholung der kardialen Pumpfunktion zwischen den Gruppen. Dies deutet darauf hin, dass plasmatische Mediatoren unabhängig vom Anämie-Status keine kardioprotektive Wirkung entfalten. Das plasmatische NO scheint in beiden Gruppen ähnlich vorhanden zu sein, und die Anämie scheint keine Verschlechterung der kardialen Erholung durch das Plasma zu verursachen.

Die kardiale Pumpfunktion zeigte in beiden Gruppen eine ähnliche prozentuale Erholung von der *Baseline*. Im Vergleich zu den Erythrozyten-Versuchen war diese Erholung vergleichbar mit der Anämie-Gruppe (LVDP: Erythrozyten Anämie $19,76 \pm 6,94$ % vs. Nicht-Anämie $32,53 \pm 12,68$ %; Plasma: Anämie: $22,09 \pm 9,8$ % vs. Nicht-Anämie $22,56 \pm 5,15$ %).

Die Versuchsdurchführung erfolgte mit dialysiertem Plasma. Die Porengröße betrug hier 10 kDa, sodass größere Partikel und Moleküle sich nicht mehr im Dialysat befanden. So konnte ein ungewolltes Verschließen der Koronargefäße verhindert werden. [169-171]

Aus den Ergebnissen lässt sich die Annahme unterstützen, dass vor allem die eNOS in den Erythrozyten einen kardioprotektiven Effekt hat und über die Aktivität der Arginase-1 in Erythrozyten die Freisetzung von NO gesteuert wird. [122, 148] Trotz des hohen Anteils am NO-Pool scheint die Anämie hauptsächlich die eNOS in den Erythrozyten zu beeinflussen.

Vorangegangene Studien konnten zeigen, dass durch ischämische Präkonditionierung Exosomen im Plasma induziert werden, die über die Aktivierung von Proteinkinasen einen protektiven Effekt nach Myokardinfarkt vermitteln können. [172]

5.3 Kardioprotektiver Effekt von Erythrozyten nach fünf Tagen im ex vivo Langendorff-Modell

In den durchgeführten Experimenten zeigte sich keine signifikante Verbesserung im Langendorff-Versuch mit den gewonnenen Patientenproben nach fünf Tagen im Vergleich zu Tag eins unabhängig vom Vorliegen einer Anämie. Es zeigte sich jedoch ein Trend mit besserer kardialer Erholung nach fünf Tagen sowohl in der Anämie- als auch in der Nicht-Anämie-Gruppe.

Die Einteilung der Gruppen erfolgte anhand der initialen laborchemischen Hämoglobinwerte in Anämie und Nicht-Anämie. Eine erneute Laborkontrolle wurde nicht berücksichtigt. Daher ist es denkbar, dass bei einigen Patienten ein Hämoglobinabfall auftrat oder eine Bluttransfusion verabreicht wurde. Diese Einflussfaktoren wurden in der bestehenden Auswertung nicht berücksichtigt und könnten die Werte sowohl positiv als auch negativ beeinflusst haben. Dennoch zeigt sich auch fünf Tage nach dem Ereignis ein fortbestehender protektiver Effekt der Erythrozyten sowie ein negativer Effekt der Anämie.

Hierbei spielt unter anderem auch die postinterventionelle Gabe eines P2Y₁₂-Rezeptor-Antagonisten, wie Prasugrel oder Ticagrelor eine Rolle, die ebenfalls kardioprotektive Effekte entfalten und die Ergebnisse potenziell beeinflussen könnten. [173]

Bereits 1998 konnte gezeigt werden, dass die NO-Konzentration im Blut von Patienten mit einem AMI als Resultat der inflammatorischen Phase erhöht ist und an Tag zwei bis drei nach Symptombeginn den Höhepunkt erreicht. [174] Auch die akute Phase Antwort bei myokardialer Verletzung hat zum Teil einen länger bestehenden Einfluss. Es wird berichtet, dass der inflammatorische Prozess mit Migration von Leukozyten bis zu fünf Tagen anhalten kann und zum Beispiel der CRP-Wert erst Tage nach stattgehabtem Event seinen Höhepunkt erreicht. Auch Stresshormone zeigen sich bis zu acht Tagen nach AMI noch erhöht. [175]

Die Pathophysiologie hinter der Erythropoese ergibt sich aus folgenden Abläufen: als physiologische Antwort auf eine Hypoxie, wie sie zum Beispiel im Rahmen eines Myokardinfarktes auftritt, wird eine vermehrte Produktion von Erythrozyten eingeleitet. Hypoxie-induzierte Faktoren induzieren dabei spezielle Veränderungen in der Genexpression, was unter anderem zu einer erhöhten Produktion von Erythropoetin in Leber und Niere führt und Anpassungen im Knochenmark verursacht, was die Reifung und Proliferation von

erythroiden Vorläuferzellen begünstigt. Die frühe Phase der Erythrozytenreifung beginnt im Knochenmark mit multipotenten hämatopoetischen Stamm- und Progenitorzellen aus denen erythroide Vorläuferzellen entstehen und die dann zu entkernten Retikulozyten reifen. Die Retikulozyten gelangen in den Blutkreislauf und reifen hier zu funktionellen Erythrozyten. Der gesamte Prozess der Erythropoese dauert ungefähr vierzehn Tage. [176, 177]

Studien konnten zeigen, dass die EPO-Produktion bei Patienten mit einem akuten Nierenversagen und kritische reduzierten Allgemeinzustand in den ersten 48 h erhöht ist und anschließend wieder abfällt. [178] Bei chronischer Niereninsuffizienz hingegen kommt es zur Differenzierung der EPO-produzierenden Perizyten in Myofibroblasten. Dieser Vorgang ist mit einer Fibrosierung und Ablagerung extrazellulärer Matrix assoziiert, wodurch die EPO-Produktion dauerhaft eingeschränkt bleibt. [179]

EPO aktiviert verschiedene Signalkaskaden, die zu einer Verringerung der Apoptose zum Beispiel im Myokardinfarkt und damit einer geringeren Infarktgröße führen. Es konnte somit ein protektiver Effekt während der Ischämie im Ischämie-Reperfusionen-Modell festgestellt werden. [180, 181]

Es ist somit denkbar, dass auch die kardioprotektive Wirkung der Erythrozyten über die ersten 48 h anhält und dann mit abfallendem Erythropoetin-Level auch wieder deutlich nachlässt und somit an Tag fünf keinen eindeutigen protektiven Einfluss mehr hat.

Inwieweit sich der Hämoglobinwert nach fünf Tagen in unserer Versuchsreihe entwickelt hat, wurde nicht erhoben, ebenso wie mögliche Bluttransfusionen, was eine bessere NO-Bioverfügbarkeit bedeuten würde. Auch wurden Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz nicht separiert betrachtet.

Eine erweiterte Durchführung der Versuchsreihe an zusätzlich Tag zwei oder drei nach stattgehabtem STEMI wäre also in Erwägung zu ziehen. Um zu sehen, wie sich die Erythrozyten im weiteren Verlauf erholen, wäre es zusätzlich interessant die Versuchsreihe ungefähr acht Wochen postinterventionell durchzuführen. Außerdem sollten Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz gesondert betrachtet und erfolgte Gaben von Blutprodukten mit in die Auswertung einbezogen werden.

5.4 Kardiale Funktion im Langendorff-Modell bei akut und chronisch anämischen Mäusen

In der Versuchsreihe mit der induzierten akuten und chronischen Anämie bei C57BL/6J Wildtier-Mäusen zeigte sich zu Beginn des Versuchs eine signifikant erniedrigte *Baseline* bei anämischen Mäusen im Vergleich zu den *Sham*-Tieren. Außerdem zeigte sich nochmal eine signifikant schlechtere *Baseline* bei den chronisch anämischen Tieren im Vergleich zu den akut anämischen Tieren.

Eine schwere Anämie ist mit einer Natrium- und Wasserretention sowie einem reduzierten renalen Blutfluss und einer verminderten reduzierten Filtrationsrate assoziiert. Patienten mit Anämie weisen außerdem ein erhöhtes Herzzeitvolumen, einen verminderten systemischen Gefäßwiderstand und einen erniedrigten Blutdruck auf. Zudem zeigt sich eine Veränderung der Blutviskosität und der NO-Bioverfügbarkeit. Das gesteigerte Herzzeitvolumen wird durch eine reflektorisch vermittelte Tachykardie kompensatorisch aufrechterhalten, um die periphere Sauerstoffversorgung sicherzustellen. [182, 183]

Einige Studien konnten eine deutliche Erhöhung der kardialen Masse zeigen. Diese kardiale Hypertrophie, sowie das ventrikuläre Remodeling in anämischen Tieren ist eine mögliche Ursache für eine erniedrigte linksventrikuläre Pumpfunktion. [184] Auch eine erniedrigte NO-Bioverfügbarkeit durch die bestehende Anämie wirkt sich nicht kardioprotektiv aus.

Unsere erhobenen *Baseline*-Daten lassen auf einen solchen Zusammenhang schließen.

Die postischämische Erholung im Ischämie-Reperfusion-Modell zeigte keine signifikanten Unterschiede bei Vorliegen einer Anämie. Dadurch, dass die Mausherzen mit Puffer retrograd perfundiert und alle Erythrozyten aus den Herzen ausgewaschen wurden, ist kein Einfluss der Erythrozyten oder des Plasmas zu verzeichnen. Die Erholung der einzelnen Parameter LVDP, dP/dt_{max} und dP/dt_{min} wurde in prozentualen Anteilen der *Baseline* angegeben. In allen Parametern zeigte sich die Erholung nicht signifikant unterschiedlich zwischen *Sham*-Tieren, akut und chronisch anämischen Tieren. Die präinterventionell ausgelöste Anämie scheint somit zwar die kardiale Funktion signifikant zu erniedrigen, jedoch dann in der akuten Ischämie zu keiner signifikant schlechteren Erholung zu führen.

Das bestätigt, dass vor allem die Blutbestandteile in einer akuten Ischämie zu einer Kardioprotektion beitragen beziehungsweise anämische Erythrozyten zu einer verschlechterten Pumpfunktion.

5.5 Effektivität der durchgeführten Waschschrirte

In den durchgeführten Versuchen mittels Durchflusszytometrie zur Bestimmung der Effektivität der durchgeführten Waschschrirte der Erythrozyten vor Infusion im Langendorff-Modell zeigte sich ein prozentualer Anteil an Erythrozyten von 99,8%. Somit ist mit großer Wahrscheinlichkeit davon auszugehen, dass die erhobenen Ergebnisse vor allem durch die Erythrozyten vermittelt werden.

Bei der Aufbereitung der Erythrozyten handelt es sich um ein etabliertes Protokoll zur Isolierung und Analyse dieser Zellfraktion. Unterschiede ergeben sich insbesondere in der verwendeten Zentrifugalbeschleunigung, die abhängig vom Rotordurchmesser der Zentrifuge und der Umdrehungszahl pro Minute ist. [121, 185-187]

Jiao et. al konnten zeigen, dass bei einer Zentrifugation mit 1000 g bei 4 °C für 10 min und drei Waschschrirten eine Entfernung von 99 % der Leukozyten und 98 % der Thrombozyten und eine Sauerstoffsättigung von über 99 % erreicht werden konnte. [121]

Wichtig ist es, bei den Waschschrirten zu beachten, dass durch die Zentrifugation ein gewisses Maß an Hämolyse stattfindet. Sikora et al. konnten zeigen, dass die Hämolyse der primäre ATP-Freisetzungsmechanismus in Erythrozyten ist. Auch bei Hypoxie und Scherspannung konnte eine relevante Hämolyse und damit ATP-Freisetzung beobachtet werden. [186]

Es ist somit wichtig auch den Einfluss des Hämolyse-bedingten ATPs auf die Erholung im Ischämie-Reperfusionen-Modell zu beachten.

5.6 Limitationen

Bei dem etablierten *ex vivo* Langendorff-Modell handelt es sich um eine effektive Methode zur Beurteilung der kardialen Funktion nach dem präischämischen Perfundieren mit Erythrozyten. Eine Übertragung der gewonnenen Ergebnisse auf die Prozesse *in vivo* ist jedoch nicht ohne weiteres möglich.

Unter anderem spielt hier auch die Perfusion mit Erythrozyten nur während der Globalischämie eine Rolle. Zell-Zell-Interaktionen sind somit nur in diesem begrenzten Versuchszeitraum zu

analysieren, da postischämisch eine Perfusion mit Krebs-Henseleit-Puffer erfolgt. Inwieweit jedoch eine postischämische Durchblutung mit Erythrozyten oder Plasma sich auswirkt, ist bei nur begrenztem Probenmaterial nicht möglich.

Der verwendete Puffer enthält Calcium und Pyruvat. Hier sind Auswirkungen auf die Kontraktilität der murinen Herzen bekannt. Über die Erregung der Herzmuskelzellen gelangen Calciumionen in das Zellinnere, was über mehrere Signalkaskaden eine Kontraktion der Herzmuskelzelle auslöst. Eine höher Calciumkonzentration führt zu einer gesteigerten Kontraktilität. Auch Pyruvat beeinflusst die kardiale Funktion positiv über Anregung des mitochondrialen Energiestoffwechsels. Somit können kleinste Abweichungen in der Zusammensetzung des Puffers zu einer Verfälschung der Ergebnisse führen.

Einige weitere Limitationen müssen mit in Betracht gezogen werden.

Zunächst ist festzuhalten, dass die Einteilung der Patienten in Subgruppen im Rahmen des Erythrozyten-Versuchs retrospektiv erfolgte. Die Studie war somit nicht primär auf bestimmte Fragestellungen ausgelegt, was sich unter anderem in fehlenden Datenpunkten, wie beispielweise dem HbA1c-Wert, widerspiegelt. Bezüglich der Einteilung der Patienten nach Nebendiagnosen wie chronischer Nierenerkrankung, arterieller Hypertonie oder Diabetes mellitus konnten teilweise nur sehr wenige Patienten berücksichtigt werden. Für zukünftige Studien erscheint eine gezielte Rekrutierung erforderlich, um den isolierten Effekt einzelner Risikofaktoren differenzierter untersuchen zu können.

So könnten beispielsweise zusätzlich die Patienten mit CKD gemäß ihrem vorliegenden Stadium von eins bis fünf eingeteilt und betrachtet werden. Des Weiteren wurde lediglich die initiale laborchemisch geschätzte GFR zur Betrachtung des Stadiums der CKD verwendet. Empfohlen wird jedoch eine weitere Betrachtung der GFR zwei bis drei Monate vorher oder später, um die CKD zu klassifizieren. Hier könnte demnach eine Verschiebung der Patienten stattfinden. [188]

Die Einteilung des Diabetes mellitus sollte gemäß Typ 1 und 2 erfolgen, sowie der aktuelle HbA1c- & Blutzucker-Wert mit in die Betrachtung eingeschlossen werden. Hier konnte bereits in vorherigen Studien gezeigt werden, dass die kardioprotektive Erythrozytenfunktion in Patienten mit gut eingestelltem Diabetes besser zu sein scheint als bei schlecht eingestelltem Diabetes. [121, 163, 189]

Eine weitere Limitation liegt bei dem erfolgten Plasmaversuch vor. Bei der Durchführung des Ischämie-Reperfusion-Modell erfolgte eine Dialyse des gewonnenen Plasmas bei 4 °C über 24 h mit einer Porengröße von 10 kDa. Es ist nicht auszuschließen, dass kardioprotektive Blutbestandteile in der Dialysekassette verblieben sind. Trotzdem sollte ein Durchtreten von wichtigen Bestandteilen, wie unter anderem Nitrit und Nitrat ermöglicht sein. Prinzipiell wäre ebenfalls eine Durchführung des Versuchs mit lediglich verdünntem und dialysiertem Plasma möglich, was jedoch bei menschlichen Proben, die in murine Herzen gegeben werden, aufgrund der Proportionen zu einem Thrombus in den Koronargefäßen führen könnte. [190]

Im Rahmen der Durchflusszytometrie ist davon auszugehen, dass der Hauptbestandteil der infundierten Probe aus Erythrozyten besteht. Dennoch ließ sich ein gewisser Anteil an Thrombozyten sowie vereinzelte weitere Zelltypen nachweisen. Der potenzielle Einfluss dieser Zellen wurde in der vorliegenden Arbeit nicht gesondert analysiert. Durchgeführte Studien konnten jedoch zeigen, dass auch Thrombozyten über den Glutathion-Redoxzyklus teilweise kardioprotektive Effekte im Ischämie-Reperfusion-Modell vermitteln können. [190, 191]

Neben dem potenziellen Einfluss von Thrombozyten ist auch ein Effekt durch die Behandlung mit Katecholaminen denkbar. Inwieweit die Erythrozyten der Patienten vor der Probengewinnung mit Katecholaminen in Kontakt kamen, wurde in der vorliegenden Arbeit nicht berücksichtigt. Eine gezielte Analyse dieses Aspekts wäre jedoch von Interesse, um mögliche funktionelle Veränderungen der Erythrozyten im Zusammenhang mit der Katecholamintherapie besser beurteilen zu können.

Zur genauen Charakterisierung der Erythrozytendysfunktion wäre eine proteomische Analyse der Erythrozyten bei Anämie notwendig. Eine solche Analyse könnte ein tieferes Verständnis der veränderten Proteinexpression unter pathologischen Bedingungen ermöglichen und potenzielle therapeutische Zielstrukturen aufzeigen. Erste proteomische Untersuchungen an physiologischen Erythrozyten liegen bereits vor. [192]

5.7 Zusammenfassung und Ausblick

Zusammengefasst lässt sich sagen, dass eine Anämie bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom einen Einfluss auf die kardiale Kurz- und Langzeitprognose hat.

Primär konnten die Ergebnisse zeigen, dass humane Erythrozyten von STEMI-Patienten hierbei NO-vermittelt einen kardioprotektiven Effekt auf die Erholung im Ischämie-Reperfusion-Modell haben. Lag bei den Patienten zusätzlich noch eine Anämie vor, zeigten sich die Erythrozyten dysfunktional und der zirkulierende NO-Pool verringert. Durch eine Erythrozytendysfunktion kommt es nach myokardialer Ischämie und Reperfusion im Langendorff-Modell zu einer Verschlechterung der linksventrikulären Kontraktion.

Hierbei handelt es sich bei dem Langendorff-Modell um eine etablierte, kostengünstige und gut reproduzierbare Methode zur Untersuchung des Ischämie-/Reperfusion-Schadens. Sowohl die Verwendung von murinen als auch humanen Blutbestandteilen ist problemlos möglich.

Nach Reperfusion wäre es zusätzlich möglich auch die Infarktgröße bei den murinen Mausherzen zu bestimmen und daraus weitere Schlüsse über die Schwere des Infarktes herauszufinden.

Zur genauen Untersuchung der zellulären Wechselwirkungen sind weitere, insbesondere proteombasierte Analysen erforderlich.

Zur Validierung der vorliegenden Ergebnisse sowie zur Identifikation von Markern für eine Risikostratifizierung der Erythrozyten-Dysfunktionalität – unabhängig vom Hämoglobingehalt – bedarf es großer, prospektiver Studien.

Darüber hinaus sind neue Studien notwendig, um erythrozytenspezifische antioxidative Therapieansätze zu identifizieren, die eine Wiederherstellung der kardioprotektiven Eigenschaften ermöglichen könnten.

Ferner sollten individualisierte Transfusionsstrategien geprüft werden, um das Therapiemanagement bei Hochrisikopatienten mit STEMI zu optimieren. [120]

6 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Erythrozytenfunktion und -dysfunktion.....	14
Abb. 2: Einfluss der Erythrozyten auf den NO-Metabolismus.	16
Abb. 3: Blutabnahmeschema zur Induktion einer akuten und chronischen Anämie. .	25
Abb. 4: Schematischer Aufbau eines Langendorff-Modells.	28
Abb. 5: Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens im Langendorff- Modell nach Perfusion mit Erythrozyten.....	48
Abb. 6: Kardiale Pumpfunktion des isolierten Herzens nach Ischämie-Reperfusion bei vorliegender Anämie und Diabetes mellitus bei den Patienten.....	51
Abb. 7: Kardiale Pumpfunktion des isolierten Herzens nach Ischämie-Reperfusion bei vorliegender Anämie und arterieller Hypertonie bei den Patienten.....	53
Abb. 8: Kardiale Pumpfunktion des isolierten Herzens nach Ischämie-Reperfusion bei vorliegender Anämie und CKD bei den Patienten.....	54
Abb. 9: Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens im Langendorff- Modell nach Perfusion mit Plasma.....	56
Abb. 10: Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens im Langendorff- Modell nach Perfusion mit Erythrozyten von Tag 1 und Tag 5 nach STEMI.....	59
Abb. 11: Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens von nicht- anämischen, akut und chronisch anämischen Mäusen im Langendorff-Modell vor Ischämie und Reperfusion.	61
Abb. 12: Hämodynamische Eigenschaften des isolierten Herzens von nicht- anämischen, akut und chronisch anämischen Mäusen im Langendorff-Modell nach Ischämie und Reperfusion.	63
Abb. 13: Zellverteilung in den Proben nach erfolgten Waschschritten.....	65

7 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Übersicht der für die Versuche verwendete Geräte.	22
Tabelle 2: Übersicht der für die Versuche verwendeten Medikamente.....	23
Tabelle 3: Übersicht der für die Versuche verwendeten Chemikalien, Elektrolyte und Gase.....	23
Tabelle 4: Wichtigsten gemessenen Parameter des isolierten Herzens im Langendorff-Modell.	39
Tabelle 5: Übersicht der für die vorliegende Arbeit verwendeten Softwareprogramme.	41
Tabelle 6: Laborchemische Parameter der beiden Patientengruppen im Vergleich. .	43
Tabelle 7: Klinische und medizinische Charakteristika der Patientengruppen.....	45
Tabelle 8: Rohdatensatz zum Versuchsaufbau mit Erythrozyten.	49
Tabelle 8: Rohdatensatz zum Versuchsaufbau mit Erythrozyten.	49
Tabelle 9: Rohdatensatz zum Versuchsaufbau mit Plasma.....	57

8 Literaturverzeichnis

1. *Deutscher Herzbericht 2022*, M.H. Eckart Fleck, Editor. 2023, Deutsche Herzstiftung e.V., Deutsche Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung e.V., Deutsche Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie e.V., Deutsche Gesellschaft für Pädiatrische Kardiologie und Angeborene Herzfehler e.V., Deutsche Gesellschaft für Prävention und Rehabilitation für Herz-Kreislaufferkrankungen e.V., BQS – Institut für Qualität und Patientensicherheit.
2. Larsen, R., *Akutes Koronarsyndrom (ACS) und akuter Myokardinfarkt*, in *Anästhesie und Intensivmedizin für die Fachpflege*. 2016, Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p. 680-690.
3. H. Roskamm, F.-J.N.D., Kalusche, H.-P. Bestehorn, *Herzkrankheiten*. Vol. 5. Auflage. 2004: Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH.
4. Keikawus Arastéh, H.-W.B., Christiane Bieber, Roland Brandt, Tushar Thomas Chatterjee et al, *Innere Medizin*. Duale Reihe. Vol. 3. Auflage. 2012, Stuttgart: Thieme Verlag.
5. Hans-Joachim Trappe, H.-P.S., *EKG-Kurs für Isabel* Vol. 8. Auflage. 2020.
6. Herold, G., *Innere Medizin*. 2018: Gerd Herold.
7. Crea, F. and G. Liuzzo, *Pathogenesis of acute coronary syndromes*. J Am Coll Cardiol, 2013. **61**(1): p. 1-11.
8. Davies, M.J., *The pathophysiology of acute coronary syndromes*. Heart, 2000. **83**(3): p. 361-6.
9. Shah, P.K. and J.S. Forrester, *Pathophysiology of acute coronary syndromes*. Am J Cardiol, 1991. **68**(12): p. 16C-23C.
10. Wang, X., et al., *Endothelial mechanobiology in atherosclerosis*. Cardiovasc Res, 2023. **119**(8): p. 1656-1675.
11. Libby, P., *Mechanisms of acute coronary syndromes and their implications for therapy*. N Engl J Med, 2013. **368**(21): p. 2004-13.
12. Libby, P., *Molecular bases of the acute coronary syndromes*. Circulation, 1995. **91**(11): p. 2844-50.
13. Kanji, R., et al., *Biomarkers of Thrombotic Status Predict Spontaneous Reperfusion in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction*. J Am Coll Cardiol, 2023. **81**(19): p. 1918-1932.
14. Tamis-Holland, J.E., et al., *Contemporary Diagnosis and Management of Patients With Myocardial Infarction in the Absence of Obstructive Coronary Artery Disease: A Scientific Statement From the American Heart Association*. Circulation, 2019. **139**(18): p. e891-e908.
15. Swan, H.J., *Acute myocardial infarction: a failure of timely, spontaneous thrombolysis*. J Am Coll Cardiol, 1989. **13**(6): p. 1435-7.
16. Libby, P. and P. Theroux, *Pathophysiology of coronary artery disease*. Circulation, 2005. **111**(25): p. 3481-3488.
17. Taegtmeier, H., A.F. Roberts, and A.E. Raine, *Energy metabolism in reperfused heart muscle: metabolic correlates to return of function*. J Am Coll Cardiol, 1985. **6**(4): p. 864-70.
18. Vincent, J.L., et al., *Encyclopedia of intensive care medicine*. 1st 2012. ed. Gale eBooks. 2012, Berlin: Springer.
19. Dong, S., et al., *Analysis of Characteristics of Patients with Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction by Cardiac Magnetic Resonance Imaging*. Med Sci Monit, 2021. **27**: p. e933220.
20. Lux, R.L., *Non-ST-Segment Elevation Myocardial Infarction: A Novel and Robust Approach for Early Detection of Patients at Risk*. J Am Heart Assoc, 2015. **4**(7).
21. Warren, J., et al., *Incidence and impact of totally occluded culprit coronary arteries in patients presenting with non-ST-segment elevation myocardial infarction*. Am J Cardiol, 2015. **115**(4): p. 428-33.
22. Reed, G.W., J.E. Rossi, and C.P. Cannon, *Acute myocardial infarction*. Lancet, 2017. **389**(10065): p. 197-210.

23. Thygesen, K., et al., *Third universal definition of myocardial infarction*. Eur Heart J, 2012. **33**(20): p. 2551-67.
24. Schwarz, F., et al., *Effect of coronary stenosis on myocardial function, ultrastructure and aortocoronary bypass graft hemodynamics*. Am J Cardiol, 1978. **42**(2): p. 193-201.
25. Vanoverschelde, J.L., et al., *Mechanisms of chronic regional postischemic dysfunction in humans. New insights from the study of noninfarcted collateral-dependent myocardium*. Circulation, 1993. **87**(5): p. 1513-23.
26. Leischik, R., et al., *Echocardiographic assessment of myocardial ischemia*. Ann Transl Med, 2016. **4**(13): p. 259.
27. Opthof, T., et al., *The Association of Abnormal Ventricular Wall Motion and Increased Dispersion of Repolarization in Humans is Independent of the Presence of Myocardial Infarction*. Front Physiol, 2012. **3**: p. 235.
28. Prinzmetal, M., L.L. Schwartz, and et al., *Studies on the coronary circulation; loss of myocardial contractility after coronary artery occlusion*. Ann Intern Med, 1949. **31**(3): p. 429-49.
29. Nesto, R.W. and G.J. Kowalchuk, *The ischemic cascade: temporal sequence of hemodynamic, electrocardiographic and symptomatic expressions of ischemia*. Am J Cardiol, 1987. **59**(7): p. 23C-30C.
30. Picano, E., N. Gaibazzi, and E. Picano, *Echocardiographic signs of ischemia*. Stress Echocardiography, 2015: p. 87-103.
31. van Diepen, S., et al., *Contemporary Management of Cardiogenic Shock: A Scientific Statement From the American Heart Association*. Circulation, 2017. **136**(16): p. e232-e268.
32. Heyndrickx, G.R., W. Wijns, and J.A. Melin, *Regional wall motion abnormalities in stunned and hibernating myocardium*. Eur Heart J, 1993. **14 Suppl A**: p. 8-13.
33. Backhaus, T., et al., *Management and predictors of outcome in unselected patients with cardiogenic shock complicating acute ST-segment elevation myocardial infarction: results from the Bremen STEMI Registry*. Clin Res Cardiol, 2018. **107**(5): p. 371-379.
34. Thiele, H., et al., *Management of cardiogenic shock complicating myocardial infarction: an update 2019*. Eur Heart J, 2019. **40**(32): p. 2671-2683.
35. Frangogiannis, N.G., *Pathophysiology of Myocardial Infarction*. Compr Physiol, 2015. **5**(4): p. 1841-75.
36. Burke, A.P. and R. Virmani, *Pathophysiology of acute myocardial infarction*. Med Clin North Am, 2007. **91**(4): p. 553-72; ix.
37. Reimer, K.A., R.B. Jennings, and A.H. Tatum, *Pathobiology of acute myocardial ischemia: metabolic, functional and ultrastructural studies*. Am J Cardiol, 1983. **52**(2): p. 72A-81A.
38. Damjanov, I., *Pathology Secrets E-Book*. 2009: Elsevier Health Sciences.
39. Hoffman, J.I. and G.D. Buckberg, *Pathophysiology of subendocardial ischaemia*. Br Med J, 1975. **1**(5949): p. 76-9.
40. Samson, W.E. and A.M. Scher, *Mechanism of S-T segment alteration during acute myocardial injury*. Circ Res, 1960. **8**: p. 780-7.
41. Li, D., et al., *Source of electrocardiographic ST changes in subendocardial ischemia*. Circ Res, 1998. **82**(9): p. 957-70.
42. Freifeld, A.G., E.H. Schuster, and B.H. Bulkley, *Nontransmural versus transmural myocardial infarction. A morphologic study*. Am J Med, 1983. **75**(3): p. 423-32.
43. Frampton, J., A.R. Ortengren, and E.P. Zeitler, *Arrhythmias After Acute Myocardial Infarction*. Yale J Biol Med, 2023. **96**(1): p. 83-94.
44. Ojha, N. and A.S. Dhamoon, *Myocardial Infarction*, in *StatPearls*. 2023: Treasure Island (FL).
45. Artigao-Rodenas, L.M., et al., *Framingham risk score for prediction of cardiovascular diseases: a population-based study from southern Europe*. PLoS One, 2013. **8**(9): p. e73529.
46. Eggers, K.M., et al., *GRACE 2.0 Score for Risk Prediction in Myocardial Infarction With Nonobstructive Coronary Arteries*. J Am Heart Assoc, 2021. **10**(17): p. e021374.
47. Assmann, G., H. Schulte, and P. Cullen, *New and classical risk factors--the Munster heart study (PROCAM)*. Eur J Med Res, 1997. **2**(6): p. 237-42.

48. Assmann, G. and H. Schulte, *The Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study: prevalence of hyperlipidemia in persons with hypertension and/or diabetes mellitus and the relationship to coronary heart disease*. Am Heart J, 1988. **116**(6 Pt 2): p. 1713-24.
49. group, S.w. and E.S.C.C.r. collaboration, *SCORE2 risk prediction algorithms: new models to estimate 10-year risk of cardiovascular disease in Europe*. Eur Heart J, 2021. **42**(25): p. 2439-2454.
50. group, S.O.w. and E.S.C.C.r. collaboration, *SCORE2-OP risk prediction algorithms: estimating incident cardiovascular event risk in older persons in four geographical risk regions*. Eur Heart J, 2021. **42**(25): p. 2455-2467.
51. Marx, N., et al., *2023 ESC Guidelines for the management of cardiovascular disease in patients with diabetes*. Eur Heart J, 2023. **44**(39): p. 4043-4140.
52. Hense, H.W. and M. Study, *[Epidemiology of arterial hypertension and implications for its prevention. 10-year results of the MONICA Study Augsburg]*. Dtsch Med Wochenschr, 2000. **125**(46): p. 1397-402.
53. Werns, S.W. and E.R. Bates, *The enduring value of Killip classification*. Am Heart J, 1999. **137**(2): p. 213-5.
54. Khot, U.N., et al., *Prognostic importance of physical examination for heart failure in non-ST-elevation acute coronary syndromes: the enduring value of Killip classification*. JAMA, 2003. **290**(16): p. 2174-81.
55. Möllmann, H., et al., *Myokardrevaskularisation*. Herz, 2013. **38**(5): p. 513-528.
56. Blankenberg, S., et al., *Troponins as biomarkers for myocardial injury and myocardial infarction*. Herz, 2019. **44**(1): p. 4-9.
57. Thiele, H., et al., *Comments on the 2020 guidelines of the European Society of Cardiology (ESC) on management of acute coronary syndrome in patients without persistent ST-segment elevation*. Kardiologe, 2021. **15**(1): p. 19-31.
58. Byrne, R.A., et al., *2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes*. Eur Heart J, 2023. **44**(38): p. 3720-3826.
59. Collet, J.P., et al., *2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation*. Eur Heart J, 2021. **42**(14): p. 1289-1367.
60. Ballard, K.D., et al., *Increases in creatine kinase with atorvastatin treatment are not associated with decreases in muscular performance*. Atherosclerosis, 2013. **230**(1): p. 121-4.
61. Bansal, K., M. Gore, and P. Nalabothu, *Anterior Myocardial Infarction*, in *StatPearls*. 2023: Treasure Island (FL).
62. Masci, P.G., et al., *Relationship between location and size of myocardial infarction and their reciprocal influences on post-infarction left ventricular remodelling*. European Heart Journal, 2011. **32**(13): p. 1640-1648.
63. Ludhwani, D., et al., *Lateral Wall Myocardial Infarction*, in *StatPearls*. 2023: Treasure Island (FL).
64. Markus Jäckel, C.B., Dawid Staudacher, *Der akute Myokardinfarkt: Leitliniengerechte Therapie in der Präklinik*. Thieme, 2020. **9**: p. 352–361.
65. Clemente-Moragon, A., et al., *Metoprolol exerts a non-class effect against ischaemia-reperfusion injury by abrogating exacerbated inflammation*. Eur Heart J, 2020. **41**(46): p. 4425-4440.
66. Hofmann, R., et al., *Oxygen Therapy in Suspected Acute Myocardial Infarction*. N Engl J Med, 2017. **377**(13): p. 1240-1249.
67. Charpentier, S., et al., *Nitrous oxide/oxygen plus acetaminophen versus morphine in ST elevation myocardial infarction: open-label, cluster-randomized, non-inferiority study*. Scand J Trauma Resusc Emerg Med, 2020. **28**(1): p. 36.
68. O'Donoghue, M., et al., *Early invasive vs conservative treatment strategies in women and men with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: a meta-analysis*. JAMA, 2008. **300**(1): p. 71-80.

69. Keeley, E.C., J.A. Boura, and C.L. Grines, *Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials*. *Lancet*, 2003. **361**(9351): p. 13-20.
70. Biondi-Zoccai, G., A. Abbate, and G. Sangiorgi, *It's never too early! Evidence for rushing your acute coronary patients to the cath lab*. *Eur Heart J*, 2011. **32**(1): p. 13-5.
71. Bar, O., et al., *Time to coronary catheterization in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome and high Global Registry of Acute Coronary Events score*. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)*, 2024. **25**(2): p. 104-113.
72. Fox, K.A., et al., *Prediction of risk of death and myocardial infarction in the six months after presentation with acute coronary syndrome: prospective multinational observational study (GRACE)*. *BMJ*, 2006. **333**(7578): p. 1091.
73. Kite, T.A., et al., *Timing of invasive strategy in non-ST-elevation acute coronary syndrome: a meta-analysis of randomized controlled trials*. *Eur Heart J*, 2022. **43**(33): p. 3148-3161.
74. Jolly, S.S., et al., *Radial versus femoral access for coronary angiography and intervention in patients with acute coronary syndromes (RIVAL): a randomised, parallel group, multicentre trial*. *Lancet*, 2011. **377**(9775): p. 1409-20.
75. Malik, T.F. and V.S. Tivakaran, *Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty*, in *StatPearls*. 2024: Treasure Island (FL).
76. Garcia-Garcia, H.M., et al., *Drug-eluting stents*. *Arch Cardiol Mex*, 2006. **76**(3): p. 297-319.
77. investigators, G., *An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction*. *N Engl J Med*, 1993. **329**(10): p. 673-82.
78. Le May, M.R., et al., *Combined angioplasty and pharmacological intervention versus thrombolysis alone in acute myocardial infarction (CAPITAL AMI study)*. *J Am Coll Cardiol*, 2005. **46**(3): p. 417-24.
79. Boersma, E., et al., *Early thrombolytic treatment in acute myocardial infarction: reappraisal of the golden hour*. *Lancet*, 1996. **348**(9030): p. 771-5.
80. Baber, U., et al., *Ticagrelor alone vs. ticagrelor plus aspirin following percutaneous coronary intervention in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: TWILIGHT-ACS*. *Eur Heart J*, 2020. **41**(37): p. 3533-3545.
81. Yeh, R.W., et al., *Benefits and Risks of Extended Duration Dual Antiplatelet Therapy After PCI in Patients With and Without Acute Myocardial Infarction*. *J Am Coll Cardiol*, 2015. **65**(20): p. 2211-21.
82. Schupke, S., et al., *Ticagrelor or Prasugrel in Patients with Acute Coronary Syndromes*. *N Engl J Med*, 2019. **381**(16): p. 1524-1534.
83. Onwordi, E.N., A. Gamal, and A. Zaman, *Anticoagulant Therapy for Acute Coronary Syndromes*. *Interv Cardiol*, 2018. **13**(2): p. 87-92.
84. Hayes, S.N., et al., *Spontaneous Coronary Artery Dissection: Current State of the Science: A Scientific Statement From the American Heart Association*. *Circulation*, 2018. **137**(19): p. e523-e557.
85. Sabatine, M.S., et al., *Percutaneous coronary intervention with drug-eluting stents versus coronary artery bypass grafting in left main coronary artery disease: an individual patient data meta-analysis*. *Lancet*, 2021. **398**(10318): p. 2247-2257.
86. Niccoli, G., et al., *Optimized Treatment of ST-Elevation Myocardial Infarction*. *Circ Res*, 2019. **125**(2): p. 245-258.
87. Stone, G.W., et al., *Relationship Between Infarct Size and Outcomes Following Primary PCI Patient-Level Analysis From 10 Randomized Trials*. *Journal of the American College of Cardiology*, 2016. **67**(14): p. 1674-1683.
88. Skyschally, A., R. Schulz, and G. Heusch, *Pathophysiology of myocardial infarction. Protection by ischemic pre- and postconditioning*. *Herz*, 2008. **33**(2): p. 88-100.
89. Algoet, M., et al., *Myocardial ischemia-reperfusion injury and the influence of inflammation*. *Trends Cardiovasc Med*, 2023. **33**(6): p. 357-366.
90. Yellon, D.M. and D.J. Hausenloy, *Myocardial reperfusion injury*. *N Engl J Med*, 2007. **357**(11): p. 1121-35.

91. Cowie, M.R. and M. Fisher, *SGLT2 inhibitors: mechanisms of cardiovascular benefit beyond glycaemic control*. *Nat Rev Cardiol*, 2020. **17**(12): p. 761-772.
92. *Correction to: 2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes: Developed by the task force on the management of acute coronary syndromes of the European Society of Cardiology (ESC)*. *Eur Heart J*, 2024. **45**(13): p. 1145.
93. *Indications for ACE inhibitors in the early treatment of acute myocardial infarction: systematic overview of individual data from 100,000 patients in randomized trials*. *ACE Inhibitor Myocardial Infarction Collaborative Group*. *Circulation*, 1998. **97**(22): p. 2202-12.
94. Mach, F., et al., *2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk*. *Eur Heart J*, 2020. **41**(1): p. 111-188.
95. McMurray, J.J., et al., *Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure*. *N Engl J Med*, 2014. **371**(11): p. 993-1004.
96. Pitt, B., et al., *Eplerenone, a selective aldosterone blocker, in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction*. *N Engl J Med*, 2003. **348**(14): p. 1309-21.
97. Eckardt, L., et al., *Kommentar zu den Leitlinien 2022 der ESC zu ventrikulären Arrhythmien und Prävention des plötzlichen Herztodes*. *Die Kardiologie*, 2023. **17**(1): p. 27-38.
98. Ambrosetti, M., et al., *Secondary prevention through comprehensive cardiovascular rehabilitation: From knowledge to implementation. 2020 update. A position paper from the Secondary Prevention and Rehabilitation Section of the European Association of Preventive Cardiology*. *European journal of preventive cardiology*, 2021. **28**(5): p. 460-495.
99. Abreu, A., et al., *Standardization and quality improvement of secondary prevention through cardiovascular rehabilitation programmes in Europe: the avenue towards EAPC accreditation programme: a position statement of the Secondary Prevention and Rehabilitation Section of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC)*. *European journal of preventive cardiology*, 2021. **28**(5): p. 496-509.
100. Visseren, F.L.J., et al., *2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Developed by the Task Force for cardiovascular disease prevention in clinical practice with representatives of the European Society of Cardiology and 12 medical societies With the special contribution of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC)*. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*, 2022. **75**(5): p. 429.
101. Zeppenfeld, K., et al., *2022 ESC Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of sudden cardiac death*. *Eur Heart J*, 2022. **43**(40): p. 3997-4126.
102. Zabel, M., et al., *Clinical effectiveness of primary prevention implantable cardioverter-defibrillators: results of the EU-CERT-ICD controlled multicentre cohort study*. *Eur Heart J*, 2020. **41**(36): p. 3437-3447.
103. Lim, H.S., G.Y. Lip, and H.F. Tse, *Implantable cardioverter defibrillator following acute myocardial infarction: the '48-hour' and '40-day' rule*. *Europace*, 2008. **10**(5): p. 536-9.
104. Chan, M.Y., et al., *Long-term mortality of patients undergoing cardiac catheterization for ST-elevation and non-ST-elevation myocardial infarction*. *Circulation*, 2009. **119**(24): p. 3110-7.
105. Abbott, J.D., et al., *Comparison of outcome in patients with ST-elevation versus non-ST-elevation acute myocardial infarction treated with percutaneous coronary intervention (from the National Heart, Lung, and Blood Institute Dynamic Registry)*. *Am J Cardiol*, 2007. **100**(2): p. 190-5.
106. World Health, O., *Haemoglobin concentrations for the diagnosis of anaemia and assessment of severity*. 2011: World Health Organization.
107. Kuhn, V., et al., *Red Blood Cell Function and Dysfunction: Redox Regulation, Nitric Oxide Metabolism, Anemia*. *Antioxid Redox Signal*, 2017. **26**(13): p. 718-742.
108. Karges, W. and S. Al Dahouk, *Innere Medizin... in 5 Tagen*. 2014: Springer-Verlag.
109. Pernow, J., et al., *Red blood cell dysfunction: a new player in cardiovascular disease*. *Cardiovasc Res*, 2019. **115**(11): p. 1596-1605.

110. Yang, J., et al., *Hypoxic erythrocytes mediate cardioprotection through activation of soluble guanylate cyclase and release of cyclic GMP*. *The Journal of Clinical Investigation*, 2023. **133**(17).
111. Wischmann, P., et al., *Anaemia is associated with severe RBC dysfunction and a reduced circulating NO pool: vascular and cardiac eNOS are crucial for the adaptation to anaemia*. *Basic research in cardiology*, 2020. **115**: p. 1-21.
112. Chen, L.Y. and J.L. Mehta, *Evidence for the presence of L-arginine-nitric oxide pathway in human red blood cells: relevance in the effects of red blood cells on platelet function*. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1998. **32**(1): p. 57-61.
113. Kleinbongard, P., et al., *Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase*. *Blood*, 2006. **107**(7): p. 2943-51.
114. Zhou, Z., et al., *Erythrocytes From Patients With Type 2 Diabetes Induce Endothelial Dysfunction Via Arginase I*. *J Am Coll Cardiol*, 2018. **72**(7): p. 769-780.
115. Di Pietro, N., et al., *Nitric oxide synthetic pathway and cGMP levels are altered in red blood cells from end-stage renal disease patients*. *Mol Cell Biochem*, 2016. **417**(1-2): p. 155-67.
116. Yang, J., et al., *Red Blood Cells in Type 2 Diabetes Impair Cardiac Post-Ischemic Recovery Through an Arginase-Dependent Modulation of Nitric Oxide Synthase and Reactive Oxygen Species*. *JACC Basic Transl Sci*, 2018. **3**(4): p. 450-463.
117. Gorressen, S., et al., *Circulating NOS3 modulates left ventricular remodeling following reperfused myocardial infarction*. *PLoS One*, 2015. **10**(4): p. e0120961.
118. Merx, M.W., et al., *Depletion of circulating blood NOS3 increases severity of myocardial infarction and left ventricular dysfunction*. *Basic Res Cardiol*, 2014. **109**(1): p. 398.
119. Wood, K.C., et al., *Circulating blood endothelial nitric oxide synthase contributes to the regulation of systemic blood pressure and nitrite homeostasis*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2013. **33**(8): p. 1861-71.
120. Wischmann, P., et al., *Red Blood Cell-Mediated Cardioprotection Is Impaired in ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Patients With Anemia*. *JACC Basic Transl Sci*, 2023. **8**(10): p. 1392-1394.
121. Jiao, T., et al., *Erythrocytes from patients with ST-elevation myocardial infarction induce cardioprotection through the purinergic P2Y(13) receptor and nitric oxide signaling*. *Basic Res Cardiol*, 2022. **117**(1): p. 46.
122. Cortese-Krott, M.M., et al., *Red blood cell eNOS is cardioprotective in acute myocardial infarction*. *Redox Biology*, 2022. **54**: p. 102370.
123. Anker, S.D., et al., *Prevalence, incidence, and prognostic value of anaemia in patients after an acute myocardial infarction: data from the OPTIMAAL trial*. *Eur Heart J*, 2009. **30**(11): p. 1331-9.
124. Bindra, K., et al., *Abnormal haemoglobin levels in acute coronary syndromes*. *QJM*, 2006. **99**(12): p. 851-62.
125. Salisbury, A.C., et al., *Incidence, correlates, and outcomes of acute, hospital-acquired anemia in patients with acute myocardial infarction*. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2010. **3**(4): p. 337-46.
126. Weiss, G. and L.T. Goodnough, *Anemia of chronic disease*. *N Engl J Med*, 2005. **352**(10): p. 1011-23.
127. Miller, C.B., et al., *Decreased erythropoietin response in patients with the anemia of cancer*. *N Engl J Med*, 1990. **322**(24): p. 1689-92.
128. Fleming, R.E. and B.R. Bacon, *Orchestration of iron homeostasis*. *N Engl J Med*, 2005. **352**(17): p. 1741-4.
129. Roubinian, N.H. and J.L. Carson, *Acute myocardial infarction and blood transfusion: lessons learned from animal models and clinical studies*. *Blood Transfus*, 2023. **21**(3): p. 185-188.
130. Carson, J.L., et al., *Transfusion thresholds for guiding red blood cell transfusion*. *Cochrane Database Syst Rev*, 2021. **12**(12): p. CD002042.
131. Rao, S.V., et al., *Relationship of blood transfusion and clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes*. *JAMA*, 2004. **292**(13): p. 1555-62.

132. Carson, J.L., et al., *Rationale and design for the myocardial ischemia and transfusion (MINT) randomized clinical trial*. Am Heart J, 2023. **257**: p. 120-129.
133. Carson, J.L., et al., *Restrictive or Liberal Transfusion Strategy in Myocardial Infarction and Anemia*. N Engl J Med, 2023. **389**(26): p. 2446-2456.
134. der Empfehlung, E., *Deutsch-österreichische S3-Leitlinie „Infarktbedingter kardiogener Schock–Diagnose, Monitoring und Therapie“*. 2011.
135. Najjar, S.S., et al., *Intravenous erythropoietin in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: REVEAL: a randomized controlled trial*. JAMA, 2011. **305**(18): p. 1863-72.
136. Ott, I., et al., *Erythropoietin in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: a randomized, double-blind trial*. Circ Cardiovasc Interv, 2010. **3**(5): p. 408-13.
137. Skrzypiec-Spring, M., et al., *Isolated heart perfusion according to Langendorff---still viable in the new millennium*. J Pharmacol Toxicol Methods, 2007. **55**(2): p. 113-26.
138. Hardy, R.R. and M. Roederer, *Leonard Herzenberg (1931-2013): the life of FACS*. Immunity, 2013. **39**(6): p. 989-91.
139. El-Hajjar, L., F. Ali Ahmad, and R. Nasr, *A Guide to Flow Cytometry: Components, Basic Principles, Experimental Design, and Cancer Research Applications*. Curr Protoc, 2023. **3**(3): p. e721.
140. Adan, A., et al., *Flow cytometry: basic principles and applications*. Crit Rev Biotechnol, 2017. **37**(2): p. 163-176.
141. McKinnon, K.M., *Flow Cytometry: An Overview*. Curr Protoc Immunol, 2018. **120**: p. 5 1 1-5 1 11.
142. Karsten, U., et al., *A novel series of anti-human glycoprotein A (CD235a) antibodies defining five extra- and intracellular epitopes*. Int Immunopharmacol, 2010. **10**(11): p. 1354-60.
143. Bagamery, K., et al., *Flow cytometric analysis of CD41-labeled platelets isolated by the rapid, one-step OptiPrep method from human blood*. Cytometry A, 2005. **65**(1): p. 84-7.
144. *Chapter 1: Definition and classification of CKD*. Kidney Int Suppl (2011), 2013. **3**(1): p. 19-62.
145. Yang, J. and W. He, *Chronic kidney disease: Diagnosis and treatment*. 2019: Springer.
146. Ostadal, P., et al., *Continual measurement of arterial dP/dt max enables minimally invasive monitoring of left ventricular contractility in patients with acute heart failure*. Critical Care, 2019. **23**: p. 1-8.
147. Ogilvie, L.M., et al., *Hemodynamic assessment of diastolic function for experimental models*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2020. **318**(5): p. H1139-H1158.
148. Yang, J., et al., *Arginase regulates red blood cell nitric oxide synthase and export of cardioprotective nitric oxide bioactivity*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013. **110**(37): p. 15049-54.
149. Sarma, P.R., *Red Cell Indices*, in *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations*, H.K. Walker, W.D. Hall, and J.W. Hurst, Editors. 1990: Boston.
150. Baechli, C., et al., *Association of comorbidities with clinical outcomes in patients after acute myocardial infarction*. Int J Cardiol Heart Vasc, 2020. **29**: p. 100558.
151. Ofori-Asenso, R., et al., *Prevalence and impact of non-cardiovascular comorbidities among older adults hospitalized for non-ST segment elevation acute coronary syndrome*. Cardiovasc Diagn Ther, 2019. **9**(3): p. 250-261.
152. Beetham, R., *Biochemical investigation of suspected rhabdomyolysis*. Ann Clin Biochem, 2000. **37 (Pt 5)**: p. 581-7.
153. Minneci, P.C., et al., *Hemolysis-associated endothelial dysfunction mediated by accelerated NO inactivation by compartmentalized oxyhemoglobin*. J Clin Invest, 2005. **115**(12): p. 3409-17.
154. Jeffers, A., M.T. Gladwin, and D.B. Kim-Shapiro, *Computation of plasma hemoglobin nitric oxide scavenging in hemolytic anemias*. Free Radic Biol Med, 2006. **41**(10): p. 1557-65.
155. Donadee, C., et al., *Nitric oxide scavenging by red blood cell microparticles and cell-free hemoglobin as a mechanism for the red cell storage lesion*. Circulation, 2011. **124**(4): p. 465-76.

156. Azarov, I., et al., *Nitric oxide scavenging by red blood cells as a function of hematocrit and oxygenation*. J Biol Chem, 2005. **280**(47): p. 39024-32.
157. Bolli, R., *Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research*. J Mol Cell Cardiol, 2001. **33**(11): p. 1897-918.
158. Schulz, R., M. Kelm, and G. Heusch, *Nitric oxide in myocardial ischemia/reperfusion injury*. Cardiovasc Res, 2004. **61**(3): p. 402-13.
159. Forstermann, U., *Nitric oxide and oxidative stress in vascular disease*. Pflugers Arch, 2010. **459**(6): p. 923-39.
160. Chennupati, R., et al., *Chronic anemia is associated with systemic endothelial dysfunction*. Front Cardiovasc Med, 2023. **10**: p. 1099069.
161. Nikolsky, E., et al., *Impact of anemia in patients with acute myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: analysis from the Controlled Abciximab and Device Investigation to Lower Late Angioplasty Complications (CADILLAC) Trial*. J Am Coll Cardiol, 2004. **44**(3): p. 547-53.
162. Yoon, Y., et al., *Plasma nitric oxide concentrations and nitric oxide synthase gene polymorphisms in coronary artery disease*. Clin Chem, 2000. **46**(10): p. 1626-30.
163. Muessig, J.M., et al., *Poor glycemic control impairs the cardioprotective effects of red blood cells on myocardial ischemia/reperfusion injury*. Nitric Oxide, 2020. **97**: p. 1-10.
164. Dandona, P., et al., *The potential influence of inflammation and insulin resistance on the pathogenesis and treatment of atherosclerosis-related complications in type 2 diabetes*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(6): p. 2422-9.
165. Du, X.L., et al., *Hyperglycemia inhibits endothelial nitric oxide synthase activity by posttranslational modification at the Akt site*. J Clin Invest, 2001. **108**(9): p. 1341-8.
166. Kashyap, S.R., et al., *Insulin resistance is associated with impaired nitric oxide synthase activity in skeletal muscle of type 2 diabetic subjects*. J Clin Endocrinol Metab, 2005. **90**(2): p. 1100-5.
167. Kashyap, S.R., et al., *Insulin reduces plasma arginase activity in type 2 diabetic patients*. Diabetes Care, 2008. **31**(1): p. 134-9.
168. Rassaf, T., et al., *Evidence for in vivo transport of bioactive nitric oxide in human plasma*. J Clin Invest, 2002. **109**(9): p. 1241-8.
169. Skyschally, A., et al., *Across-Species Transfer of Protection by Remote Ischemic Preconditioning With Species-Specific Myocardial Signal Transduction by Reperfusion Injury Salvage Kinase and Survival Activating Factor Enhancement Pathways*. Circ Res, 2015. **117**(3): p. 279-88.
170. Shimizu, M., et al., *Transient limb ischaemia remotely preconditions through a humoral mechanism acting directly on the myocardium: evidence suggesting cross-species protection*. Clin Sci (Lond), 2009. **117**(5): p. 191-200.
171. Rassaf, T., et al., *Circulating nitrite contributes to cardioprotection by remote ischemic preconditioning*. Circ Res, 2014. **114**(10): p. 1601-10.
172. Luo, Z., et al., *Plasma exosomes generated by ischaemic preconditioning are cardioprotective in a rat heart failure model*. Br J Anaesth, 2023. **130**(1): p. 29-38.
173. Vilahur, G., et al., *Protective Effects of Ticagrelor on Myocardial Injury After Infarction*. Circulation, 2016. **134**(22): p. 1708-1719.
174. Akiyama, K., et al., *Production of oxidative products of nitric oxide in infarcted human heart*. J Am Coll Cardiol, 1998. **32**(2): p. 373-9.
175. Rosenson, R.S., *Myocardial injury: the acute phase response and lipoprotein metabolism*. J Am Coll Cardiol, 1993. **22**(3): p. 933-40.
176. Haase, V.H., *Regulation of erythropoiesis by hypoxia-inducible factors*. Blood Rev, 2013. **27**(1): p. 41-53.
177. Caulier, A.L. and V.G. Sankaran, *Molecular and cellular mechanisms that regulate human erythropoiesis*. Blood, 2022. **139**(16): p. 2450-2459.

178. Elliot, J.M., et al., *Erythropoietin mimics the acute phase response in critical illness*. Crit Care, 2003. **7**(3): p. R35-40.
179. Shih, H.M., C.J. Wu, and S.L. Lin, *Physiology and pathophysiology of renal erythropoietin-producing cells*. J Formos Med Assoc, 2018. **117**(11): p. 955-963.
180. van der Meer, P., et al., *Erythropoietin improves left ventricular function and coronary flow in an experimental model of ischemia-reperfusion injury*. Eur J Heart Fail, 2004. **6**(7): p. 853-9.
181. Cai, Z., et al., *Hearts from rodents exposed to intermittent hypoxia or erythropoietin are protected against ischemia-reperfusion injury*. Circulation, 2003. **108**(1): p. 79-85.
182. Anand, I.S., et al., *Pathogenesis of oedema in chronic severe anaemia: studies of body water and sodium, renal function, haemodynamic variables, and plasma hormones*. Br Heart J, 1993. **70**(4): p. 357-62.
183. Tang, Y.D. and S.D. Katz, *Anemia in chronic heart failure: prevalence, etiology, clinical correlates, and treatment options*. Circulation, 2006. **113**(20): p. 2454-61.
184. Rakusan, K., N. Cicutti, and F. Kolar, *Effect of anemia on cardiac function, microvascular structure, and capillary hematocrit in rat hearts*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001. **280**(3): p. H1407-14.
185. Hanson, M.S., et al., *Phosphodiesterase 3 is present in rabbit and human erythrocytes and its inhibition potentiates iloprost-induced increases in cAMP*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008. **295**(2): p. H786-93.
186. Sikora, J., et al., *Hemolysis is a primary ATP-release mechanism in human erythrocytes*. Blood, 2014. **124**(13): p. 2150-7.
187. Liao, R., B.K. Podesser, and C.C. Lim, *The continuing evolution of the Langendorff and ejecting murine heart: new advances in cardiac phenotyping*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2012. **303**(2): p. H156-67.
188. Levey, A.S., et al., *National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification*. Ann Intern Med, 2003. **139**(2): p. 137-47.
189. Mahdi, A., et al., *The Effect of Glycemic Control on Endothelial and Cardiac Dysfunction Induced by Red Blood Cells in Type 2 Diabetes*. Front Pharmacol, 2019. **10**: p. 861.
190. Muessig, J.M., et al., *A Model of Blood Component-Heart Interaction in Cardiac Ischemia-Reperfusion Injury using a Langendorff-Based Ex Vivo Assay*. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2020. **25**(2): p. 164-173.
191. Yang, B.C., A. Mehta, and J.L. Mehta, *Cardioprotective effects of platelets against ischaemia-reperfusion injury are related in part to platelet glutathione redox cycle*. Cardiovasc Res, 1994. **28**(10): p. 1586-93.
192. Pasini, E.M., et al., *Red blood cell (RBC) membrane proteomics--Part I: Proteomics and RBC physiology*. J Proteomics, 2010. **73**(3): p. 403-20.

Danksagung

Herzlich möchte ich mich bei allen bedanken, die mich während der letzten Jahre bei meinem Promotionsvorhaben unterstützt haben. Ich blicke auf eine spannende, lehrreiche und intensive Zeit zurück.

Ein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Prof. Dr. med. Malte Kelm für die Überlassung des Themas dieser Arbeit und seine kontinuierliche Unterstützung und Beratung. Prof. Dr. med. Ulrich Germing danke ich für die Übernahme der Co-Betreuung.

Bei Frau Dr. med. Patricia Wischmann bedanke ich mich vor allem für die engagierte Unterstützung bei meinem Start in die wissenschaftliche Tätigkeit, ihr immer offenes Ohr für Fragen und ihre Zuverlässigkeit. Danke auch für die kritische Durchsicht dieser Arbeit.

Auch bedanke ich mich bei der veterinärmedizinisch-technischen Assistentin Stefanie Becher deren Bürotür im Labor immer geöffnet war, die mich mit Rat und Tat unterstützt hat und für jedes Problem eine Lösung gefunden hat.

Meinem „Co-Doktoranden“ Paul Dahlmann gilt mein Dank für die großartige und unterhaltsame Zusammenarbeit während der vielen Stunden im Labor.

Zuletzt möchte ich von ganzem Herzen meiner Mutter, Jörg, meinen Großeltern, meiner Tante und meinen Freunden und besonders Yannick für die Unterstützung danken. Danke, dass ihr immer an mich geglaubt habt und in jedem Vorhaben unterstützt und motiviert.