

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

Der Einfluss von Anämie auf den zirkulierenden NO-Pool im akuten Koronarsyndrom

Dissertation

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

vorgelegt von

Lilly-Christin Jäger

2026

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

gez.:

Dekan: Nikolai Klöckner

Erstgutachter: Univ. Prof. Dr. Malte Kelm

Zweitgutachter: Prof. Dr. med. Ulrich Germing

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Wischmann P, Chennupati R, Solga I, Yogathasan 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 (deutsch)

Rationale: Herzkreislauferkrankungen, insbesondere ischämische Herzerkrankungen, stellen die häufigsten Todesursachen in der westlichen Welt dar. Eine Anämie tritt häufig bei Patienten mit ST-Hebungsinfarkt auf und beeinflusst hier die Prognose negativ. Der Einfluss der endothelialen Stickstoffmonoxidsynthetase (eNOS), des Stickstoffmonoxids (NO) selbst und des NO-Speichermetaboliten ist in diesem Zusammenhang bisher nicht abschließend geklärt.

Zielsetzung: Ziel dieser Arbeit war es, den Einfluss einer Anämie auf den akuten Myokardinfarkt zu quantifizieren. Insbesondere sollten die Auswirkungen eines akuten Myokardinfarktes auf den NO-Pool und wiederum die Auswirkungen einer Anämie im akuten Myokardinfarkt auf den NO-Pool untersucht werden.

Hypothese: Wir stellten die Hypothese auf, dass eine Anämie im akuten Myokardinfarkt mit einer Reduktion der NO-Metabolite vor allem in den roten Blutkörperchen einhergeht. Aufgrund dessen verlieren die roten Blutkörperchen ihre kardioprotektiven Eigenschaften und werden dysfunktional. Dieser Pathomechanismus könnte Einfluss auf die erhöhte Mortalität von anämischen Patienten im akuten Myokardinfarkt haben.

Methoden und Resultate: Zur Bestimmung des NO-Pools wurden Blutproben von Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung und akutem ST-Hebungsinfarkt asserviert und diese jeweils in Subgruppen mit Anämie und ohne Anämie unterteilt. Anhand der Blutproben bestimmten wir die NO-Metabolite Nitrit und nitrylisierte Spezies mittels reduktiver Gasphasenchemilumineszenz. Des Weiteren wurde Nitrat mittels ENO im Plasma und Erythrozyten bestimmt.

Bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt und Anämie zeigten sich deutlich verringerte Nitrit- und Nitratwerte in Erythrozyten. Patienten mit chronischer KHK und Anämie zeigten keine verminderten Nitrit- und Nitratwerte in Erythrozyten.

Schlussfolgerungen: Zusammenfassend lässt sich sagen, dass eine normozytäre, normochrome Anämie im akuten Myokardinfarkt zu einer Reduktion der NO-Metabolite in Erythrozyten führt. Dies liefert Hinweise auf einen gestörten NO-Metabolismus, der ursächlich für die erhöhte Mortalität von Patienten mit Anämie und akutem Myokardinfarkt sein könnte. Erythrozyten von anämischen Patienten zeigen verringerte kardioprotektive Eigenschaften, welches sich auf eine RBC Dysfunktionalität zurückführen lässt.

Summary (english)

Rationale: Cardiovascular diseases, especially ischemic heart disease, are the most common cause of death in the Western world. Anemia often occurs in patients with ST-elevation myocardial infarction and harms prognosis. In this context, the influence of endothelial nitric oxide synthase (eNOS), nitric oxide (NO) itself, and NO storage metabolites has not yet been conclusively clarified.

Objective: The aim of this study was to quantify the influence of anemia on acute myocardial infarction. In particular, the effects of acute myocardial infarction on the NO pool and, in turn, the effects of anemia in acute myocardial infarction on the NO pool were to be investigated.

Hypothesis: We hypothesized that anemia in acute myocardial infarction is associated with a reduction in NO metabolites, especially in red blood cells. As a result, red blood cells lose their cardioprotective properties and become dysfunctional. This pathomechanism could influence the increased mortality of anemic patients in acute myocardial infarction.

Methods and results: To determine the NO pool, blood samples were collected from patients with coronary artery disease (CAD), and acute ST-elevation myocardial infarction, which were then divided into subgroups with and without anemia. Using the blood samples, we determined the NO metabolites nitrite and nitrile-reactive species by reductive gas phase chemiluminescence. Nitrate was determined by using ENO in plasma and erythrocytes. Patients with acute myocardial infarction and anemia showed significantly reduced nitrite and nitrate levels in erythrocytes. Patients with chronic CHD and anemia did not show reduced nitrite and nitrate levels in erythrocytes.

Conclusions: In Conclusion, normocytic, normochromic anemia in acute myocardial infarction leads to a reduction in NO metabolites in erythrocytes. This provides evidence of impaired NO metabolism, which could be the cause of increased mortality in patients with anemia and acute myocardial infarction. Erythrocytes from anemic patients show reduced cardioprotective properties, which may be due to dysfunction.

Abkürzungsverzeichnis

ACE	angiotensin converting enzyme
ACS	akutes Koronarsyndrom
aHT	arterielle Hypertonie
AP	Angina Pectoris
ARB	Angiotensin Rezeptor Blocker
ASS	Acetylsalicylsäure
ATP	Adenosintriphosphat
BH4	Tetrahydrobiopterin
BMI	Bodymassindex
CCS	canadian cardiovascular score
cGMP	cyclisches Guanosinmonophosphat
CK	Creatinkinase
CKD	chronic kidney disease
Cre	cyclization recombination/ causes recombination
DAPT	duale antithrombozytäre Therapie
DES	drug eluting stent
DM	Diabetes Mellitus
DOAK	direkte orale Antikoagulantien
EC	Endothelzellen
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EKG	Elektrokardiogramm
eNOS	endotheliale Stickstoffmonoxidsynthase
EPO	Erythropoetin
ERT2	Östrogenrezeptor T2 Gen
fl	Femtoliter
g	Gramm
G	g-Kraft
g/dl	Gramm/Deziliter
g/l	Gramm/ Liter
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GTP	Guanosintriphosphat
HAA	hospital aquired anemia
Hb	Hämoglobin
Hbb	Hämoglobin Beta Kette
HDL	high density Lipoprotein
HLP	Hyperlipoproteinämie
HPLC	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie
Hs-cTn	hochsensitives kardiales Troponin
HZV	Herzzeitvolumen
I/R	Ischämie/ Reperfusion
iNOS	induzierbare Stickstoffmonoxidsynthase
INR	international normalized ratio
kg/m ²	Kilogramm/ Quadratmeter
KHK	koronare Herzerkrankung
KO	Knock-Out
L	Liter
L-NAME	N-Nitro-L-Aginin-Methylester
LDH	Laktathydrogenase
LDL	low densitiy Lipoprotein
LoxP	locus of X-over P1
LV	linker Ventrikel
LV-Funktion	linksventrikuläre Funktion
LVDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
M	Meter

m	Milli
MCH	mittleres korpuskuläres Hämoglobin
MCHC	mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration
MCV	mittleres korpuskuläres Volumen
MetHb	Methämoglobin
mg/dl	Milligramm/ Deziliter
mg/l	Milligramm/ Liter
ml	Milliliter
ml/min	Milliliter/ Minute
mM	Millimol
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
Mmol/l	Millimol/ Liter
mV	Millivolt
N	Nano
NADPH	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NaOH	Natriumhydroxid
NEM	N-Ethylmaleinimid
ng/l	Nanogramm/ Liter
ng/ml	Nanogramm/ Milliliter
nmol/l	Nanomol/ Liter
nNOS	neuronale Stickstoffmonoxidsynthase
NO	Stickstoffmonoxid
NO ₂ -	Nitrit
NO ₃ -	Nitrat
NOS	Stickstoffmonoxidsynthase
NO _x	NO-Metabolite
NP 40	Nonidet P-40/ octylphenoxypolyethoxyethanol
n.s.	nicht signifikant
NSTEMI	Nicht-ST-Hebungsinfarkt
AMI	akuter Myokardinfarkt
NTproBNP	N-terminales pro brain natriuetrisches Peptid
P	Piko
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PBS	phosphatgepufferte Salzlösung
PCI	perkutane Koronarintervention
Pg	Pikogramm
pg/ml	Pikogramm/ Milliliter
RBC	redbloodcells
RNNO	N-Nitrosaminen
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
RSNO	S-Nitrosothiolen
RXNO	stickstoffmonoxidhaltige Verbindungen
SE	Siemens-Einheit
sGC	lösliche Guanylatzyklase
STEMI	ST-Hebungsinfarkt
sTFR	löslicher Transferrinrezeptor
U/l	Unit/ Liter
µg/dl	Mikrogramm/ Deziliter
µg/l	Mikrogramm/ Liter
µl	Mikroliter
µmol/l	Mikromol/ Liter
µ	Mikro
V	Volt
WHO	world health organization

1 Inhaltsverzeichnis

2	Einleitung	1
2.1	<i>Die koronare Herzkrankheit</i>	1
2.1.1	Epidemiologie (Deutschland)	1
2.1.2	Ätiologie und Pathogenese	1
2.1.3	Klinik	2
2.2	<i>Das akute Koronarsyndrom</i>	3
2.2.1	Epidemiologie (Deutschland)	3
2.2.2	Ätiologie und Pathogenese	3
2.2.3	Basisdiagnostik	4
2.2.4	Einteilung des ACS	4
2.3	<i>Therapie im ACS</i>	5
2.3.1	Medikamentöse Therapie	5
2.3.2	Interventionelle Therapie	6
2.3.3	Sekundärprävention	7
2.4	<i>Anämie</i>	9
2.4.1	Ätiologie und Pathogenese	9
2.4.2	Die Anämie im akuten Myokardinfarkt	10
2.5	<i>NO-Metabolismus</i>	11
2.5.1	Mechanismen der NO-Produktion und -Regulation	11
2.5.2	Nitrit und Nitrat als Marker für den NO-Metabolismus	11
2.5.3	Die Rolle von NO im ACS	12
2.5.4	Die Rolle der Erythrozyten für den NO-Stoffwechsel	13
2.5.5	Der Einfluss einer Anämie auf den NO-Stoffwechsel	15
3	Fragestellung und Hypothese	16
4	Material und Methoden	17
4.1	<i>Messung des zirkulierenden NO-Pools</i>	17
4.1.1	Reduktive Gasphasen-Chemilumineszenz	17
4.1.2	ENO	18
4.2	<i>Patientenkollektiv</i>	20
4.3	<i>Probenherstellung</i>	20
4.4	<i>Probenaufbereitung</i>	22
4.4.1	Nitrit- und Nitratbestimmung aus Plasma	22
4.4.2	Nitrit und Nitratbestimmung aus RBCs	23
4.4.3	RXNO-Bestimmung aus Plasma	24
4.4.4	RXNO-Bestimmung aus RBCs	25
4.5	<i>Kontamination Nitrit/ Nitrat</i>	26
4.6	<i>Statistische Auswertung</i>	27
5	Ergebnisse	28
5.1	<i>Charakterisierung der Patienten</i>	28
5.2	<i>NOx Bestimmung aus dem Plasma</i>	31
5.2.1	Nitrat (NO_3^-)	31
5.2.2	Nitrit (NO_2^-)	32
5.2.3	RSNO und RNNO	33
5.3	<i>NOx Bestimmung aus RBCs</i>	35
5.3.1	Nitrat (NO_3^-)	35
5.3.2	Nitrit (NO_2^-)	36

5.3.3	RSNO und RNNO	37
Diskussion		40
5.4	<i>Das Anämie Modell</i>	40
5.5	<i>Kardioprotektiver Effekt der Erythrozyten</i>	42
5.6	<i>Einfluss der KHK auf die RBC-Funktion</i>	44
5.7	<i>Die Rolle der Anämie auf die NO-Bioverfügbarkeit</i>	46
5.8	<i>Ursachen und Auswirkungen der Anämie auf ein postmyokardiales Outcome</i>	47
5.9	<i>Die Rolle der RBCs und des NO-Stoffwechsels beim STEMI mit Anämie</i>	50
5.10	<i>Limitationen</i>	52
5.10.1	Einschränkungen bei der Bestimmung von NO und seinen Metaboliten	52
5.10.2	Unvollständige Erfassung des NO-Pools	53
5.10.3	Einfluss externer Faktoren auf NO-Metabolite	53
5.10.4	Risiko der Kontamination	54
5.10.5	Stichprobengröße und technische Probleme	54
5.11	<i>Schlussfolgerung und Ausblick</i>	54
6	Abbildungsverzeichnis	57
7	Tabellenverzeichnis	58
8	Literatur und Quellenverzeichnis	59
9	Danksagung	68

2 Einleitung

2.1 Die koronare Herzkrankheit

2.1.1 Epidemiologie (Deutschland)

Herzkreislauferkrankungen stellen die häufigsten Todesursachen in Deutschland dar, innerhalb dieser Gruppe sind die ischämischen Herzkrankheiten wiederum die größte Gruppe [1]. Die Prävalenz der koronaren Herzerkrankung (KHK) in Deutschland beträgt ca. 5,5% (Stand 2023). Hierbei ist jedoch auch eine Abnahme dieser über die letzten Jahre zu beobachten [2]. Die Relevanz der KHK steigt dabei mit dem Alter an. Über einem Alter von 60 Jahren steigt die Prävalenz der behandlungsbedürftig relevanten KHK auf >5% an. Weitere beeinflussende Faktoren sind das Geschlecht, der sozioökonomische Status, der Bildungsstatus und regionale Unterschiede zwischen Ost und West innerhalb Deutschlands [2, 3].

2.1.2 Ätiologie und Pathogenese

Die KHK ist definiert als Manifestation der Atherosklerose an den Herzkranzarterien, welche progredient verläuft und zu einem Missverhältnis von Sauerstoffangebot und -bedarf am Herzmuskel führt [4].

Bei der Pathogenese der Atherosklerose (siehe Abbildung 1) kommt es zu einer Adhäsion von mononukleären Zellen, vor allem Monozyten und im geringen Maße Lymphozyten, an Endothelzellen. Dadurch kommt es zu einer Wanderung der Zellen in den subintimalen Raum, wo sich die Monozyten zu Makrophagen differenzieren. Diese Makrophagen nehmen Lipide, wie Low-density-Lipoprotein (LDL) oder andere atherogene Lipoproteine auf und wandeln sich zu Schaumzellen um [5]. Diese bilden Fettstreifen, welche das Hauptmerkmal der frühen Atherosklerose darstellen. Mit einem Fortschreiten der Läsion wandern glatte Muskelzellen ein, welche sich zunehmend vermehren [6]. Sterben Schaumzellen ab, bleibt ein weicher, destabilisierender und nekrotischer Kern zurück. Dieser ist von einer zerbrechlichen, rupturanfälligen fibrösen Kappe umgeben [7]. Im Alter kommt es zur Verkalkung der Plaques [8]. Verkalkte Plaques sind eher für eine stabile Angina Pectoris verantwortlich [9, 10]. Ebenfalls sind hier die Plaques stabiler, kleiner und gehen eher mit einer stärkeren Lumeneinengung einher [11]. Durch einen Defekt oder Riss der fibrösen Kappe kann der thrombogene Kern des Plaques freigelegt werden, die sogenannte Plaqueruptur, welche in einem akuten Myokardinfarkt enden kann [12].

Risikofaktoren zur Entstehung einer KHK sind klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren wie die arterielle Hypertonie, Nikotinkonsum, Diabetes mellitus, Adipositas, das Alter und eine familiäre Prädisposition. Aber auch psychosoziale Faktoren und Stress wirken sich negativ auf das Herzkreislaufsystem aus.

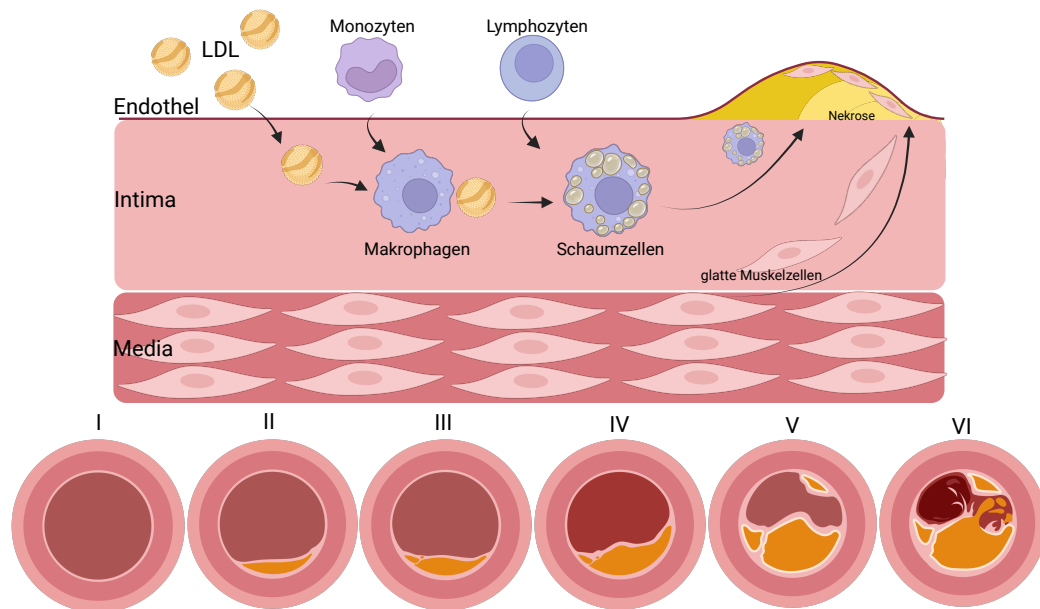


Abbildung 1 Pathogenese der Atherosklerose.

Durch eine endotheliale Dysfunktion kommt es zu einer erhöhten Gefäßpermeabilität und gesteigerter Adhäsion von Leukozyten. Aufgrund einer Hyperlipidämie kommt es zur Akkumulation von Lipoproteinen (LDL). Oxydiertes LDL aktiviert Monozyten. Diese differenzieren in der Intima zu Makrophagen. Die Makrophagen phagozytieren die Lipoproteine und es kommt zur Bildung von Schaumzellen. Glatte Muskelzellen wandern von der Media in die Intima ein. Die Schaumzellen sterben ab und bilden einen nekrotischen Kern. Solange das Atherom von einer fibrösen Kappe umschlossen ist, bleibt es stabil. Kommt es zur Plaqueruptur, kann es zum Gefäßverschluss mit Ischämie im folgenden Gefäßabschnitt kommen. Generell besteht eine chronische Entzündungsreaktion durch Aktivierung von Leukozyten, Lymphozyten, Zytokinen und Chemokinen. I: Gesundes Gefäß, II-III: Atherosklerose mit Bildung von „fatty streaks“, IV-V: Atherosklerose mit fibrösem Plaque, VI: Plaqueruptur mit Thrombose. Eigene Darstellung.

2.1.3 Klinik

Symptome der KHK können sehr variabel sein und können von asymptomatischen bis zu Angina Pectoris (AP) Beschwerden oder auch Belastungsdyspnoe gehen. Auch Herzrhythmusstörungen oder eine Herzinsuffizienz können ein Ausdruck der KHK sein. Das Leitsymptom ist jedoch die stabile Angina Pectoris, welche als reproduzierbarer Thoraxschmerz, der unter körperlicher oder psychischer Belastung auftritt und in Ruhe oder nach Gabe von Nitroglyzerin verschwindet, definiert ist. Dieser wird anhand der *canadian cardiovascular society* (CCS) in vier Schweregrade eingeteilt. Diese Schweregrade gehen von keiner Angina Pectoris bei Alltagsbelastungen (CCS 1) bis hin zu Ruhebeschwerden bzw. Beschwerden bei geringster körperlicher Belastung (CCS 4) [13].

2.2 Das akute Koronarsyndrom

2.2.1 Epidemiologie (Deutschland)

In Deutschland hat sich die Inzidenz des akuten Koronarsyndroms (ACS) in den Jahren 2005 bis 2015 von 6,9 Fällen/ 1000 Personenjahren auf 5,0 Fälle/ 1000 Personenjahren reduziert. Dies wurde vor allem durch die Abnahme von instabiler Angina Pectoris und ST-Hebungsinfarkten (STEMI) und gleichzeitiger Zunahme von Nicht-ST-Hebungsinfarkten (NSTEMI) beeinflusst [14].

Insgesamt sterben 6,3% der Patienten mit einem ACS in Deutschland im Krankenhaus. Dabei haben STEMI-Patienten die höchste Mortalität mit 12% versus 6,6% bei NSTEMI-Patienten [14].

2.2.2 Ätiologie und Pathogenese

Ein akuter Myokardinfarkt (AMI) ist durch eine Kardiomyozytennekrose aufgrund einer myokardialen Ischämie mit dazugehöriger Erhöhung des kardialen Troponins auf die 99. Perzentile definiert [15]. Ein AMI geht mit mindestens einem der nachfolgenden Kriterien einher: Symptome einer myokardialen Ischämie, neue EKG-Veränderungen, ein bildgebender Nachweis von Verlust von vitalem Myokard bzw. Wandbewegungsstörungen oder der Nachweis eines intrakoronaren Thrombus mittels Angiografie oder Autopsie [16].

Dabei wird der AMI anhand der Ätiologie in fünf verschiedene Typen klassifiziert.

Typ 1 bezeichnet einen Myokardinfarkt auf dem Boden einer Atherosklerose. Aufgrund einer Plaqueruptur, Ulzeration, Fissur, Erosion oder Dissektion kommt es zu einem intraluminal liegenden Thrombus, der zu einem Sauerstoffdefizit und dementsprechend zu einer Nekrose der Kardiomyozyten führt.

Der Myokardinfarkt Typ 2 beruht auf einer ischämischen Imbalance zwischen Sauerstoffangebot und -verbrauch ohne ursächliche Okklusion. Beispielsweise aufgrund eines hämorrhagischen Schocks, Herzrhythmusstörungen, Hypoxie, aber auch aufgrund von Koronarspasmen oder einer endothelialen Dysfunktion [17-19].

Von einem Myokardinfarkt Typ 3 spricht man, wenn es zu einem Herzkreislaufstillstand aufgrund des Myokardinfarktes gekommen ist, bevor Biomarker einen myokardialen Schaden nachweisen konnten.

Der Myokardinfarkt Typ 4 kann nochmals unterteilt werden. Typ 4a steht in Zusammenhang mit einer perkutanen Koronarangiografie. Postprozedural treten Symptome, Biomarker- oder EKG-Veränderungen auf.

Typ 4b beruht auf einer Myokardischämie aufgrund einer Instent-Thrombose. Und Typ 5 tritt im Rahmen von aorto-koronaren Bypass Operationen auf [15].

2.2.3 Basisdiagnostik

Präsentiert sich ein Patient mit entsprechenden akuten Symptomen, so wird eine Ersteinschätzung im Sinne der Basisdiagnostik durchgeführt. Diese beinhaltet das Schreiben eines 12-Kanal-EKGs, die körperliche Untersuchung, die Anamnese, die Erfassung von Vitalparametern und die Bestimmung des hochsensitiven kardialen Troponins (hs-cTn).

Anhand des EKGs kann das ACS in einen STEMI oder NSTEMI eingeteilt werden. Das Schreiben des EKGs sollte unmittelbar bei Eintreffen am Patienten erfolgen, die Befundung innerhalb von 10 Minuten durch einen qualifizierten Notfallsanitäter bzw. Notfallsanitäterin oder Arzt bzw. Ärztin [20, 21].

Neben dem EKG spielt weiterhin auch die Bestimmung des hs-cTn als Biomarker eine entscheidende Rolle. Ein Anstieg bzw. Abfall der cTn-Werte über die 99. Perzentile deutet auf die Diagnose eines Myokardinfarktes hin [15]. Dabei wird empfohlen, die Bestimmung primär nach dem 0h/1h-Algorithmus durchzuführen. Zweite Wahl wäre der 0h/2h-Algorithmus [22-25]. Hierbei deutet ein anfänglich sehr niedriges hs-cTn oder ein niedriges hs-cTn ohne Dynamik auf einen Ausschluss eines ACS hin. Bei einem hohen Ausgangswert oder Anstieg sollte weitere invasive Diagnostik erfolgen. Patienten, die zwischen den beiden Kategorien liegen, sollten engmaschig beobachtet werden.

2.2.4 Einteilung des ACS

Bei Patienten mit akutem Brustschmerz und EKG-Veränderungen im Sinne von anhaltenden ST-Strecken-Hebungen spricht man von einem STEMI.

Die neuen ST-Hebungen werden am J-Punkt gemessen und müssen in mindestens zwei zusammenhängenden Ableitungen bestehen. Je nach betroffenen Ableitungen im EKG können Rückschlüsse auf die Lokalisation des Infarktes gezogen werden.

Ohne die entsprechenden EKG-Veränderungen spricht man von einem NSTEMI. Hier zeigt sich jedoch eine hs-cTn-Dynamik. Bei einem NSTEMI liegen zwar keine ST-Strecken-Hebungen vor, es können jedoch ebenfalls EKG-Veränderungen auftreten, die

die Prätestwahrscheinlichkeit für ein ACS erhöhen. Dazu gehören ST-Strecken-Senkungen, T-Wellen-Veränderungen vor allem biphasische T-Wellen oder eine T-Wellennegativierung und/oder eine U-Wellen-Inversion [16].

Besteht eine kardiale Symptomatik ohne signifikante EKG-Veränderungen und ohne hs-cTn Dynamik, spricht man von einer instabilen Angina Pectoris. Hierbei besteht eine akute Myokardischämie, ausgelöst durch geringe Belastung oder in Ruhe, jedoch ohne akute Schädigung der Kardiomyozyten.

2.3 Therapie im ACS

2.3.1 Medikamentöse Therapie

Die Akutmaßnahmen bei einem ACS dienen in erster Linie der Stabilisierung des Patienten mit Verhinderung von Komplikationen, der Vorbereitung auf die weiterführende Therapie und des Transports in eine geeignete Klinik mit Herzkatheterlabor.

Sauerstoff gehört zu den Erstmaßnahmen bei hypoxischen Patienten. Bei einer Sauerstoffsättigung von über 90% sollte dieser jedoch nicht eingesetzt werden [26, 27]. Nitrate können zur Symptomreduktion eingesetzt werden, diese Reduktion kann jedoch irreführend in der Diagnostik sein und sollte dementsprechend nicht routinemäßig eingesetzt werden [28]. Schmerzmittel sollten erwogen werden, insbesondere intravenös verabreichtes Morphin [29]. Ebenfalls Betablocker sollen erwogen werden bei STEMI-Patienten, die eine PCI erhalten, ohne Anzeichen für eine Herzinsuffizienz, einen systolischen Blutdruck von >120 mmHg und ohne weitere Kontraindikationen. Hier können sich diese positiv auf maligne Arrhythmien, die LV-Funktion und die Infarktgröße auswirken [30-33].

Eine prästationäre Fibrinolyse sollte vor allem bei STEMI-Patienten erwogen werden, bei welchen eine Revaskularisation im Herzkatheterlabor <120 Minuten nicht angestrebt werden kann.

Rekombinante Gewebe-Plasminogen-Aktivatoren wie Alteplase, Tenecteplase oder Reteplase stellen hierbei die Therapie der Wahl dar. Ein prästationärer Einsatz im Vergleich zu einer verzögerten Gabe im Krankenhaus reduziert die Frühmortalität um 17%, insbesondere beim Einsatz 2 h nach Auftreten der Symptome [34, 35].

Eine parenterale Antikoagulation wird bei allen Patienten mit ACS zum Zeitpunkt der Diagnosestellung empfohlen [36, 37]. Hierbei stellt unfractioniertes Heparin gewichtsadaptiert den Standard dar.

Die duale Plättchenhemmung (DAPT) ist ebenfalls eine der wichtigsten Säulen der medikamentösen Basismaßnahmen bei einem akuten Myokardinfarkt. Diese setzt sich aus Acetylsalicylsäure (ASS) und einem P2Y12-Inhibitor zusammen und wird für 12 Monate nach Implantation eines drug-eluting-stents (DES) oder nach konservativer Therapie empfohlen [38, 39]. ASS sollte routinemäßig schon vor dem stationären Aufenthalt als loading dose 250 mg i.v. Aspirin eingesetzt werden [39]. Ein Einsatz von P2Y12-Inhibitoren vor einer Angiografie kann bei STEMI-Patienten erwogen werden, bei einer NSTEMI-Konstellation mit einer geplanten frühen invasiven Therapie (<24 Stunden) wird dieser Einsatz nicht empfohlen [40]. Innerhalb der P2Y12-Inhibitoren gibt es Abstufungen bezüglich der Empfehlungen. So zeigt sich eine höhere Evidenzlage für Ticagrelor und Prasugrel, im Vergleich zu Clopidogrel. Clopidogrel sollte im ACS erwogen werden, wenn Kontraindikationen gegen Prasugrel oder Ticagrelor bestehen, und kann ebenfalls erwogen werden bei Patienten >70 Jahren [41-43].

Ticagrelor ist mit einem höheren Risiko für Tod, Myokardinfarkt und Schlaganfall bei gleichem Blutungsrisiko im Vergleich zu Prasugrel verbunden [44].

2.3.2 Interventionelle Therapie

Die Dringlichkeit der invasiven Therapie ist abhängig von der Einteilung des ACS. Abhängig vom initialen EKG, der Klinik des Patienten und der hämodynamischen Stabilität sollte die Therapie entsprechend angepasst werden. Bei Patienten, die in die STEMI-Kategorie fallen, sollte eine schnellstmögliche Angiografie mit perkutaner Koronarintervention (PCI) angestrebt werden. Diese sollte in unter 120 Minuten erfolgen. Falls dies nicht möglich ist, kann eine Fibrinolyse erwogen werden. Bei Patienten mit NSTEMI-ACS-Konstellation wird abhängig vom klinischen Gesamtbild entschieden. Je nachdem wird eine stationäre invasive Therapie, eine sofortige invasive Therapie bei *very-high-risk-Patienten* oder eine frühe Therapie innerhalb von 24 Stunden bei *high-risk-Patienten* empfohlen. Zu den *very-high-risk* Kriterien zählen die hämodynamische Instabilität, wiederkehrender bzw. anhaltender Brustschmerz, Zeichen akuter Herzinsuffizienz, Arrhythmien bzw. Asystolie und wiederkehrende EKG-Veränderungen vereinbar mit einer Ischämie. High-Risk Kriterien liegen vor bei der Bestätigung der NSTEMI Diagnose anhand des hs-cTN Algorithmus, dynamischen ST-Strecken bzw. T-

Wellen Veränderungen, vorübergehenden ST-Strecken Hebungen oder einem *GRACE-Score* von >140 Punkten [16, 45].

Selbst wenn bei STEMI-Patienten eine im Vorfeld durchgeführte Fibrinolyse Erfolg erbracht hat, wird eine frühe Angiografie mit ggf. notwendiger PCI empfohlen, da hier die Raten für Reinfarkte oder eine wiederkehrende Ischämie deutlich niedriger sind [46-49]. Ebenso verringert sich die Mortalität bei einer frühen Angiografie mit PCI nach stattgehabter Fibrinolyse im Vergleich zur konservativen Therapie nur mit Fibrinolyse. Dennoch stellt die Fibrinolyse mit einer folgenden PCI innerhalb von 24 Stunden nur die zweite Wahl der empfohlenen Therapie dar, im Vergleich zur routinemäßigen sofortigen PCI [47].

Falls bei STEMI-Patienten eine PCI nicht innerhalb von unter 120 Minuten durchgeführt werden kann, wird eine Fibrinolyse innerhalb von 12 Stunden empfohlen, soweit keine Kontraindikationen vorliegen [50, 51].

2.3.3 Sekundärprävention

Die Sekundärprävention stellt ebenfalls eine essenzielle Säule der Therapie des ACS dar und sollte unmittelbar nach dem Ereignis eingeleitet werden. Ziele hierbei sind eine Lifestyle-Anpassung in Kombination mit der optimalen medikamentösen Therapie, um Risikofaktoren und Komorbiditäten weiter zu reduzieren.

Zu den Lifestyle-Modifikationen zählen die Nikotinabstinenz, eine gesunde ausgewogene Diät, regelmäßig körperlich ausdauernde Bewegung, ein gesundes Gewicht und psychosoziale Herangehensweisen [52-55]. Am effektivsten können diese Ziele der Sekundärprävention im Rahmen von Rehabilitationsmaßnahmen umgesetzt werden. Diese sollten so früh wie möglich nach dem Akutereignis initiiert werden [56-58]. Obwohl festgestellt wurde, dass Rehabilitationsmaßnahmen einen signifikant positiven Effekt auf kardiovaskuläre Ereignisse haben, sind die Teilnahmequote und langfristige Umsetzung der erlernten Strategien niedrig [59, 60].

Neben den genannten Maßnahmen ist auch die medikamentöse Sekundärprophylaxe ein essenzieller Teil der Therapie des ACS. Neben der bereits erwähnten DAPT gehört die Senkung des LDL-Cholesterins zur Einstellung der Risikofaktoren zu einer wichtigen Säule in der Sekundärprophylaxe der KHK. Hier wurde festgestellt, dass ein erniedrigtes LDL-Cholesterin mit weniger erneuten kardiovaskulären Ereignissen nach einem ACS in

Verbindung steht [61]. Das aktuell empfohlene Ziel-LDL nach einem akuten kardiovaskulären Ereignis liegt bei < 55 mg/dl bzw. eine Reduktion von $>50\%$ des Ausgangswertes. Treten zwei kardiovaskuläre Ereignisse innerhalb von zwei Jahren auf, sollte das LDL bei < 40 mg/dl liegen. Die Senkung des LDL sollte so schnell und früh wie möglich mittels Statinen erfolgen. Bei sehr hohen LDL-Ausgangswerten, Patienten ohne bereits bestehende oder auch schon maximal ausdosierter Statintherapie wird ebenfalls der Einsatz von Ezetimib empfohlen [62]. Patienten mit ACS und LDL-Cholesterinwerten, die nicht im Zielbereich sind, trotz bestehender Statin- und Ezetimib-Therapie können vom Einsatz von PCSK9-Inhibitoren profitieren und sollten hierbei in speziellen DGK-zertifizierten Lipidambulanzen behandelt werden [63].

Eine optimale Blutdruckeinstellung mit $<130/80$ mmHg sollte ebenfalls erfolgen. Bei Patienten mit Diabetes mellitus sollte ein HbA1c von $<7\%$ angestrebt werden. Betablocker nach ACS werden bei Patienten mit reduzierter LV-Funktion unter 40% unabhängig von Herzinsuffizienzsymptomen empfohlen [64, 65]. Ein Einsatz bei erhaltener Pumpfunktion kann erwogen werden, bisher konnten jedoch keine klaren Vorteile gegenüber Kontrollgruppen festgestellt werden.

Der Einsatz von angiotensin-converting-enzyme (ACE) Inhibitoren führt zu einem besseren outcome nach ACS, besonders bei Patienten mit zusätzlicher Herzinsuffizienz und eingeschränkter LV-Funktion von $<40\%$, Diabetes mellitus, einer chronischen Nierenerkrankung und/oder arterieller Hypertonie [66-68]. Der Einsatz von ACE-Hemmern führt zu einer Reduktion der 30-Tage-Mortalität proportional um 7% [69]. Ebenfalls sind Mineralocorticoidrezeptor Antagonisten nach einem ACS zu empfehlen bei Patienten mit Herzinsuffizienz, welche mit einer eingeschränkten LV-Pumpfunktion $<40\%$ assoziiert ist [70].

Zur weiteren Risikoreduktion wird auch die jährliche Impfung gegen Influenza empfohlen. Bei Patienten mit atherosklerotisch kardiovaskulären Erkrankungen führt diese zu einer reduzierten Inzidenz von Myokardinfarkten, einer verbesserten Prognose einer Herzinsuffizienz und einem verminderten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse bei älteren Patienten [71, 72]. Insgesamt verringert die Impfung die generelle und kardiovaskuläre Mortalität innerhalb von 12 Monaten nach AMI [73].

2.4 Anämie

2.4.1 Ätiologie und Pathogenese

Eine Anämie ist ein Zustand, bei dem die Anzahl der roten Blutkörperchen (Erythrozyten) oder die Hämoglobinkonzentration (Hb) im Blut unter die normalen Werte sinkt, was zu einer verringerten Sauerstofftransportkapazität des Blutes führt. Dies kann zu Symptomen wie Müdigkeit, Schwäche und Kurzatmigkeit führen. Nach der WHO-Klassifikation liegt eine Anämie vor, wenn die Hb-Konzentration bei Männern <13 g/dl, bei Frauen <12 g/dl und bei Schwangeren <11 g/dl liegt [74].

Rund 20 % der Patienten, die einen ST-Hebungsinfarkt (STEMI) erleiden, weisen eine Anämie auf [75].

Mit etwa 80% ist die häufigste Ursache einer Anämie der Eisenmangel. In Europa leiden etwa 10% an diesem, in Entwicklungsländern sogar $>50\%$ der Frauen im gebärfähigen Alter. Weltweit betrachtet haben ca. 25% der Menschen einen Eisenmangel [76].

Neben dem Eisenmangel gibt es eine Reihe weiterer Ursachen für eine Anämie. Zu den häufigsten gehören chronische Erkrankungen, die die zweithäufigste Ursache darstellen. Weitere Ursachen umfassen die Thalassämie, hämolytische Anämie, renale Anämie, aplastische Anämie sowie die megaloblastäre Anämie, die durch einen Mangel an Vitamin B12 oder Folsäure bedingt ist. Auch das myelodysplastische Syndrom gehört zu den möglichen Ursachen einer Anämie [76].

Eine Anämie tritt häufig im Rahmen von Krankenhausaufenthalten auf, insbesondere auf Intensivstationen. Diese Form der Anämie wird als im Krankenhaus erworbene Anämie (hospital-acquired anemia, HAA) bezeichnet [77].

Eine Anämie ist häufig mit zahlreichen Komorbiditäten verbunden und beeinflusst Erkrankungen aus nahezu allen medizinischen Disziplinen. Beispielsweise erhöht eine präoperativ festgestellte Anämie das Risiko für postoperative Komplikationen und ist insbesondere bei Patienten mit kardiovaskulären Vorerkrankungen mit einer erhöhten Morbidität assoziiert [78].

Weiterhin tritt eine Anämie häufig im Zusammenhang mit einer Herzinsuffizienz auf, wobei ein niedrigerer Hämoglobinwert mit einem höheren Schweregrad der Erkrankung, einer erhöhten Hospitalisierungsrate und einer höheren Mortalität verbunden ist [79].

Die Bedeutung der Anämie als ernstzunehmende Erkrankung zeigt sich auch im Zusammenhang mit ihrer Auswirkung auf Morbidität und Mortalität. Bei Menschen ohne kardiovaskuläre Vorerkrankungen ist das Vorhandensein einer Anämie mit einem 1,4-fach erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse verbunden [80].

2.4.2 Die Anämie im akuten Myokardinfarkt

Eine Anämie verschlimmert die Situation im AMI, weil sie die Sauerstofftransportkapazität des Blutes verringert. Dies bedeutet, dass das bereits gefährdete Herzgewebe noch weniger Sauerstoff erhält, was die Schäden verschlimmern kann. Bisher konnte keine adäquate Therapie gefunden werden, die die Mortalität verbessert [81]. Bei Patienten mit AMI entwickelt fast die Hälfte aller Patienten im Krankenhaus eine erworbene Anämie. Diese ist mit einer höheren Sterblichkeitsrate und einem schlechteren Gesundheitszustand ein Jahr nach dem Ereignis assoziiert [82].

Ebenfalls ist die Anämie ein starker unabhängiger Prädiktor für schwerwiegende kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit einem akuten koronaren Syndrom [83].

So haben beispielsweise Patienten mit einem AMI sowohl niedrigere Ausgangs-Hb-Werte, entwickeln während dem Krankenhausaufenthalt häufiger eine Anämie und beide Faktoren sind mit einer höheren Sterblichkeit verbunden [84]. Hierbei existiert eine Beziehung zwischen den Hb-Werten und den Mortalitätsereignissen [85]. Hb-Werte <10 g/dl führen zu einer fast 10-fach höheren Sterblichkeitsrate bei Patienten mit einem akuten ST-Hebungsinfarkt. Zusätzlich besteht bei diesen Patienten ein erhöhtes Risiko für Reinfarkte und gravierende Blutungen [86, 87].

Die 30-Tage-Mortalität bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt liegt generell bei 10,3 %. Bei Hb-Werten <10 g/dl bei 21,6%, bei Hb-Werten >10 g/dl bei 9,3% [88]. Im Mausmodell war die Sterblichkeit von Mäusen mit Anämie nach Reperfusion nach AMI ebenfalls höher als bei Kontrollmäusen [89].

Auch im Rahmen der Behandlung von akuten koronaren Ereignissen zeigt sich deutlich der Einfluss der Anämie. Patienten, die sich einer koronaren Bypass-Operation unterziehen und eine Anämie haben, haben eine höhere In-Krankenhaus-Mortalität als Patienten ohne Anämie [90]. Ebenso Patienten, die sich einer perkutanen koronaren Intervention unterzogen haben [91].

2.5 NO-Metabolismus

2.5.1 Mechanismen der NO-Produktion und -Regulation

Stickstoffmonoxid (NO) ist ein farb- und geruchloses Gas mit Radikaleigenschaften und ist an einer Vielzahl von Funktionen des menschlichen Organismus beteiligt. So reguliert es unter anderem den Gefäßwiderstand, ist an der Hemmung der Plättchenaggregation und der Leukozytenadhäsion beteiligt, dient als Neurotransmitter und spielt eine Rolle für das Immunsystem. [92, 93]

NO wird durch die Stickstoffmonoxid-Synthasen (NOS) durch Umwandlung der Aminosäure L-Arginin in L-Citrullin unter Verwendung von NADPH und Sauerstoff gebildet. NO aktiviert darüber die Guanylylcyclase, die aus Guanosintriphosphat (GTP) cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) produziert, welches wiederum die Proteinkinase G aktiviert, wodurch es in der Gefäßmuskulatur zu einer Vasodilatation kommt [93].

Die Freisetzung von NO wird durch verschiedene Stimuli ausgelöst. Scherstress oder auch eine Ischämie erhöhen dabei die NO-Freisetzung. Aber auch Botenstoffe, wie Acetylcholin, Bradykinin oder Serotonin, können die Freisetzung erhöhen [94].

Es existieren drei verschiedene Isoformen der NOS. Diese lassen sich in induzierbare und konstitutive NOS einteilen. Die induzierbare NOS (iNOS) besitzt ein festgebundenes Calmodulin und agiert somit calciumunabhängig. Sie wird hauptsächlich in Makrophagen exprimiert und durch Entzündungsreize zum Beispiel Zytokine induziert. [95, 96]

Zu den konstitutiven NOS gehören die neuronale NOS (nNOS) und die endotheliale NOS (eNOS), welche calciumabhängig agieren. Hierbei ist besonders die eNOS relevant, einerseits befindet sich diese im Endothel der Blutgefäße und das dort produzierte NO kann durch Diffusion in die Muskelzellen eine Vasodilatation auslösen [92]. Weiter exprimieren aber auch Erythrozyten eine eNOS, welche ebenfalls relevant zur Regulation des NO-Metabolismus und dementsprechend auch des Blutdrucks ist [97].

2.5.2 Nitrit und Nitrat als Marker für den NO-Metabolismus

Aufgrund der geringen Halbwertszeit kann NO jedoch nicht selbst als Marker für die NOS angenommen werden. Dementsprechend bedarf es Marker, die im Blut bestimmt werden können und von welchen auf die Aktivität der NOS geschlossen werden kann. Hier haben

sich Nitrit und Nitrat etabliert, welche oxidative Produkte des NO-Stoffwechsels darstellen. Durch Umwandlung von L-Arginin wird NO in Gegenwart von Sauerstoff schnell zu Nitrit oxidiert, wobei eine Pseudo-Kinetik erster Ordnung gilt [98]. Hierbei wird der größte Teil des Plasmanitrits von der NOS gebildet, sodass Plasmanitrit akute und chronische Veränderungen der NOS-Aktivität empfindlich widerspiegeln kann [99-101]. Nitrit spiegelt jedoch nicht nur die Aktivität empfindlich wieder, sondern kann auch selbst als NO-Donor fungieren und NO in hypoxischen Gefäßbereichen abgeben [102]. Aus Nitrit wird wiederum Nitrat über eine Reaktion mit oxygeniertem Hämoglobin gebildet [103]. Jedoch ist die Nitratkonzentration, im Gegensatz zur Nitritkonzentration, von einigen exogenen Faktoren abhängig, beispielsweise der Ernährung, der bakteriellen Nitratsynthese im Darm, den Leberenzymen oder auch der Nierenfunktion [104]. Neben der Umwandlung in Nitrit und Nitrat wird auch ein kleiner Anteil des NO in nitrosierte und nitrosylierte Spezies (RXNO) umgewandelt, welche dementsprechend ebenfalls für den NO-Pool und für das Transport- und Puffersystem relevant sind und den interzellulären NO-Austausch beeinflussen [105]. Diese Summe aus S-Nitrosothiolen (RSNO), N-Nitrosaminen (RNNO) und Eisen-Nitrosyl-Spezies stellt einen bioaktiven Speicherpool für NO dar [106-108]. Sie haben aber auch Einfluss auf die Thrombozytenaggregation und -Adhäsion und haben so auch antithrombogene Eigenschaften [109].

2.5.3 Die Rolle von NO im ACS

Neben den bereits genannten Effekten spielt Stickstoffmonoxid (NO) eine entscheidende Rolle im AMI. Endogenes NO versetzt das Myokard während einer Ischämie in einen „Winterschlaf“, indem es den Sauerstoffverbrauch senkt und somit die Ischämie reduziert. Darüber hinaus erhöht es die Kalziumempfindlichkeit und beeinflusst dadurch die Kontraktilität des Herzmuskels [110]. Eine erhöhte Bioverfügbarkeit von NO mildert zudem die linksventrikuläre Dysfunktion nach einem akuten Myokardinfarkt ab [111, 112]. Die Erhöhung des NO-Metaboliten Nitrit hemmt den apoptotischen Zelltod, der durch Ischämie und die nachfolgende Reperfusion verursacht wird [113]. Ein Mangel an NO hingegen verstärkt den Schweregrad eines AMI und führt zu einem ungünstigen Umbau des linken Ventrikels nach einer Ischämie [97, 114, 115]. Bei Mäusen mit einem Knockout der endothelialen NO-Synthase (eNOS) zeigten sich die kardioprotektiven Eigenschaften nach einer Ischämie signifikant vermindert [89]. Diese Mäuse wiesen deutlich größere Infarktgrößen auf und erlitten eine ausgeprägtere Narbenbildung, was

auf den fehlenden Einfluss von NO auf das Remodeling nach einem akuten Myokardinfarkt hinweist [114-116].

2.5.4 Die Rolle der Erythrozyten für den NO-Stoffwechsel

Erythrozyten sind hauptsächlich für den Transport von Sauerstoff in das periphere Gewebe und für den Rücktransport von Kohlendioxid von der Peripherie in die Lunge verantwortlich. Jedoch ist mittlerweile ebenfalls bekannt, dass sie neben dieser Aufgabe weitere wichtige Aspekte der Hämostase beeinflussen.

Besonders im NO-Stoffwechsel tragen sie eine wichtige Aufgabe. Dabei können RBCs NO reversibel binden, transportieren und freisetzen [117]. Es werden hauptsächlich NO-Metaboliten wie Nitrit akkumuliert und transportiert [118]. Insgesamt werden 2/3 des Nitrits und damit des NO-Speichers in den RBCs gelagert, 1/3 nur im Plasma [99], dementsprechend kann man von den RBCs als Nitrit- bzw. NO-Speicher sprechen. Weiter stellen die RBCs auch die Hauptspeicher für zirkulierende NO-Metaboliten dar [119]. So transportieren die RBCs NO, synthetisieren dieses durch Nitritreduktion unter hypoxischen Bedingungen und bilden NO über die eigene eNOS unter normoxämischen Bedingungen [97, 107, 117, 120].

Über die erythrozytäre eNOS wird NO über L-Arginin in L-Citrullin unter Verwendung von NADPH und Sauerstoff gebildet.

Unter normoxischen Bedingungen kann NO mit sauerstoffhaltigem Hämoglobin (OxyHb) reagieren und führt so zur Bildung von inaktivem Methämoglobin und Nitrat. Unter Hypoxie kann einerseits NO aus einer Reaktion des desoxygenierten Hämoglobins mit Nitrit produziert werden. Ebenfalls kann NO selbst mit dem Desoxy-Hb reagieren und Eisen-Nitrosyl-Hb (HbNO) und Nitrosohämoglobin bilden, welche ebenfalls vasodilatatorische Eigenschaften besitzen [113, 121-123].

Über die Aktivierung der Guanylylcyclase, die aus Guanosintriphosphat (GTP) cyclisches Guanosinmonophosphat (cGMP) produziert, wird die Proteinkinase G aktiviert, welche in der Gefäßmuskulatur eine Vasodilatation auslöst [93].

Durch die Vasodilatation kommt es zu einem erhöhten Blutfluss und damit zu einer erhöhten Sauerstoffzufuhr in das hypoxische Gewebe.

Die endogene eNOS in den RBCs hemmt die Thrombozytenfunktion, beeinflusst die Verformbarkeit [117], welche wiederum relevant für die Mikrozirkulation ist [124] und kontrolliert die Freisetzung von NO-Metaboliten [97, 117, 125, 126].

Eine Hemmung bzw. ein Knockout (KO) der eNOS führt zu einer Dysregulation der Membransymmetrie und zur Freisetzung von Phosphatidylserin auf der Oberfläche der RBCs, welches die RBCs für die Entfernung durch Makrophagen markiert und somit zu einer vermehrten Mauserung der RBCs führt. Dementsprechend ist NO relevant an der Lebensdauer der Erythrozyten beteiligt [127].

Die bereits erwähnten positiven Eigenschaften von NO werden vor allem den Erythrozyten zugesprochen, sodass diese hauptverantwortlich für die kardioprotektiven Eigenschaften sind.

Neuere Studien legen nahe, dass diese Eigenschaften nicht von der endothelialen eNOS, sondern von der erythrozytären eNOS ausgehen [128]. Sowohl ex vivo als auch in vivo Experimente haben gezeigt, dass die eNOS in roten Blutkörperchen (RBCs) schützende Wirkungen nach einer Ischämie mit anschließender Reperfusion entfaltet [114, 115, 125, 128, 129].

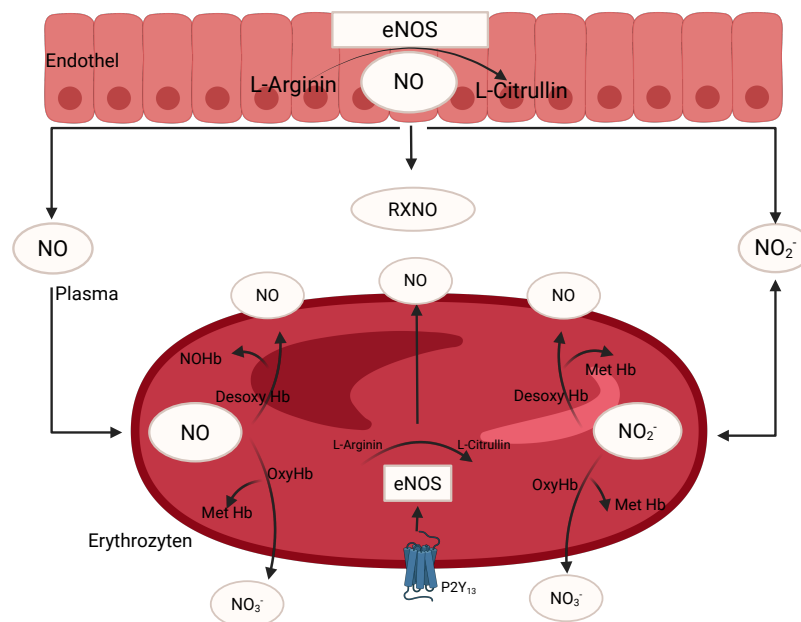


Abbildung 2 Der NO-Stoffwechsel in Erythrozyten.

NO wird durch das Enzym eNOS im Endothel und Erythrozyten durch die Umwandlung von L-Arginin und L-Citrullin synthetisiert. NO aktiviert über sGC eine Relaxation glatter Muskelzellen, worüber es zu einer Vasodilation im Gefäßsystem kommt. NO wird unter anderem in die Metabolite, RSNO und RNO (Gesamt: RXNO) und Nitrit (NO₂⁻) metabolisiert. In Erythrozyten wird NO selbst über oxygeniertes Hämoglobin (OxyHb) zu Methämoglobin und Nitrat (NO₃⁻) umgewandelt. Über desoxygeniertes Hämoglobin kann NO in Eisen-Nitrosyl-Hb umgewandelt werden. Ebenfalls kann Nitrit in Erythrozyten mit oxygeniertem Hämoglobin über Methämoglobin (MetHb) zu Nitrat (NO₃⁻) umgewandelt werden und über desoxygeniertem Hämoglobin über die Bildung von Methämoglobin zur Bildung von NO führen. Die erythrozytäre eNOS wird über den P2Y₁₃ Rezeptor über ATP aktiviert und führt ebenfalls zur eigenen Produktion von NO in den Erythrozyten. In Anlehnung an Kim-Shapiro, D.B., A.N. Schechter, and M.T. Gladwin, Unraveling the reactions of nitric oxide, nitrite, and hemoglobin in physiology and therapeutics und 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.

2.5.5 Der Einfluss einer Anämie auf den NO-Stoffwechsel

Aufgrund der Reduktion von Hämoglobin als wichtigsten Sauerstofftransporter in der Anämie kommt es als Kompensation zu einer vermehrten Herzarbeit, um den Sauerstoffbedarf der Organe und des Gewebes zu decken.

Das Herzzeitvolumen wird durch Erhöhung der Herzfrequenz und des Schlagvolumens gesteigert [130, 131]. Weiter steigern sich auch das enddiastolische Volumen [89]. Durch den Anstieg des Herzzeitvolumens steigt die Blutflussgeschwindigkeit. Diese wird ebenfalls durch einen erhöhten Kohlendioxidgehalt im Blut erhöht, wodurch es insgesamt zu einer erhöhten Wandschubspannung kommt. Dadurch kommt es zu einer verstärkten Aktivierung der eNOS [89].

Ebenfalls kann es bei einer auftretenden Hypoxie durch die Anämie zu verstärkter NO-Produktion, wie oben erläutert, kommen.

Bei einer Hemmung bzw. einem Knock-out der eNOS kommt es zu keiner Hochregulierung des HZV und somit auch nicht zu diesem Kompensationsmechanismus [89]. Dementsprechend wird davon ausgegangen, dass die eNOS einen zentralen Schalter im Kompensationsmechanismus der Anämie darstellt.

Generell ist der NO-Pool bei Anämie verringert. Eine erhöhte Expression der eNOS ist entscheidend, um dieses auszugleichen [89, 132].

In anämischen Mäusen konnte eine vermehrte Hämolyse mit daraus resultierendem Anstieg von zellfreiem Hämoglobin und vermehrter Produktion von reaktiven Sauerstoffspezies festgestellt werden [89]. Dieses zellfreie Hb kann NO binden und zu einer gestörten Vasodilatation führen. Ebenfalls kann es zu einer inadäquaten Aktivierung der löslichen Guanylcyclase kommen und so insgesamt zu einem veränderten NO-Stoffwechsel [133-135].

Reaktive Sauerstoffspezies (ROS) führen zu einer Entkopplung der endothelialen NO-Synthase (eNOS). Dadurch produziert eNOS nicht mehr vorrangig Stickstoffmonoxid (NO), sondern Superoxidanionen (O_2^-), die wiederum mit NO zu Peroxynitrit ($ONOO^-$) reagieren können. Diese Prozesse fördern oxidativen Stress und schädigen das Endothel, was zur endothelialen Dysfunktion führt [136-139]. Der Einsatz von ROS-Inhibitoren kann diese Dysfunktion teilweise rückgängig machen [140]. Aufgrund der verminderten NO-Bioverfügbarkeit kommt es reaktiv häufig zu einer Hochregulation der eNOS-

Expression, um die gestörte NO-Produktion zu kompensieren – was allerdings ineffektiv bleibt, solange die Entkopplung besteht.

3 Fragestellung und Hypothese

Die Hypothese dieser Arbeit bestand darin, dass durch eine Anämie im akuten Myokardinfarkt eine Dysfunktionalität der Erythrozyten aufgrund einer Dysregulation der endothelialen Stickstoffmonoxid-Synthase entsteht.

Die Entkopplung der eNOS führt zu einer verminderten NO-Bioverfügbarkeit („NO-Pool“), da einerseits weniger NO produziert wird und andererseits vorhandenes NO durch die Reaktion mit Superoxid zu Peroxynitrit abgebaut wird. Diese verringerte NO-Verfügbarkeit ist ein entscheidender Mechanismus in der Entstehung der endothelialen Dysfunktion. Ziel war es, den gesamten NO-Pool in STEMI- und KHK-Patienten zu bestimmen und den Einfluss einer Anämie auf den jeweiligen pathologischen Krankheitszustand zu charakterisieren.

Im Einzelnen werden die folgenden spezifischen Fragestellungen untersucht:

1. Zeigen sich Unterschiede im NO-Pool zwischen einem Akutkrankheitsbild des akuten Myokardinfarktes und Patienten mit einer chronischen koronaren Herzerkrankung?
2. Welchen Einfluss hat eine Anämie auf den NO-Pool?
 - a. Führt eine Anämie generell zu einer Veränderung des NO-Pools?
 - b. Führt eine Anämie im akuten Myokardinfarkt zu einer Reduktion des NO-Pools, insbesondere in Erythrozyten?

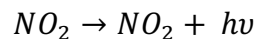
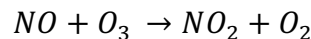
4 Material und Methoden

4.1 Messung des zirkulierenden NO-Pools

4.1.1 Reduktive Gasphasen-Chemilumineszenz

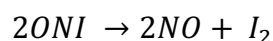
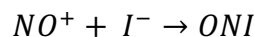
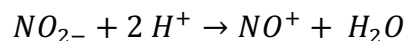
Zur Detektion von Nitrit und Nitrifizierungsprodukten wurde die reduktive Gasphasen-Chemilumineszenz (CLD 88 AM, Dürnten, Schweiz) verwendet.

Das Prinzip der Chemilumineszenz basiert auf der Reaktion von Stickstoffmonoxid (NO) mit Ozon. NO reagiert zu Stickstoffdioxid, welches sich dann in einem angeregten Zustand befindet. Aus diesem angeregten Zustand resultiert überschüssige Energie, welche in Form von Photonen freigesetzt wird und gemessen werden kann. So lässt sich direkt auf die NO-Konzentration schließen [141].



Die Messung von Nitrit in wässrigen Lösungen erfolgt durch eine Reduktion mit einer Trijodid-Lösung. Die Reduktionslösung setzt sich aus 45 mM Kaliumiodid (Merck, Darmstadt, Deutschland), 10 mM Iodid (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), 100 ml Essigsäure (Roth, Karlsruhe, Deutschland) und 7,5 ml gereinigtem Wasser (Ultra Pure Water, Thermo Fischer, Waltham, USA) zusammen.

Durch die saure Umgebung wird aus Nitrit das Nitrosoniumion freigesetzt. Dieses reagiert mit Iodid über Nitrosyl-Iodid (ONI) zu NO. Dieses NO kann dann, wie oben beschrieben, mit Ozon reagieren [142].



Es wurde ein NO-Analysator der Firma Eco Physics (CLD 88 AM, Dürnten, Schweiz) verwendet. Dem NO-Analysator war die Reaktionskammer vorgeschaltet, in welcher sich die Trijodid-Reaktionslösung befand, welche mit Helium durchströmt wurde. Die Reaktionskammer wurde durch ein Warmwasserbad auf 60 °C erhitzt. Das freigesetzte

NO gelangt mittels Helium durch eine weitere Kammer, welche auf 4 °C abgekühlt wird, und anschließend durch eine NaOH-Falle.

Letztendlich gelangt es zum CLD-Analysator. Dort wird die freigewordene Energie in Form von Photonen innerhalb des CLD durch einen Photomultiplier gemessen und durch einen Datenumwandler (Knauer, Berlin, Deutschland) weitergeleitet. Mit Hilfe der Software Euchrom 1.2 (Knauer, Berlin, Deutschland) erfolgt die Datenerhebung und -Auswertung.

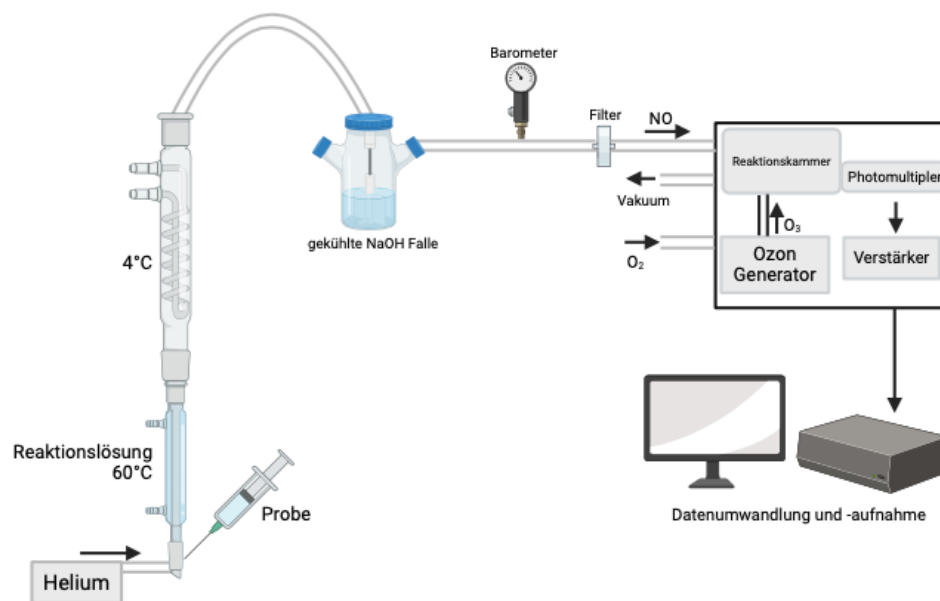


Abbildung 3 Aufbau des CLD

Eine wässrige Probe wird mittels gasdichter Spritze in eine Reduktionslösung (Trijodid, 60°C) injiziert, dort wird Nitrit reduziert und es kommt zur Freisetzung des Nitrosoniums, dieses reagiert mit Iodid über Nitrosyl-Iodid (ONI) zu NO. NO gelangt mittels Helium in die Reaktionskammer. Dort reagiert es mit Ozon zu Stickstoffdioxid in einen angeregten Zustand. Dadurch wird Energie frei, welche in Form von Photonen in einem Photomultiplier gemessen werden kann. Eigene Darstellung.

Die flüssigen Proben wurden mit einer gasdichten Spritze (Hamilton, Reno, Nevada, USA) durch eine Membran in die Reduktionslösung injiziert.

Vor der Probenanalyse wurde ein wässriger Standard mit einer definierten Nitritmenge injiziert. Diese Nitriteichreihe enthielt Konzentrationen von 50 mM bis 800 mM. Anhand dieser wurde eine lineare Regression erstellt, mit welcher die Konzentrationen der Proben errechnet wurden.

4.1.2 ENO

Für die Nitratbestimmung wurde ein HPLC-System (Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) in Verbindung mit der Griess-Reaktion

genutzt (ENO-20, Eicom, San Diego, CA, USA). Mit Hilfe dieses Systems lassen sich sowohl Nitrit als auch Nitrat in wässrigen Lösungen bestimmen. Für diese Arbeit wurde jedoch nur die Nitratbestimmung genutzt.

Bei der Griess-Reaktion werden nitriethaltige Lösungen mit einem Griess-Reagenz behandelt. Bei dieser Behandlung entsteht eine rot-rosa Farbe, welche mittels eines Photometers nachgewiesen werden kann.

Das Griess-Reagenz bestand aus *Reactor A* und *B Powder* (Eicom, San Diego, USA), 37%iger Salzsäure, Methanol und gereinigtem Wasser (ultra pure water, Thermo Fischer, Waltham, USA).

Nitrat- und nitriethaltige Lösungen werden in das System injiziert und mit der Carrier Solution vermischt. Die *carrier-solution* besteht aus *carrier powder* (Eicom, San Diego, USA), Methanol und gereinigtem Wasser (ultra pure Water, Thermo Fischer, Waltham, USA). Innerhalb der *seperation column* treten die Ionen mit dieser in Wechselwirkung, was dazu führt, dass Nitrit und Nitrat die *seperation column* in unterschiedlicher Geschwindigkeit passieren. Zuerst verlässt Nitrit die *seperation column*, daraufhin Nitrat. Nitrit und Nitrat fließen anschließend in die *reduction column*. Diese besteht aus Cadmium und Kupfer. Mit diesen reagiert Nitrat zu Nitrit.

Durch eine 3-Wege-Verbindung wird nun das Nitrit mit der *reaction solution* gemischt. In der Reaktionsschleife findet nun die Griess-Reaktion statt. Durch die Schleife wird der Reaktion Zeit gegeben, die richtige Temperatur zu erreichen und die Bildung einer lichtabsorbierenden Diazoverbindung abzuschließen, welche am Detektor gemessen werden kann. Im Detektor fällt 540 nm Licht durch die Probe. Die Absorption ist proportional zur Diazoverbindung und dementsprechend auch zur Nitrit- und Nitratmenge. Dadurch, dass Nitrit die *seperation column* früher als Nitrat verlässt, entstehen bei der Auswertung zwei Ausschläge. Einer nach 4,5 Minuten und einer nach 8 Minuten. Der erste Ausschlag stellt die Nitrit- und der zweite die Nitratmenge dar.

Die Datenerhebung und Analyse erfolgt über das Programm Clarity (Eicom, San Diego, USA).

10 uL der flüssigen Proben wurden mittels einer gasdichten Spritze (Hamilton, Reno, Nevada, USA) injiziert. Zur Berechnung der Nitratkonzentration wurde zunächst ein Standard mit einer definierten Nitratkonzentration gemessen. Anhand diesem wurden die Konzentrationen der Proben errechnet.

4.2 Patientenkollektiv

Für diese Arbeit wurden Patienten aus der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie des Universitätsklinikums Düsseldorf von Februar bis Juni 2021 rekrutiert. Die Auswahlkriterien für die Studienteilnahme umfassten die Diagnosen: chronische koronare Herzkrankheit und ST-Hebungsinfarkt. Beide Patientengruppen wurden zusätzlich in eine Anämie- und Nicht-Anämie-Subgruppe unterteilt.

Bei der KHK handelt es sich um die Manifestation der Atherosklerose in den Herzkranzarterien [76]. Patienten, bei denen vormals eine KHK diagnostiziert wurde, wurden in die Studie eingeschlossen.

Ein STEMI liegt vor, bei einem Anstieg des Troponins, mit einem Wert über der 99. Perzentile und eine persistierende ST-Hebung in mindestens zwei benachbarten Ableitungen ($> 0,1$ mV), welche über 20 Minuten andauert [20, 76].

Bezüglich der Anämie wurde sich an den aktuellen WHO-Kriterien orientiert. Männer mit einem Hämoglobin-Wert von $< 13,0$ g/dl ($< 8,06$ mmol/l) und Frauen mit einem Hb-Wert von $< 12,0$ g/dl ($< 7,44$ mmol/l) wurden in die Experimente eingeschlossen [76].

Die Genehmigung erfolgte durch die Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität (5481R, 5961R).

Nach umfassender Aufklärung der Patienten und Patientinnen sowie Einwilligung in die Studie erfolgte die Blutentnahme morgens im nüchternen Zustand. Die Blutentnahme der STEMI-Patienten wurde innerhalb der ersten 24 Stunden nach Diagnosestellung durchgeführt.

4.3 Probenherstellung

Den Patienten wurden zwei Röhrchen Vollblut (je 4,5 ml) mittels einer Einwegkanüle abgenommen. Als Antikoagulanzen diente Heparin. Das Blut wurde unmittelbar in einen 7,5ml Greiner überführt, 1:10 mit einer *N*-Ethylmaleinimid (NEM)/ EDTA Lösung versetzt und anschließend bei 800g für 10 Minuten bei 4 °C zentrifugiert. Die NEM/EDTA-Lösung bestand aus 62,5 mg NEM (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), 37,4 mg EDTA (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) und 5 ml PBS (Serag Wiessner, Naila, Deutschland).

NEM dient zur Alkylierung freier Thiolgruppen, stabilisiert RSNOs und verhindert eine weitere S-Nitrosation [143].

Die NEM/EDTA Lösung wurde bei 4 °C gelagert und nach maximal 48h neu hergestellt.

Das Plasma für die Nitrit- und Nitratmessungen wurde in 1,5 ml bzw. 2 ml Gefäße überführt und direkt bei -80 °C eingefroren.

Für die Herstellung der RBC-Proben für die Nitritmessung wurde der buffy-coat entfernt. Anschließend wurden die RBCs in ein Gefäß überführt und 4:1 mit der *preservation solution* gemischt. Die *preservation solution* besteht aus 800 mM Potassium hexacyanoferrat (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), 100 mM NEM (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), 0,5 ml NP-40 (Honeywell Fluka, Morris Plains, USA) und 4,5 ml Wasser. Diese wurden ebenfalls bei 4 °C gelagert und maximal für 48 Stunden benutzt.

Das in der *preservation solution* enthaltende Ferricyanid reagiert mit Hämoglobin zu Methämoglobin. Weiter verhindert es die Umwandlung von Nitrit zu Nitrat oder Eisen-Nitrosylhämoglobin. NP-40 ermöglicht Ferricyanid den Zugang zum Cytosol und zum Inhalt der Erythrozyten, sobald die Membran der Erythrozyten aufgebrochen wurde. [142]

Für die Nitratmessung in den RBCs wurden die RBCs ohne *preservation solution* in ein Gefäß überführt und bei -80 °C eingefroren.

Von der verwendeten NEM/ETDA-Lösung und *preservation-solution* wurden jeweils Proben eingefroren, um die Nitrit- und Nitratkontamination bestimmen zu können.

Alle verwendeten Gefäße wurden vor der Benutzung mit gereinigtem Wasser (ultra pure water, Thermo Fischer, Waltham, USA) ausgewaschen, um eine Nitrit- und Nitratkontamination durch die Luft zu verringern.

Die Nitritbestimmung im Plasma kann nach dem Auftauen der Proben direkt mittels reduktiver Gasphasen-Chemilumineszenz durchgeführt werden. Um die Bestimmung der Nitritkonzentration aus RBCs, die RXNO-Konzentration aus Plasma und RBCs, RNNO-Konzentration aus Plasma und RBCs und die Nitrat-Konzentration aus Plasma und RBCs durchführen zu können, müssen diese Proben noch vorbehandelt werden.

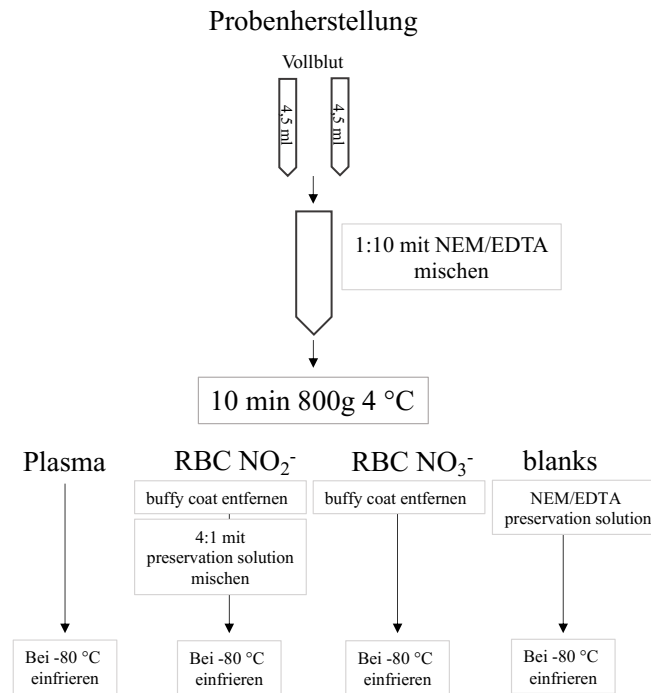


Abbildung 4 Darstellung der Blutprobenherstellung

Vollblut wird jeweils 1:10 mit einer NEM/EDTA Lösung gemischt. Daraufhin 10 Minuten bei 800g und 4°C zentrifugiert. Es erfolgte eine Separation des Plasmas, welches bei -80°C eingefroren wird. Für die RBC-Messungen wird jeweils der buffycoat entfernt. Für die Nitratbestimmung wird die Probe bei -80°C eingefroren. Für die Nitritbestimmung vorher 4:1 mit preservation solution (800 mM Potassium hexacyanoferrat, 0,1 M NEM, NP-40) versetzt. Zur Kontaminationbestimmung werden Kontrollproben (blanks) der jeweils verwendeten Lösungen des Tages ebenfalls bei -80°C eingefroren. Eigene Darstellung.

4.4 Probenaufbereitung

4.4.1 Nitrit- und Nitratbestimmung aus Plasma

Für die Nitritbestimmung wurde das aufgetaute Plasma direkt mittels reduktiver Gasphasen-Chemilumineszenz gemessen.

Für die Nitratbestimmung wurden die eingefrorenen Plasmaproben auf Eis aufgetaut und anschließend 1:1 mit eisgekühltem Methanol versetzt. Nachdem die Probenröhrchen in einem Vortex-Mischer (Vortexer) kräftig geschüttelt bzw. in Rotation versetzt (gevortext) wurden, wurden sie bei 10.000g für 10 Minuten bei 4 °C zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und anschließend mittels ENO gemessen.

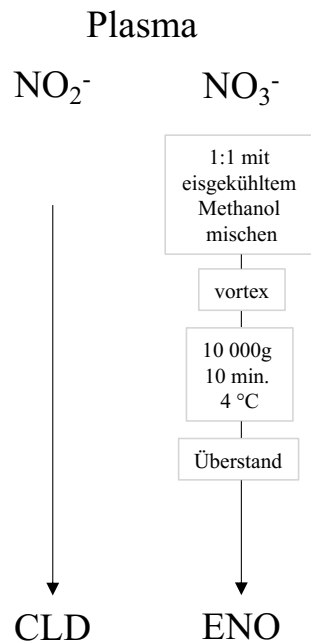


Abbildung 5 Probenaufbereitung von Plasma für Nitrit- (NO_2^-) und Nitratmessung (NO_3^-)

Nitrit im Plasma kann durch direkte Messung mittels CLD bestimmt werden. Zur Nitratbestimmung wird die Probe 1:1 mit eisgekühltem Methanol versetzt, bei 10 000g, 10 Minuten bei 4 °C zentrifugiert, der Überstand entfernt und schließlich mittels ENO vermessen. Eigene Darstellung.

4.4.2 Nitrit und Nitratbestimmung aus RBCs

Für die Nitritbestimmung der RBCs wurden die Proben, welche vorher mit der *preservation solution* versetzt wurden, verwendet. Für die Nitratbestimmung wurden die Proben in der Herstellung lediglich mit der NEM/EDTA Lösung gemischt. Die eingefrorenen Proben wurden auf Eis aufgetaut und anschließend 1:1 mit gekühltem Methanol versetzt. Nach ausführlichem vortexen wurden die Proben bei 14.000g für 10 Minuten bei 4 °C zentrifugiert. Der Überstand wurde abgenommen und die Nitritkonzentration anschließend mittels reduktiver Gasphasen-Chemilumineszenz, die Nitratkonzentration mittels ENO gemessen.

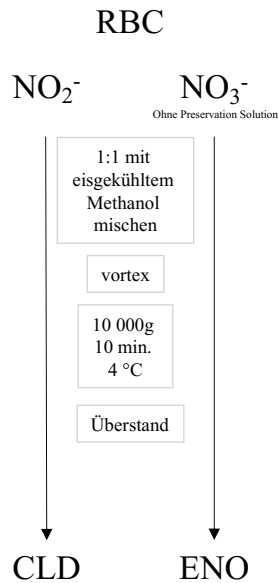


Abbildung 6 Probenaufbereitung von RBCs zur Nitrit- (NO_2^-) und Nitratmessung (NO_3^-).

RBC-Proben werden 1:1 mit eisgekühltem Methanol versetzt, bei 10000g für 10 Minuten bei 4°C zentrifugiert, anschließend der Überstand entfernt und entsprechend für die Nitritbestimmung mittels CLD und Nitratbestimmung mittels ENO vermessen. Für die RBC-Nitratbestimmung wird eine Probe ohne preservation solution verwendet. Eigene Darstellung.

4.4.3 RXNO-Bestimmung aus Plasma

Die eingefrorenen Plasma-Proben wurden auf Eis aufgetaut. Anschließend wurde Plasma im Verhältnis 1:10 mit einer 5%igen Sulfanilamidlösung (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) versetzt und 15 Minuten lichtgeschützt auf Eis inkubiert. Anschließend wurde RSNO im Plasma mittels reduktiver Gasphasen-Chemilumineszenz bestimmt.

Für die RNNO-Bestimmung im Plasma wurde dieses im Verhältnis 1:10 mit einer 2%igen Quecksilberlösung (Honeywell Fluka, Morris Plains, USA) versetzt und anschließend 30 Minuten lichtgeschützt auf Eis inkubiert. Anschließend wurde die 5%ige Sulfanilamid-Lösung (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) 1:10 hinzugegeben und die Probe erneut 15 Minuten lichtgeschützt auf Eis inkubiert. Anschließend wurde RNNO im Plasma mittels reduktiver Gasphasen-Chemilumineszenz bestimmt.

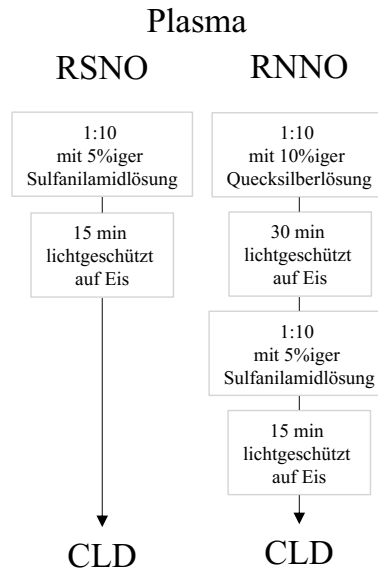


Abbildung 7 Probenaufbereitung von Plasma zur RXNO-Messung.

Zur RSNO-Bestimmung wird die Plasmaprobe 1:10 mit 5%iger Sulfanilamidlösung versetzt und 15 Minuten lichtgeschützt auf Eis inkubiert. Zur RNNO-Bestimmung wird die Plasmaprobe 1:10 mit 10%iger Quecksilberlösung versetzt und 30 Minuten lichtgeschützt auf Eis inkubiert, darauf wird die Probe 1:10 mit 5%iger Sulfanilamidlösung versetzt und 15 Minuten lichtgeschützt auf Eis inkubiert. Im Anschluss erfolgt die Messung mittels CLD. Eigene Darstellung.

4.4.4 RXNO-Bestimmung aus RBCs

Die RBC-Proben wurden auf Eis aufgetaut und anschließend 1:4 mit einer *lysis stock solution* gemischt. Diese *lysis stock solution* bestand aus EDTA 0,5M (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA), NEM 10 mM (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) und gereinigtem Wasser (Millipore-Wasser, ultra pure water, Thermo Fischer, Waltham, USA). Anschließend wurden die Proben 5 Minuten bei 10.000g und 4 °C zentrifugiert.

Für die RSNO-Bestimmung wurde der Überstand 1:10 mit einer 5%igen Sulfanilamid-Lösung (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) für 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert und anschließend mittels reduktiver Gasphasen-Chemilumineszenz vermessen.

Für die RNNO-Bestimmung wurde der Überstand 1:10 mit einer 2%igen Quecksilberchloridlösung (Honeywell Fluka, Morris Plains, USA) versetzt und 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurde die Probe 1:10 mit einer 5%igen Sulfanilamidlösung (Sigma-Aldrich, St. Louis, USA) für 15 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Die Bestimmung der RNNO-Konzentration erfolgte danach ebenfalls mittels reduktiver Gasphasen-Chemilumineszenz.

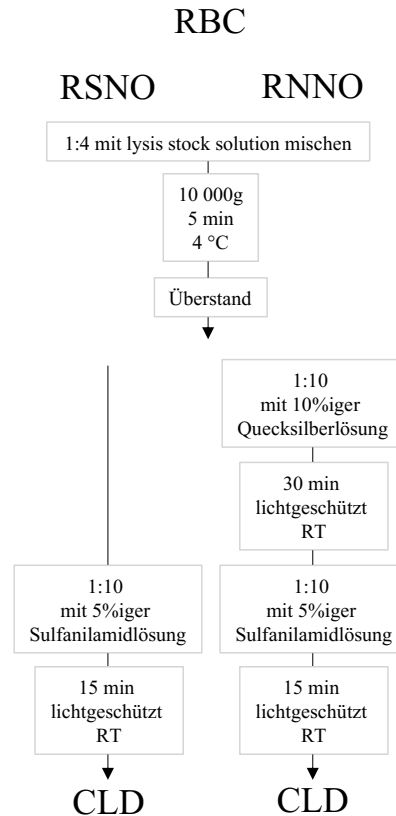


Abbildung 8 Probenaufbereitung von RBCs zur RXNO-Bestimmung

Die RBC-Proben werden 1:4 mit lysis stock solution (EDTA 0,5M, NEM 10 mM) gemischt und 5 Minuten bei 10000g und 4°C zentrifugiert. Der Überstand wird entfernt. Für die RSNO-Bestimmung wird die Probe 1:10 mit 5%iger Sulfanilamidlösung versetzt und 15 Minuten lichtgeschützt bei Raumtemperatur (RT) inkubiert. Für die RNNO-Bestimmung wird die Probe 1:10 mit 10%iger Quecksilberlösung versetzt und 30 Minuten lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubiert, anschließend 1:10 mit 5%iger Sulfanilamidlösung versetzt und 15 Minuten lichtgeschützt bei Raumtemperatur inkubiert. Die Proben werden mittels CLD vermessen. Eigene Darstellung.

4.5 Kontamination Nitrit/ Nitrat

Da Kontaminationen der Proben durch Nitrit und Nitrat schon mehrfach beschrieben wurden [142, 144, 145], wurde versucht, diese Kontaminationen so gering wie möglich zu halten.

Dazu wurden alle Gefäße mit gereinigtem Wasser (Millipore-Wasser, ultra pure water, Thermo Fischer, Waltham, USA) ausgewaschen und möglichst luftabgeschlossen getrocknet. Ebenfalls wurden die Hamilton-Spritzen vor und nach jeder Nutzung mindestens dreimal durchgespült. Um eine Kontamination durch die Atemluft und Haut zu vermeiden, wurden stets ein Atem-Nasen-Schutz und bei jeglicher Interaktion Handschuhe getragen.

Phosphat-gepufferte isotone Pufferlösungen, beispielsweise PBS (phosphate-buffered saline) (Serag Wiessner, Naila, Deutschland), wurden für jede Herstellung von Lösungen neu eröffnet, um eine mögliche Kontamination durch die Benutzung zu verringern.

Jegliche Lösungen, die zur Probenherstellung und -vorbereitung verwendet wurden, wurden als Probe ebenfalls bei -80 °C eingefroren, um die Nitrit- und Nitratkonzentrationen zusammen mit den Proben im CLD und ENO zu bestimmen. Diese Kontaminationen wurden dann bei der Nitrit- und Nitrat-Konzentrationsbestimmung mit einberechnet.

4.6 Statistische Auswertung

Die statistischen Daten wurden, wenn nicht anders bezeichnet als Mittelwerte (MW) und $\pm$ Standardfehler angegeben (SE). Signifikante Unterschiede wurden mittels T-Test und Chi-Quadrat-Test geprüft. Als signifikant galt ein p-Wert von $\leq 0,05$. Ausreißer wurden mittels ROUT-Methode identifiziert mit einem Q-Wert von 1%.

5 Ergebnisse

5.1 Charakterisierung der Patienten

In der Gruppe der Patienten mit stabiler KHK hatten wir 40 Patienten mit Anämie, wovon 23 männlich und 17 weiblich waren, und 38 Patienten ohne Anämie, wovon 22 männlich und 16 weiblich waren. Die Gruppe der Anämiker hatte einen durchschnittlichen Hb-Wert von $10,29 \pm 1,85$ g/dl. Im Gegensatz dazu zeigten sich Hb-Werte von $14,26 \pm 2,22$ g/dl innerhalb der Gruppe ohne Anämie (p-Wert < 0,001). Die Gruppe mit Anämie war signifikant älter (p-Wert < 0,05), durchschnittlich $77,97 \pm 9,67$ Jahre. Die Patienten ohne Anämie waren durchschnittlich $73,32 \pm 9,12$ Jahre alt. Beide Gruppen zeigten eine ähnliche Verteilung hinsichtlich der Vorerkrankungen wie arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie und Diabetes mellitus. Allerdings war in der Gruppe ohne Anämie der Anteil an Rauchern doppelt so hoch wie in der Gruppe mit Anämie (p-Wert = 0,034). Im Gegensatz dazu litten in der Gruppe mit Anämie doppelt so viele Patienten an einer chronischen Nierenerkrankung (Chronic kidney disease = CKD) Grad 3 = <59 ml/min/1,73 m²) (p-Wert = 0,005). Auch die Häufigkeit der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (p-Wert = 0,283) und das Auftreten eines früheren Schlaganfalls waren in dieser Gruppe deutlich erhöht (p-Wert = 0,045).

Patienten mit Anämie litten signifikant häufiger an einer chronischen Niereninsuffizienz, was sich in deutlich schlechteren Nierenwerten zeigte. Der durchschnittliche Kreatininwert lag bei $1,84 \pm 1,34$ im Vergleich zu $1,08 \pm 0,52$ in der Gruppe ohne Anämie (p-Wert = 0,001). Auch die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) war in der anämischen Gruppe signifikant reduziert, mit $46,42 \pm 24,78$ ml/min/1,73 m² gegenüber $68,39 \pm 22,82$ ml/min/1,73 m² in der Gruppe ohne Anämie (p-Wert < 0,001). Der Eisenwert und der lösliche Transferrinrezeptor waren signifikant vermindert in der Gruppe der Anämiker. Zusätzlich zeigten sich einige Laborwerte wie Haptoglobin, nt-proBNP und INR ebenfalls signifikant erhöht innerhalb der Gruppe mit Anämie. Bilirubin und der Retikulozyten-Hb waren innerhalb der Gruppe ohne Anämie signifikant erhöht.

Sowohl in der Gruppe mit Anämie als auch in der Gruppe ohne Anämie hatten die meisten Patienten bereits eine perkutane Koronarintervention hinter sich – 37/40 (92,5 %) Patienten in der anämischen Gruppe und 32/38 (84,2 %) Patienten in der Gruppe ohne Anämie. In beiden Gruppen war am häufigsten eine koronare Drei-Gefäß-Erkrankung diagnostiziert worden, mit 72,5 % der Patienten in der anämischen und 63,2 % der

Patienten in der nicht-anämischen Gruppe. Eine Ein-Gefäß-Erkrankung trat bei 10 % der anämischen und 21 % der nicht anämischen Patienten auf, während eine Zwei-Gefäß-Erkrankung bei 17,5 % bzw. 15,8 % der Patienten festgestellt wurden. Die Verteilung der eingenommenen Medikamente war in beiden Gruppen ähnlich. Lediglich in der Gruppe mit Anämie nahmen signifikant mehr Menschen lipidsenkende Medikamente (p-Wert 0,04) ein.

		KHK - Anämie	KHK + Anämie	
Patienten Charakteristika		(n=38)	(n=40)	p-Wert
Alter		73,32 ± 9,12	77,97 ± 9,67	0,033
Geschlecht (m, n, %)		22 (58%)	23 (58%)	n.s.
BMI (n, %)	[kg/m ²]	28,24 ± 7,85	27,85 ± 5,26	n.s.
aHT (n, %)		33 (86%)	28 (70%)	n.s.
HLP (n, %)		16 (42%)	16 (40%)	n.s.
Raucher (n, %)		16 (42%)	8 (20%)	0,034
CKD (n, %)		6 (16%)	18 (45%)	0,005
Diabetes (n, %)		12 (32%)	16 (40%)	n.s.
pAVK (n, %)		5 (13%)	9 (22%)	n.s.
Z.n. Stroke (n, %)		0	4 (10%)	0,045
Labor Parameter				
Kreatinin	[umol/l]	1,08 ± 0,52	1,84 ± 1,34	0,001
eGFR	[ml/min/1,73 m ²]	68,39 ± 22,82	46,42 ± 24,78	<0,001
Hämoglobin	[g/dl]	14,26 ± 2,22	10,29 ± 1,85	< 0,001
Hämatokrit	[%]	42,03 ± 4,32	32,34 ± 5,24	< 0,001
MCV	[fl]	92,7 ± 5,65	92,19 ± 9,01	n.s.
MCH	[pg]	30,88 ± 2,01	29,34 ± 3,89	0,032
MCHC	[g/dl]	33,57 ± 1,96	31,75 ± 1,86	< 0,001
Retikulozyten Index	[%]	1,56 ± 0,79	1,41 ± 0,57	n.s.
Eisen	[ug/dl]	84,82 ± 39,1	56,64 ± 30,09	0,002
Transferrin	[mg/dl]	228,88 ± 43,54	225,94 ± 61,2	n.s.
Transferrinsättigung	[%]	27,44 ± 14,38	20,36 ± 17,22	n.s.
Ferritin	[ug/l]	186,88 ± 150,82	240,38 ± 247,46	n.s.
Folsäure	[ng/ml]	7,89 ± 3,9	8,91 ± 4,74	n.s.
Vitamin B12	[ng/l]	485,18 ± 255,37	512,29 ± 274,38	n.s.
sTFR	[mg/l]	1,16 ± 0,37	1,91 ± 1,47	0,006
Haptoglobin	[mg/dl]	137,69 ± 59,56	176,93 ± 68,65	0,019
LDH	[U/l]	263,39 ± 103,19	262,65 ± 77,64	n.s.
Bilirubin	[mg/dl]	0,76 ± 0,49	0,53 ± 0,28	0,021
Retikulozyten absolut	[G/l]	74,48 ± 15,19	73,27 ± 29,57	n.s.
Retikulozyten-Hb	[pg]	35,78 ± 1,87	32,29 ± 6,04	0,004
Triglyceride	[mg/dl]	121,21 ± 50,22	114,88 ± 74,41	n.s.
Gesamt-Cholesterin	[mg/dl]	158,33 ± 43,41	139,03 ± 49,99	n.s.
LDL	[mg/dl]	92,82 ± 40,57	76,97 ± 42,26	n.s.
HDL	[mg/dl]	50,12 ± 12,36	45,72 ± 14,67	n.s.
Lipoprotein (a)	[g/L]	62 ± 62,6	77,82 ± 76,56	n.s.
HbA1c%	[%]	6,14 ± 1,09	6,14 ± 1,13	n.s.
CK	[U/l]	97,16 ± 67,11	94,03 ± 62,05	n.s.
Troponin	[ng/ml]	235,72 ± 633,64	90,86 ± 144,34	n.s.
NT-proBNP	[pg/ml]	1277,51 ± 1726, 35	4162,63 ± 4561,41	0,001
INR		1,28 ± 0,4	1,53 ± 0,58	0,029
Interventionen				
Z.n. PCI (n, %)		32 (84%)	37 (92%)	n.s.
1-Gefäß KHK (n, %)		8 (21%)	4 (10%)	n.s.
2-Gefäß KHK (n, %)		6 (16%)	7 (17%)	n.s.
3-Gefäß KHK (n, %)		24 (63%)	29 (72%)	n.s.
Medikation				
ACE-Inhibitor/ ARB (n, %)		34 (89%)	34 (85%)	n.s.
ASS (n, %)		26 (68%)	21 (52%)	n.s.
ß-Blocker (n, %)		27 (71%)	34 (85%)	n.s.
Lipidsenkung (n, %)		32 (84%)	39 (97%)	0,040
P2Y12-Inhibitor (n, %)		24 (63%)	29 (72%)	n.s.
(D)OAK (n, %)		10 (26%)	13 (32%)	n.s.

Tabelle 1 Klinische und medizinische Charakteristika der KHK-Patienten

*In der linken Spalte sind die KHK-Patienten ohne Anämie zu sehen, rechts die KHK-Patienten mit Anämie. Die Werte sind als Mittelwert $\pm$ Standardabweichung angegeben oder als absolute Werte in Prozent. * p-Werte $<0,05$ gelten als statistisch signifikant, n.s.: nicht signifikant.*

In der Gruppe der Patienten mit STEMI hatten wir 20 Patienten mit Anämie und 43 Patienten ohne Anämie. Hier waren in der Anämie-Gruppe 65% (13/20) männliche Patienten vorzufinden. In der Gruppe ohne Anämie waren 86 % (37/43) der Patienten männlichen Geschlechts. Die Gruppe der Anämiker hatte einen durchschnittlichen Hb-Wert von $11,58 \pm 1,16$ g/dl. Im Gegensatz dazu zeigten sich Hb-Werte von $14,86 \pm 1,36$ g/dl innerhalb der Gruppe ohne Anämie (p-Wert $<0,001$). Innerhalb des Alters und des BMIs unterschieden sich die Gruppen nicht signifikant. Hinsichtlich der kardiovaskulären Vorerkrankungen ergab sich kein Unterschied in der Verteilung in beiden Gruppen.

Die Verteilung des betroffenen Myokardinfarktareals war in der Gruppe mit Anämie 45% Vorderwandinfarkte, 45% Hinterwandinfarkte und 10% Seitenwandinfarkte. In der Gruppe ohne Anämie waren es 37,2% Vorderwandinfarkte, 39,5% Hinterwandinfarkte und 23,3% Seitenwandinfarkte.

Bezüglich der Laborwerte unterschieden sich die Gruppen signifikant im Retikulozyten-Index, Eisen, der Transferrinsättigung, den absoluten Retikulozyten, dem Retikulozyten-Hb und dem INR. Hierbei wichen die Werte der Patienten mit Anämie vom Normwert deutlicher ab als bei den Patienten ohne Anämie.

Eine Ein-Gefäßerkrankung hatten in der Gruppe mit Anämie 25% der Patienten. Eine Zwei-Gefäßerkrankungen wiesen 30% der Patienten mit Anämie auf. Den größten prozentualen Anteil bildete die Drei-Gefäß-Erkrankung, welche bei 45% der Patienten mit Anämie diagnostiziert wurde.

In der Gruppe ohne Anämie hatten 21% der Patienten eine Ein-Gefäßerkrankung, 18,6% der Patienten eine Zwei-Gefäßerkrankung und 58% der Patienten eine Drei-Gefäßerkrankung.

An Medikamenten nahmen beide Gruppen in ähnlicher Verteilung ACE-Hemmer/ AT1-Antagonisten, ASS, B-Blocker, Lipid-Senker, P2Y12-Inhibitoren und orale Antikoagulantien.

	STEMI - Anämie	STEMI + Anämie	
Patienten Charakteristika	(n=43)	(n=20)	p-Wert
Alter	61,91 $\pm$ 11,14	67,47 $\pm$ 14,95	n.s.
Geschlecht (m, n, %)	37 (86%)	13 (65%)	n.s.
BMI [kg/m ²]	27,42 $\pm$ 4,82	26,15 $\pm$ 3,06	n.s.
aHT (n, %)	23 (53%)	11 (55%)	n.s.
HLP (n, %)	10 (23%)	4 (20%)	n.s.
Raucher (n, %)	26 (60%)	9 (45%)	n.s.
CKD (n, %)	6 (14%)	3 (15%)	n.s.
DM (n, %)	13 (30%)	4 (20%)	n.s.
pAVK (n, %)	2 (5%)	0	n.s.
Z.n. Stroke (n, %)	2 (5%)	0	n.s.
Reanimation (n, %)	6 (14%)	2 (10%)	n.s.
Schock (n, %)	4 (9%)	2 (10%)	n.s.

Impella (n, %)		2 (5%)	2 (10%)	n.s.
Infarkt VW (n, %)		16 (37%)	9 (45%)	n.s.
Infarkt HW (n, %)		17 (39%)	9 (45%)	n.s.
Infarkt LW (n, %)		10 (23%)	2 (10%)	n.s.
Labor Parameter				
Kreatinin	[umol/l]	1,16 ± 0,2	0,87 ± 0,2	n.s.
eGFR	[ml/min/1,73 m ²]	81,47 ± 21,98	82,65 ± 18,64	n.s.
Hämoglobin	[g/dl]	14,86 ± 1,36	11,58 ± 1,16	< 0,001
Hämatokrit	[%]	44,5 ± 4,08	35,07 ± 3,5	< 0,001
MCV	[fl]	92,41 ± 3,99	91,96 ± 5,51	n.s.
MCH	[pg]	30,89 ± 1,76	30,36 ± 2,07	n.s.
MCHC	[g/dl]	33,41 ± 1,08	33,01 ± 0,96	n.s.
Retikulozyten Index	[%]	1,88 ± 1,31	1,19 ± 0,37	0,026
Eisen	[ug/dl]	79,74 ± 39,3	51,6 ± 31,07	0,007
Transferrin	[mg/dl]	213,9 ± 40,67	193,7 ± 45,08	0,082
Transferrinsättigung	[%]	28,4 ± 17,13	19,55 ± 12,24	0,043
Ferritin	[ug/l]	803,62 ± 2487,71	337,23 ± 339,4	n.s.
Folsäure	[ng/ml]	7,1 ± 3,71	7,27 ± 3,84	n.s.
Vitamin B12	[ng/l]	483,97 ± 291,73	482,72 ± 177,22	n.s.
sTFR	[mg/l]	1,17 ± 0,48	1,05 ± 0,35	n.s.
Haptoglobin	[mg/dl]	137,27 ± 64,17	172,89 ± 108,09	n.s.
LDH	[U/l]	427,91 ± 303,69	391,05 ± 222,18	n.s.
Bilirubin	[mg/dl]	0,69 ± 0,55	0,74 ± 0,82	n.s.
Retikulozyten absolut	[G/l]	84,47 ± 23,56	65,35 ± 17,14	0,002
Retikulozyten-Hb	[pg]	35,63 ± 1,87	34,36 ± 3,01	0,045
Triglyceride	[mg/dl]	114,98 ± 84,33	96,55 ± 74,5	n.s.
Gesamt-Cholesterin	[mg/dl]	185,67 ± 47	173,05 ± 45,82	n.s.
LDL	[mg/dl]	115,84 ± 42,63	110,84 ± 40,97	n.s.
HDL	[mg/dl]	42,37 ± 9,93	42 ± 11,63	n.s.
Lipoprotein (a)	[g/L]	64,56 ± 55,52	45,19 ± 52,6	n.s.
HbA1c%	[%]	6,08 ± 1,32	6,31 ± 1,89	n.s.
CK	[U/l]	963,14 ± 1147,09	655,75 ± 647,47	n.s.
Troponin	[ng/ml]	1960,26 ± 3070,02	1642,15 ± 1758,05	n.s.
NT-proBNP	[pg/ml]	1334,36 ± 2057,35	1771,2 ± 2244,42	n.s.
INR		1,35 ± 0,26	1,58 ± 0,55	0,02
Interventionen				
Z.n. PCI (n, %)		2 (5%)	1 (5%)	n.s.
1-Gefäß KHK (n, %)		9 (21%)	5 (25%)	n.s.
2-Gefäß KHK (n, %)		8 (19%)	6 (30%)	n.s.
3-Gefäß KHK (n, %)		25 (58%)	9 (45%)	n.s.
Kardiovaskulärer Tod (n, %)		2 (5%)	1 (5%)	n.s.
Medikation				
ACE-Inhibitor/ ARB (n, %)		39 (91%)	18 (90%)	n.s.
ASS (n, %)		41 (95%)	19 (95%)	n.s.
β-Blocker (n, %)		37 (86%)	15 (75%)	n.s.
Lipid Senkung (n, %)		40 (93%)	17 (85%)	n.s.
P2Y12-Inhibitor (n, %)		41 (95%)	19 (95%)	n.s.
(D)OAK (n, %)		6 (14%)	3 (15%)	n.s.

Tabelle 2 Klinische und medizinische Charakteristika der STEMI-Patienten

In der linken Spalte sind die STEMI-Patienten ohne Anämie zu sehen, rechts die STEMI-Patienten mit Anämie. Die Werte sind als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben oder als absolute Werte in Prozent. * p-Werte <0,05 gelten als statistisch signifikant, n.s.: nicht signifikant.

5.2 NOx Bestimmung aus dem Plasma

5.2.1 Nitrat (NO₃⁻)

Patienten mit STEMI (n= 55) zeigten einen deutlich niedrigeren Nitratspiegel als Patienten mit KHK (n= 76) (p-Wert < 0,0001). Der Wert bei Patienten mit stabiler KHK lag bei 40,7 ± 25,2 µmol/L und bei Patienten mit STEMI bei 19,35 ± 8,8 µmol/L.

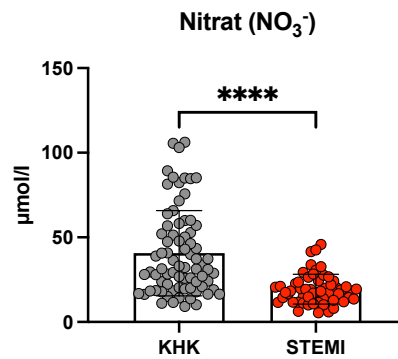


Abbildung 9 Nitratbestimmung (NO_3^-) im Plasma

STEMI-Patienten (rot, $n = 55$) haben eine signifikant geringere Nitratkonzentration ($\mu\text{mol/l}$) im Plasma als KHK-Patienten (grau, $n = 76$). **** = $P\text{-Wert} < 0,0001$.

Der Vergleich innerhalb der beiden Gruppen mit und ohne Anämie zeigte, dass Patienten mit stabiler KHK und Anämie einen signifikant höheren Plasma NO_3^- Spiegel haben als Patienten ohne Anämie ($p = < 0,0001$). Hier zeigten sich Nitratwerte von $25,2 \pm 9,9 \mu\text{mol/l}$ innerhalb der Kontrollgruppe und innerhalb der Gruppe mit Anämie von $58,2 \pm 29,2 \mu\text{mol/l}$.

Innerhalb der Gruppe der Patienten mit STEMI zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Plasma NO_3^- bei Patienten mit und ohne Anämie.

Die Nitratwerte in der Gruppe ohne Anämie lagen bei $18,3 \pm 7,1 \mu\text{mol/l}$ und innerhalb der Gruppe mit Anämie bei $21,4 \pm 11,3 \mu\text{mol/l}$.

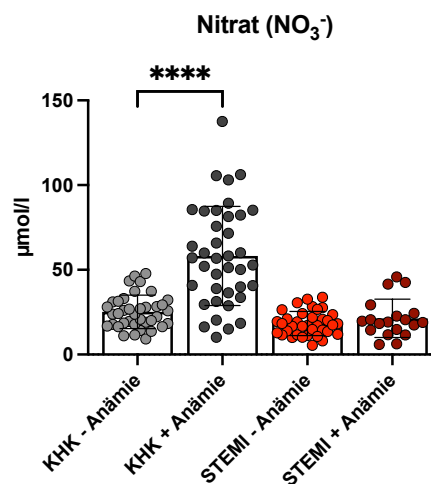


Abbildung 10 Nitratbestimmung (NO_3^-) im Plasma mit Unterteilung in Anämie-Subgruppen

Eine Anämie bei KHK-Patienten (schwarz, $n = 39$) führt zu einer signifikanten Erhöhung der Nitratwerte ($\mu\text{mol/l}$) im Plasma, im Gegensatz zu KHK-Patienten ohne Anämie (grau, $n = 38$) (**** = $P\text{-Wert} < 0,0001$). Eine Anämie in STEMI-Patienten (dunkelrot, $n = 19$) führt zu keinen signifikanten Änderungen der Nitratkonzentration im Plasma, im Vergleich zu STEMI-Patienten ohne Anämie (rot, $n = 36$).

5.2.2 Nitrit (NO_2^-)

Die Plasma Nitrit Spiegel zeigen keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen der Patienten mit stabiler KHK und Patienten mit STEMI. Der Plasmanitritwert lag bei

den Patienten mit stabiler KHK bei $43,3 \pm 31,5$ nmol/l und bei den Patienten mit STEMI bei $49,9 \pm 42$ nmol/l.

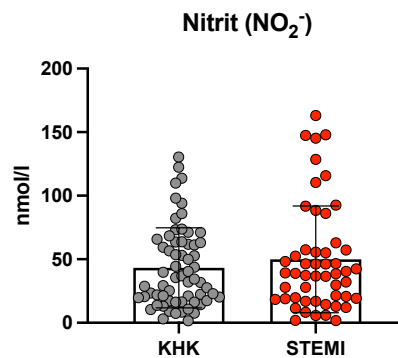


Abbildung 11 Nitritbestimmung (NO_2^-) im Plasma

KHK (grau, $n = 63$) - und STEMI-Patienten (rot, $n = 51$) zeigten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Nitritkonzentration (nmol/l) im Plasma.

Im Hinblick auf die Anämie zeigte sich, dass die Nitritwerte von Patienten mit KHK erhöht waren (p -Wert $< 0,05$) im Vergleich zu den Nitritwerten von Patienten mit KHK ohne Anämie. Die Nitritwerte von STEMI Patienten wurden durch die Anämie nicht beeinflusst.

Die KHK-Patienten ohne Anämie zeigten Nitritwerte von $37,9 \pm 26,6$ nmol/l und die Patienten mit Anämie zeigten Nitritwerte von $85,4 \pm 86,9$ nmol/l. Die STEMI Patienten hatten ohne Anämie Nitritwerte von $58 \pm 53,4$ und mit Anämie Nitritwerte von $50,8 \pm 45,6$ nmol/l.

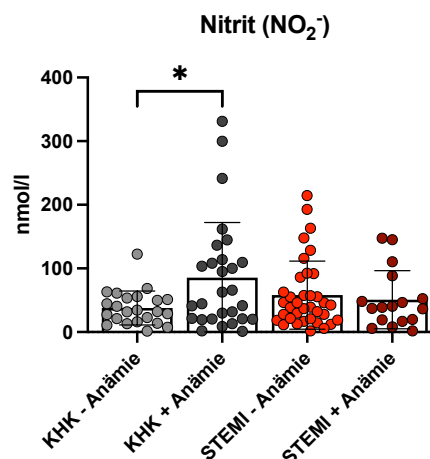


Abbildung 12 Nitritbestimmung (NO_2^-) im Plasma mit Unterteilung in Anämie-Subgruppen

Eine Anämie in KHK-Patienten (schwarz, $n = 23$) führt zu einer Erhöhung der Nitritkonzentration (nmol/l) im Plasma, im Vergleich zu KHK-Patienten ohne Anämie (grau, $n = 28$). Bei STEMI-Patienten mit (dunkelrot, $n = 17$) und ohne Anämie (rot, $n = 36$) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Nitritkonzentration im Plasma. * = P -Wert $< 0,05$.

5.2.3 RSNO und RNNO

Die RSNO-Werte im Plasma waren bei Patienten mit STEMI signifikant erhöht, im Vergleich zu den Patienten mit KHK (p -Wert $< 0,001$). Die Patienten mit stabiler KHK

zeigten einen Durchschnittswert von $17,6 \pm 11,7$ nmol/l, die Patienten mit akutem Myokardinfarkt einen von $40,8 \pm 34,7$ nmol/l.

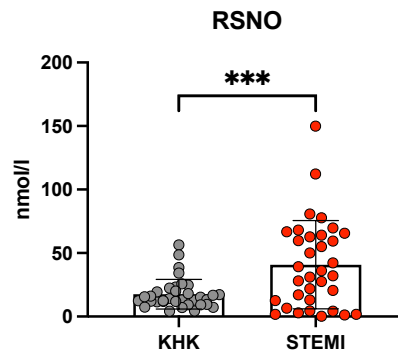


Abbildung 13 RSNO-Bestimmung im Plasma

STEMI-Patienten (rot, $n = 34$) zeigen signifikant höhere RSNO-Konzentrationen (nmol/l) im Plasma, im Vergleich zu KHK-Patienten (grau, $n = 34$). *** = P -Wert $< 0,001$.

Beim Vergleich der Patienten mit und ohne Anämie konnten wir feststellen, dass die Anämie bei STEMI-Patienten zu einer Erhöhung der RSNO-Werte führt (p -Wert $< 0,05$). Hier betrugen die RSNO-Werte der KHK-Patienten ohne Anämie $15,6 \pm 7,3$ nmol/l, KHK-Patienten mit Anämie $36,1 \pm 43,1$ nmol/l, der STEMI-Patienten ohne Anämie $34,6 \pm 31$ nmol/l und der STEMI-Patienten mit Anämie $80,3 \pm 75,7$ nmol/l.

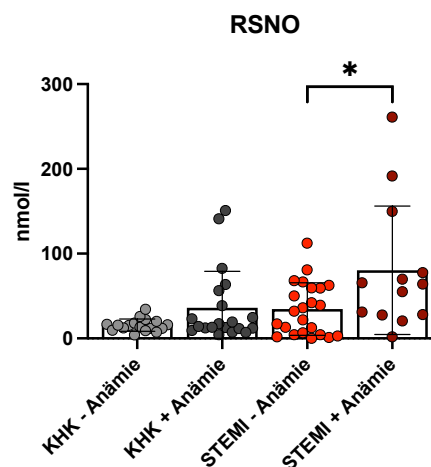


Abbildung 14 RSNO-Bestimmung im Plasma mit Unterteilung in Anämie-Subgruppen

RSNO-Konzentrationen (nmol/l) im Plasma zwischen KHK-Patienten mit (schwarz, $n = 20$) und ohne Anämie (grau, $n = 17$) zeigen keine signifikanten Unterschiede. STEMI-Patienten mit Anämie (dunkelrot, $n = 13$) zeigen signifikant höhere RSNO-Konzentrationen, im Vergleich zu STEMI-Patienten ohne Anämie (rot, $n = 23$). * = P -Wert $< 0,05$.

Bei den Plasma-RNNO-Werten zeigte sich ein signifikanter Unterschied zwischen der Gruppe der stabilen KHK und den STEMI-Patienten (p -Wert $< 0,0001$). Die Patienten mit stabiler KHK zeigten einen Durchschnittswert von $14,7 \pm 6$ nmol/l, die Patienten mit einem STEMI einen Wert von $60 \pm 51,3$ nmol/l.

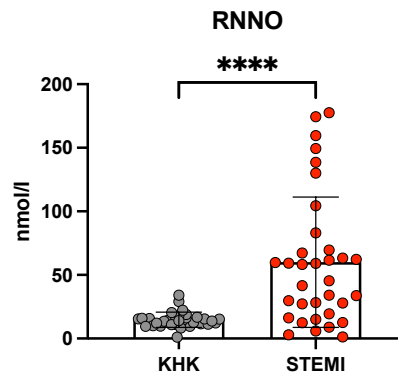


Abbildung 15 RNNO-Bestimmung im Plasma

Die RNNO-Konzentration (nmol/l) im Plasma bei STEMI-Patienten (rot, $n = 34$) ist signifikant höher als im Vergleich zu KHK-Patienten (grau, $n = 32$). **** = P -Wert $< 0,0001$.

Die beiden Gruppen zeigten mit und ohne Anämie keine signifikanten Unterschiede.

Die RNNO-Werte der KHK-Patienten ohne Anämie betrugen hier $14,7 \pm 7$ nmol/l, der KHK-Patienten mit Anämie $17,2 \pm 10,6$ nmol/l, der STEMI-Patienten ohne Anämie $57 \pm 52,4$ nmol/l und der STEMI-Patienten mit Anämie $64,8 \pm 51,2$ nmol/l.

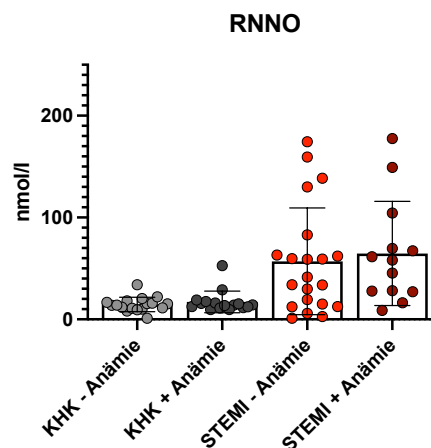


Abbildung 16 RNNO-Bestimmung im Plasma mit Unterteilung in Anämie-Subgruppen

Bei KHK-Patienten mit (schwarz, $n = 16$) und ohne Anämie (grau, $n = 17$) und STEMI-Patienten mit (dunkelrot, $n = 13$) und ohne Anämie (rot, $n = 21$) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede innerhalb der RNNO-Konzentration (nmol/l) im Plasma.

5.3 NO_x Bestimmung aus RBCs

5.3.1 Nitrat (NO₃⁻)

Die RBC-Nitratwerte sind signifikant erniedrigt in Patienten mit STEMI im Vergleich zu Patienten mit stabiler KHK ($p < 0,001$). Die RBC-Nitratwerte der Patienten mit stabiler KHK lagen bei $27,6 \pm 16,7$ μ mol/l. Die Werte der STEMI-Patienten lagen bei $15,5 \pm 5,8$ μ mol/l.

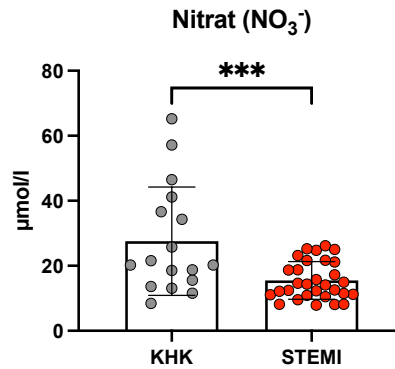


Abbildung 17 Nitratbestimmung (NO_3^-) in RBCs

STEMI-Patienten (rot, $n = 30$) haben signifikant niedrigere Nitratkonzentrationen ($\mu\text{mol/l}$) in RBCs im Vergleich zu KHK-Patienten (grau, $n = 17$). *** = $P\text{-Wert} < 0,001$.

Innerhalb der Gruppe der Patienten mit stabiler KHK zeigte sich kein signifikanter Unterschied der RBC-Nitratwerte zwischen Patienten mit Anämie und ohne Anämie. Die RBC-Nitratwerte ohne Anämie lagen hier bei $21,8 \pm 14,3 \mu\text{mol/l}$, die RBC-Nitratwerte mit Anämie bei $32,6 \pm 17,8 \mu\text{mol/l}$.

Bei den STEMI-Patienten zeigte sich, dass eine Anämie zu signifikant niedrigeren Nitratwerten in den RBCs führte ($p = <0,05$).

STEMI-Patienten ohne Anämie hatten hier Nitratwerte von $21,7 \pm 12,5 \mu\text{mol/l}$. Die STEMI-Patienten mit Anämie zeigten Werte von $14,2 \pm 5,5 \mu\text{mol/l}$.

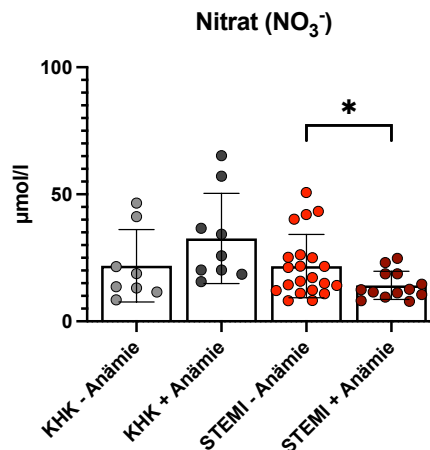


Abbildung 18 Nitratbestimmung (NO_3^-) in RBCs mit Unterteilung in Anämie-Subgruppen

STEMI-Patienten mit Anämie (dunkelrot, $n = 13$) zeigen signifikant niedrigere Nitratkonzentrationen ($\mu\text{mol/l}$) in RBCs im Vergleich zu STEMI-Patienten ohne Anämie (rot, $n = 21$). Zwischen KHK-Patienten mit (schwarz, $n = 9$) und ohne Anämie (grau, $n = 8$) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede. * = $P\text{-Wert} < 0,05$.

5.3.2 Nitrit (NO_2^-)

Zwischen den KHK- und STEMI-Patienten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Nitritwerte in RBCs. Patienten mit stabiler KHK zeigten Werte von $49,3 \pm 35,7 \text{ nmol/l}$. Bei STEMI-Patienten zeigte sich ein RBC-Nitritwert im Mittel von $46,7 \pm 33,2 \text{ nmol/l}$.

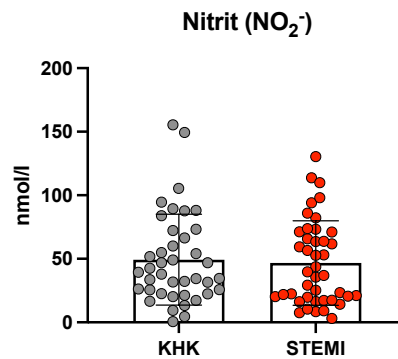


Abbildung 19 Nitritbestimmung (NO_2^-) in RBCs

Zwischen KHK- (grau, $n = 40$) und STEMI-Patienten (rot, $n = 42$) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in der Nitritkonzentration (nmol/l) in RBCs.

Bezüglich der Anämie zeigten sich keine Unterschiede innerhalb der KHK-Gruppe. In der Gruppe der STEMI-Patienten konnten wir jedoch feststellen, dass die Anämie hier zu einer Reduktion der Nitritwerte führt ($p\text{-Wert} < 0,05$). Hier zeigten sich in der Gruppe der stabilen KHK bei den Patienten ohne Anämie Werte von $57,4 \pm 40,9$ nmol/l und bei den Patienten mit stabiler KHK mit Anämie Werte von $42,5 \pm 41,9$ nmol/l.

Die STEMI-Patienten ohne Anämie hatten einen durchschnittlichen Nitritwert von $54,2 \pm 35$ nmol/l. Die STEMI-Patienten mit Anämie zeigten im Durchschnitt Nitritwerte von $33,1 \pm 25,3$ nmol/l.

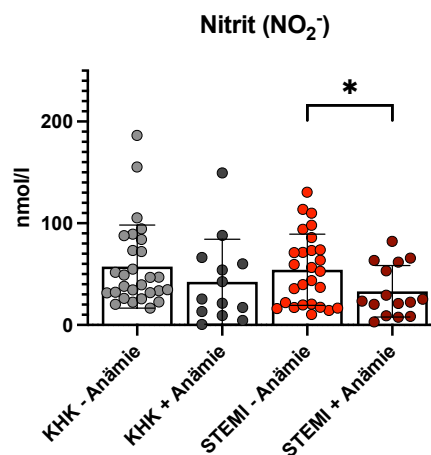


Abbildung 20 Nitritbestimmung (NO_2^-) in RBCs mit Unterteilung in Anämie-Subgruppen

STEMI-Patienten mit Anämie (dunkelrot, $n = 15$) zeigen signifikant niedrigere Nitritkonzentrationen (nmol/l) in RBCs im Vergleich zu STEMI-Patienten ohne Anämie (rot, $n = 27$). Zwischen KHK-Patienten mit (schwarz, $n = 13$) und ohne Anämie (grau, $n = 28$) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in Nitritkonzentration in RBCs. * = $P\text{-Wert} < 0,05$.

5.3.3 RSNO und RNNO

Zwischen Patienten mit stabiler KHK und akutem Myokardinfarkt zeigten sich keine signifikanten Unterschiede bei den RBC RXNO-Werten. Die KHK-Patienten hatten hier RXNO-Werte von $47,4 \pm 78$ nmol/l, die STEMI-Patienten $9,8 \pm 8$ nmol/l.

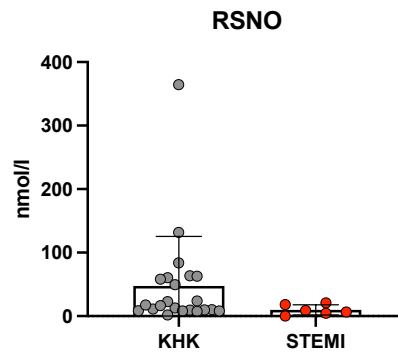


Abbildung 21 RSNO-Bestimmung in RBCs

Zwischen KHK-Patienten (grau, n = 22) und STEMI-Patienten (rot, n = 6) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in RBCs.

Innerhalb der Gruppe der stabilen KHK zeigten sich bei den RBC RXNO-Werten keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit Anämie und ohne Anämie. Die Werte betrugen hier bei KHK-Patienten ohne Anämie $21,3 \pm 24$ nmol/l und bei KHK-Patienten mit Anämie $85,2 \pm 111$ nmol/l.

Innerhalb der Gruppe der Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigte sich eine signifikante Reduktion der RBC RXNO-Werte bei den Patienten ohne Anämie im Vergleich zu den Patienten mit Anämie ($p < 0,01$). Die Werte betrugen hier $4,9 \pm 3,6$ nmol/l ohne Anämie und $19,4 \pm 1,8$ nmol/l mit Anämie.

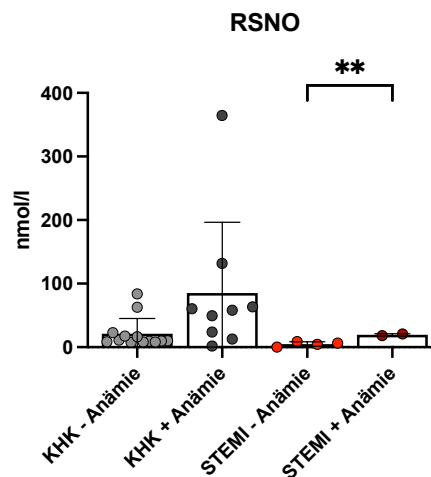


Abbildung 22 RSNO-Bestimmung in RBCs mit Unterteilung in Anämie-Subgruppen

Eine Anämie in STEMI-Patienten (dunkelrot, n = 2) erhöht signifikant die RSNO-Konzentration (nmol/l) in RBCs im Vergleich zu STEMI-Patienten ohne Anämie (rot, n = 4). Zwischen KHK-Patienten mit (schwarz, n = 9) und ohne Anämie (grau, n = 13) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede ** = P-Wert $< 0,01$.

Die STEMI-Patienten zeigten signifikant höhere RNNO-Werte als die KHK-Patienten (p -Wert $< 0,01$). Die KHK-Patienten hatten hier einen Durchschnittswert von $38,4 \pm 37,9$ nmol/l, die STEMI-Patienten $133 \pm 97,4$ nmol/l.

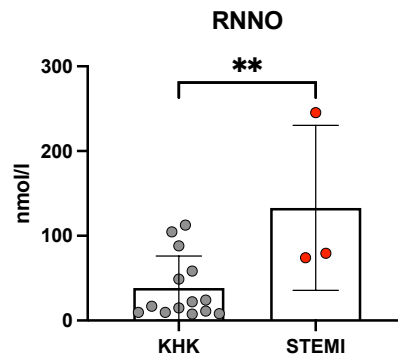


Abbildung 23 RNNO-Bestimmung in RBCs

STEMI-Patienten (rot, $n = 3$) zeigen signifikant höhere RNNO-Konzentrationen (nmol/l) in RBCs im Vergleich zu KHK-Patienten (grau, $n = 14$). ** = P -Wert $< 0,01$.

Innerhalb der Gruppen der stabilen KHK- und der STEMI-Patienten zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen Patienten mit Anämie und ohne Anämie. KHK-Patienten ohne Anämie zeigten durchschnittliche Werte von $34,6 \pm 41,5$ nmol/l und KHK-Patienten mit Anämie zeigten Werte von $43,4 \pm 35,5$ nmol/l. Die RBC-RNNO-Werte von STEMI-Patienten ohne Anämie lagen im Durchschnitt bei $133 \pm 97,4$ nmol/l. Die Experimente mit STEMI-Patienten und Anämie sind fehlgeschlagen.

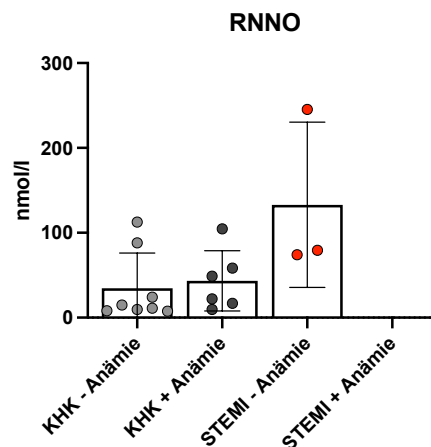


Abbildung 24 RNNO-Bestimmung in RBCs mit Unterteilung in Anämie-Subgruppen

Zwischen KHK-Patienten mit Anämie (schwarz, $n = 6$) und ohne (grau, $n = 8$) zeigen sich keine signifikanten Unterschiede in der RNNO-Konzentration (nmol/l) in RBCs. Es konnte kein Vergleich bezüglich der RNNO-Konzentration in RBCs zwischen STEMI-Patienten mit und ohne Anämie (rot, $n = 3$) erfolgen, da die Versuche mit den STEMI-Patienten mit Anämie gescheitert sind.

Diskussion

5.4 Das Anämie Modell

Ziel dieser Arbeit war es, den NO-Pool beim Menschen sowohl im Rahmen eines akuten Myokardinfarkts als auch bei bestehender koronarer Herzkrankheit zu charakterisieren und den Einfluss einer Anämie in beiden klinischen Konstellationen zu untersuchen. Die zugrunde liegende Hypothese basiert auf der klinisch belegten erhöhten Sterblichkeit bei anämischen Patienten nach akutem Myokardinfarkt, die sich insbesondere in einer signifikant erhöhten 30-Tage-Mortalität äußert. Dabei wird angenommen, dass der Verlust an NO-Bioverfügbarkeit – vermittelt durch eine verminderte Produktion, vermehrten Verbrauch oder gestörte Speicherung – eine zentrale pathophysiologische Rolle spielt. Stickstoffmonoxid (NO) wirkt unter physiologischen Bedingungen als kardioprotektiver Mediator, indem es die endotheliale Funktion, Vasodilatation, Thrombozyteninhibition und den myokardialen Stoffwechsel reguliert. Eine eingeschränkte NO-Verfügbarkeit infolge einer Anämie könnte daher wesentlich zur ungünstigen Prognose beitragen [82, 84, 88].

Zur Bestimmung des NO-Pools wurde die Chemilumineszenz-Methode eingesetzt, um Nitrit sowie nitrosative Spezies quantitativ zu erfassen. Zur Quantifizierung von Nitrat wurde die ENO-Methode verwendet. Zusammen mit der Chemilumineszenz-Analyse von Nitrit stellen beide Verfahren etablierte Methoden zur Erfassung des NO-Pools dar.

Wie erwartet, zeigten sich innerhalb der Gruppen mit koronarer Herzkrankheit und ST-Hebungsinfarkt signifikante Unterschiede im Hämoglobinwert. Bei den KHK-Patienten mit Anämie handelt es sich um eine normozytäre und normochrome Anämie. Auffällig war eine geringfügig reduzierte mittlere korpuskuläre Hämoglobinkonzentration (MCHC). Ein Eisenmangel, der durch einen verminderten Transferrinwert angezeigt würde, konnte nicht als Ursache der Anämie identifiziert werden. Allerdings war die Transferrinsättigung außerhalb des Normbereichs reduziert. Diese laborchemische Konstellation spricht für einen funktionellen Eisenmangel, der dadurch gekennzeichnet ist, dass trotz vorhandener Eisenspeicher keine ausreichende Mobilisation des Eisens erfolgt (Ferritin normal oder erhöht, Transferrinsättigung < 20 %). Typische Ursachen finden sich im Rahmen chronischer Entzündungen, bei Herzinsuffizienz oder chronischer Niereninsuffizienz. Folsäure und Vitamin B12 lagen bei den Patienten im Normbereich. Der Retikulozytenproduktionsindex war bei anämischen Patienten < 2, was auf eine

inadäquate erythropoetische Aktivität hinweist. Hinweise auf eine Hämolyse fanden sich nicht; Haptoglobin und Bilirubin lagen im Normbereich. Lediglich das LDH war in beiden Gruppen mit KHK erhöht, was jedoch auch als unspezifischer Zellschadenmarker unterschiedliche Ursachen wie Muskelschaden, Lebererkrankungen oder Nierenfunktionsstörungen haben kann. Die Nierenfunktionsparameter zeigten bei KHK-Patienten mit Anämie signifikant höhere Kreatininwerte sowie eine deutlich erniedrigte geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR). Auf Basis dieser Befunde lassen sich diese Patienten mehrheitlich der Kategorie CKD G3a nach KDIGO zuordnen, während die KHK-Patienten ohne Anämie eher im Stadium CKD G2 einzuordnen sind. Für eine präzisere Klassifikation der Nierenfunktion hätte die zusätzliche Bestimmung der Albuminurie erfolgen müssen. Insgesamt spricht der Befund für eine Anämieform im Rahmen einer chronischen Erkrankung bzw. infolge der eingeschränkten Nierenfunktion. Bei rund 45 % der KHK-Patienten mit Anämie war eine chronische Nierenerkrankung (CKD) bereits diagnostiziert, wobei von einer höheren Dunkelziffer auszugehen ist.

Auch bei STEMI-Patienten zeigte sich eine normochrome, normozytäre Anämie. Ein manifester Eisenmangel konnte ebenfalls nicht nachgewiesen werden. Die Transferrinsättigung war reduziert, jedoch lagen Transferrin und der lösliche Transferrinrezeptor im Referenzbereich. Ferritin war bei anämischen Patienten im Normbereich, während es bei nicht anämischen STEMI-Patienten signifikant erhöht war. Dieser Befund könnte auf die Funktion von Ferritin als Akute-Phase-Protein hinweisen, dessen Konzentration im Rahmen eines akuten Myokardinfarkts ansteigt. Die beobachteten Unterschiede könnten darauf beruhen, dass der Ausgangswert des Ferritins bei den anämischen Patienten grundsätzlich niedriger war, sodass selbst eine normale Messung im akuten Stadium eine relative Erhöhung darstellen könnte.

Auch bei STEMI-Patienten lagen Folsäure und Vitamin B12 im Normbereich. Es fanden sich keine laborchemischen Hinweise auf eine Hämolyse (normales Haptoglobin und Bilirubin). Der Retikulozytenproduktionsindex war nicht erhöht, was eine unzureichende Erythropoese nahelegt. Im Unterschied zur KHK-Gruppe zeigten sich in den STEMI-Gruppen keine signifikanten Unterschiede in der Nierenfunktion; die eGFR lag in allen Subgruppen im Normbereich.

Zusammenfassend handelt es sich sowohl bei KHK- als auch bei STEMI-Patienten um eine normochrome, normozytäre Anämie, die am ehesten im Rahmen einer chronischen

Erkrankung auftritt. Bei KHK-Patienten ist hierfür insbesondere eine eingeschränkte Nierenfunktion relevant, während bei STEMI-Patienten vermutlich andere systemische Faktoren – möglicherweise inflammatorischer oder metabolischer Natur – beteiligt sind. Aufgrund der vorliegenden Charakteristika der Anämie lassen sich die Ergebnisse dieser Arbeit nicht ohne Weiteres auf alle Anämieformen übertragen.

5.5 Kardioprotektiver Effekt der Erythrozyten

Ein ST-Hebungsinfarkt entsteht typischerweise durch eine Plaqueruptur oder thrombotische Gefäßokklusion, die zu einer abrupten Unterbrechung der myokardialen Sauerstoffversorgung führt. In der Folge kommt es zu einer Ischämie mit Zellnekrose und konsekutivem Zelltod. Das Ausmaß der Myokardschädigung beeinflusst entscheidend das klinische Outcome nach einem akuten Myokardinfarkt. Abhängig von der Größe der Infarktregion kann es zu einer Beeinträchtigung der linksventrikulären Pumpfunktion und langfristig zur Entwicklung einer Herzinsuffizienz kommen. Strategien zur Begrenzung der Infarktgröße und zur Verbesserung des myokardialen Remodellings stehen daher im Fokus aktueller kardiovaskulärer Forschung.

Erythrozyten machen den Hauptanteil der zellulären Blutbestandteile aus. Ihre primäre Funktion besteht im Transport von Sauerstoff in die Peripherie und in der Rückführung von Kohlendioxid zur pulmonalen Elimination. Darüber hinaus übernehmen sie regulatorische Funktionen in der kardiovaskulären Homöostase, etwa durch den Transport von Adenosintriphosphat (ATP) und Stickstoffmonoxid (NO) sowie durch die Modulation redoxaktiver Prozesse [132, 146].

Im Rahmen eines akuten Myokardinfarkts zeigen Erythrozyten kardioprotektive Effekte. Diese umfassen unter anderem eine Modulation des postischämischen Remodellings, eine mögliche Induktion eines metabolischen „Winterschlafs“ (Hibernation) zur Reduktion des myokardialen Sauerstoffverbrauchs sowie eine erhöhte Kalziumempfindlichkeit der Kardiomyozyten, die zu einer gesteigerten Kontraktilität führen kann [110].

Diese Effekte werden primär dem erythrozytären NO-Stoffwechsel zugeschrieben, insbesondere der in Erythrozyten exprimierten endothelialen NO-Synthase [119]. So transportieren Erythrozyten NO, synthetisieren dieses jedoch auch über die eigene eNOS und bilden NO über eine Nitritreduktion unter Normoxie [97, 107, 117, 120]. Eine Nitritreduktion zur Produktion von NO kann jedoch auch eNOS unabhängig bei

niedrigem pO₂, Gewebeazidose und hoher NADH-Konzentration erfolgen [147]. Gerade in der ischämischen Randzone eines Infarktareals können Erythrozyten über verschiedene Mechanismen den regionalen Koronarfluss modulieren – etwa durch die Freisetzung von NO [125, 148-150] und Nirit [151, 152] oder der Freisetzung von ATP [132] und Sulfid [153]. Diese lokalen vasodilatatorischen und metabolischen Effekte könnten zur Begrenzung der Infarktgröße beitragen.

Tierexperimentelle Daten unterstützen diese Hypothese: Im Mausmodell wurde bereits mehrfach festgestellt, dass ein KO der RBC eNOS zu einer Vergrößerung des Infarktareals und einer Verschlechterung der linksventrikulären Dysfunktion mit verschlechtertem myokardialen Remodelling beiträgt [114, 115]. Interessanterweise blieb die Infarktgröße bei Knockout der endothelialen eNOS unbeeinflusst, was auf eine spezifische kardioprotektive Rolle der erythrozytären eNOS hindeutet [128].

Der zugrunde liegende molekulare Mechanismus ist bislang nicht vollständig geklärt. Es wird angenommen, dass die Wirkung über den NO–sGC–PKG-Signalweg vermittelt wird. Die Hemmung der NO-Synthese durch L-NAME reduziert die durch Erythrozyten induzierte postischämische Erholung signifikant und führt zur Vergrößerung der Infarktzone. Ebenso resultiert die Blockade der löslichen Guanylatzyklase (sGC) in einer reduzierten myokardialen Erholung (z. B. verminderter LVDP) und einer Zunahme der Infarktgröße. Darüber hinaus führt die Hemmung des purinergen P2Y₁₃-Rezeptors, der in Erythrozyten exprimiert ist, zu einer Abschwächung der Erholungsprozesse nach Ischämie sowie zu einer Vergrößerung des Infarktareals [154]. Die aktuelle Hypothese geht davon aus, dass ATP über eine Aktivierung des P2Y₁₃-Rezeptors die erythrozytäre eNOS stimuliert. Diese katalysiert die NO-Synthese aus L-Arginin. NO wirkt anschließend über den sGC–PKG-Signalweg auf kardiale Zielstrukturen ein und entfaltet dort protektive Effekte [155].

Der genaue Mediator, der aus den Erythrozyten freigesetzt wird, ist bislang nicht eindeutig identifiziert. Freies NO selbst ist aufgrund seiner kurzen Halbwertszeit und der raschen Inaktivierung durch oxygeniertes Hämoglobin (zu Methämoglobin und Nitrat) ein eher unwahrscheinlicher Kandidat. Alternativ wird diskutiert, dass Nitrit [151] oder S-Nitrosothiol [149] als stabilere NO-Reservoirs fungieren und die Signalweiterleitung übernehmen könnten.

Kommt es zu einer Dysfunktion der erythrozytären eNOS, kann dies die kardioprotektiven Effekte der Erythrozyten deutlich einschränken. Experimentelle Modelle bei Diabetes mellitus, Anämie oder chronischer Nierenerkrankung zeigen eine verminderte Funktionalität der erythrozytären eNOS [129, 156, 157]. Dieser Mechanismus könnte eine pathophysiologische Grundlage für die erhöhte kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität in diesen Patientengruppen darstellen.

5.6 Einfluss der KHK auf die RBC-Funktion

Wie im vorangegangenen Kapitel dargelegt, besitzen Erythrozyten durch ihre Fähigkeit zur NO-Synthese mittels eNOS eine relevante kardioprotektive Funktion, insbesondere im Rahmen akuter myokardialer Ischämie. Eine Beeinträchtigung dieser Funktion könnte daher wesentlich zur Progression kardiovaskulärer Erkrankungen beitragen. Vor diesem Hintergrund ist der Einfluss chronischer Grunderkrankungen – insbesondere der koronaren Herzkrankheit (KHK) – auf die NO-Bioverfügbarkeit innerhalb von Erythrozyten von zentralem Interesse.

Die KHK ist die klinische Manifestation einer Atherosklerose der Koronararterien. Diese chronisch-progrediente Gefäßerkrankung ist multifaktoriell bedingt und beruht auf einer komplexen Interaktion genetischer Prädisposition und klassischer kardiovaskulärer Risikofaktoren wie Hyperlipidämie, Nikotinkonsum, arterieller Hypertonie, Adipositas und Diabetes mellitus.

Am Anfang der Pathogenese der Atherosklerose steht die endotheliale Dysfunktion.

Durch die oben genannten Krankheitszustände kommt es zu einer Aktivierung des Endothels mit Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies und Zytokinen, wodurch insgesamt ein entzündungs- und gerinnungsfördernder Zustand entsteht [158, 159].

Die endotheliale Dysfunktion ist gekennzeichnet durch eine gestörte NO-Bioaktivität infolge verminderter NO-Synthese und/oder erhöhter NO-Degradation. Dabei kommt es zu einer allgemeinen Störung des L-Arginin–NO-Stoffwechsels, die insbesondere die endothelabhängige Vasodilatation beeinträchtigt [160]. Darüber hinaus ist die endotheliale Dysfunktion assoziiert mit einer gestörten Fibrinolyse, erhöhter Thrombogenität sowie einer gesteigerten Expression von Wachstumsfaktoren, proinflammatorischen Zytokinen, Adhäsionsmolekülen und reaktiven Sauerstoffspezies (ROS), die wiederum das vaskuläre Milieu nachhaltig verändern [161, 162]. Eine

endotheliale Dysfunktion führt zu atherosklerotischen Veränderungen der Gefäßwand [163-165] und somit auch zur koronaren Herzkrankheit [166]. Sie steht jedoch auch mit einer Vielzahl an anderen Erkrankungen in Zusammenhang, wie Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und Hypercholesterinämie [167].

Die verringerte NO-Bioverfügbarkeit äußert sich durch eine verminderte NO-Produktion und/oder einen verstärkten Abbau [168-170].

Die reaktiven Sauerstoffspezies, welche zur Endothelaktivierung beitragen, beeinträchtigen auch den NO-Stoffwechsel. Durch eine Reaktion mit NO können sie das schädliche Peroxynitrit bilden, welches ebenfalls radikale Eigenschaften hat. Superoxidanionen führen einerseits zu einem verstärkten Abbau von NO und können durch Bindung an die eNOS zu einer Entkopplung führen, sodass kein NO, sondern erneut Superoxidanionen entstehen, die den Kreislauf fördern [136-139, 171].

Während sich die funktionellen Konsequenzen dieser Prozesse primär auf das Gefäßendothel beziehen, zeigen neuere Untersuchungen, dass auch Erythrozyten im Rahmen der KHK funktionell betroffen sind. Bei KHK-Patienten konnte eine reduzierte Expression und Aktivität der eNOS in Erythrozyten nachgewiesen werden [151]. Interessanterweise korrelierte diese Einschränkung signifikant mit dem Ausmaß der endothelialen Dysfunktion [172], was auf eine systemische Störung des NO-Haushalts hindeutet. Trotz der reduzierten NO-Produktion in den Erythrozyten ist die intrazelluläre NO-Signalweiterleitung über die lösliche Guanylatzyklase (sGC) und Proteinkinase G (PKG) nicht beeinträchtigt [173].

Das bedeutet, dass der nachgeschaltete Signalweg innerhalb der Erythrozyten grundsätzlich intakt ist und bei ausreichender NO-Verfügbarkeit weiterhin aktiviert werden könnte.

Diese Befunde deuten darauf hin, dass die endotheliale Dysfunktion im Rahmen der KHK nicht auf das Gefäßendothel beschränkt ist, sondern auch die erythrozytäre eNOS-Funktion beeinflusst. Damit stellt die KHK nicht nur einen vaskulären Risikofaktor, sondern auch einen potenziellen Modulator der kardioprotektiven Eigenschaften der Erythrozyten dar. Die verminderte NO-Produktion innerhalb der Erythrozyten könnte somit einen bislang unterschätzten Mechanismus darstellen, der zur erhöhten kardiovaskulären Morbidität bei KHK-Patienten beiträgt.

5.7 Die Rolle der Anämie auf die NO-Bioverfügbarkeit

Ein zentrales Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung, inwieweit eine Anämie die NO-Bioverfügbarkeit bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit und akutem ST-Hebungsinfarkt beeinflusst. Aufbauend auf den vorangegangenen Kapiteln, in denen die Rolle der erythrozytären eNOS bei der myokardialen Protektion sowie die Beeinträchtigung dieser Funktion durch die KHK beleuchtet wurden, soll nun die zusätzliche Modulation durch eine Anämie betrachtet werden.

Bei einer Anämie kommt es durch die Erhöhung des Herzzeitvolumens und des Kohlenstoffdioxidgehalts zu einer erhöhten Blutflussgeschwindigkeit. Diese und das Auftreten einer Hypoxie führen zu einer erhöhten Wandschubspannung, was zu einer verstärkten Aktivierung der eNOS führt [89].

Studien zeigen, dass die eNOS eine zentrale Rolle in dieser kardiovaskulären Kompensation spielt: Fehlt die eNOS, etwa durch einen genetischen Knockout oder eine pharmakologische Inhibition, bleibt die hämodynamische Anpassung weitgehend aus [89]. Ein erhöhtes Herzzeitvolumen mit verminderter systolischer und/oder diastolischer Leistung kann eine Herzinsuffizienz auslösen oder verschlimmern [174]. Dieser Mechanismus wurde bereits bei Anämie beobachtet [175].

Gleichzeitig ist bekannt, dass eine Anämie mit einer eingeschränkten NO-Bioverfügbarkeit assoziiert ist – insbesondere im Rahmen einer endothelialen Dysfunktion. Wie im vorherigen Kapitel dargestellt, kann oxidativer Stress zur Entkopplung der eNOS führen. In diesem Zustand produziert die eNOS nicht länger NO, sondern Superoxid, das in weiterer Folge mit NO zu dem zytotoxischen Peroxynitrit reagiert [136-139]. Eine erhöhte eNOS-Expression gilt dabei als kompensatorischer Mechanismus zur Aufrechterhaltung der NO-Produktion [89, 132]. Ebenfalls wurde bereits festgestellt, dass in Anämie auch eine verstärkte iNOS-Expression zu beobachten ist [140]. Auch dieses könnte ein Mechanismus sein, um den reduzierten NO-Pool und die endotheliale Dysfunktion auszugleichen.

In unseren Daten zeigte sich, dass die Anämie nicht ausnahmslos mit einer Reduktion des NO-Pools assoziiert war. So wiesen KHK-Patienten mit Anämie signifikant erhöhte Plasmawerte von Nitrit und Nitrat auf. Ähnliche Beobachtungen wurden bereits in anderen Arbeiten beschrieben und werden unter anderem auf eine hämodilutionbedingte

Erhöhung des Plasmavolumens bei Anämie zurückgeführt [89]. Zu beachten ist jedoch, dass insbesondere die erhöhten Nitratkonzentrationen kritisch zu interpretieren sind: Nitrat wird überwiegend renal eliminiert und könnte bei eingeschränkter glomerulärer Filtrationsrate – wie sie bei den anämischen KHK-Patienten in unserer Kohorte nachgewiesen wurde – kumulieren. Daher kann ein Teil der erhöhten Nitratwerte auf die eingeschränkte Nierenfunktion zurückzuführen sein. Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse, dass die Anämie mit komplexen und teils gegenläufigen Effekten auf den NO-Stoffwechsel einhergeht. Einerseits könnten kompensatorische Mechanismen – wie die gesteigerte eNOS-Aktivierung oder iNOS-Expression – zu einer Erhaltung oder sogar Erhöhung bestimmter NO-Metabolite führen. Andererseits bleibt die Frage offen, inwiefern diese Veränderungen tatsächlich funktionell relevant sind oder durch Begleitfaktoren wie die Nierenfunktion überlagert werden. Die Interpretation der Nitratkonzentration im Plasma sollte daher stets im Zusammenhang mit renalen Parametern erfolgen.

5.8 Ursachen und Auswirkungen der Anämie auf ein postmyokardiales

Outcome

Die klinische Relevanz einer Anämie im Rahmen eines akuten Koronarsyndroms (ACS) ist durch zahlreiche Studien belegt. Etwa die Hälfte aller Patienten mit ACS entwickelt im Verlauf eine hospital-acquired anemia (HAA) [82], was mit einer signifikant erhöhten Sterblichkeit assoziiert ist [85]. Besonders kritisch sind Hämoglobinwerte unter 10 g/dl, die bei STEMI-Patienten mit einem erhöhten Risiko für Reinfarkte, schwerwiegende Blutungen und einer signifikant höheren Gesamtmortalität verbunden sind [86, 87] [88].

Diese klinischen Beobachtungen spiegeln sich auch in tierexperimentellen Modellen wider: Anämische Tiere zeigen eine vergrößerte Infarktgröße, eine reduzierte linksventrikuläre Ejektionsfunktion (LVEF) und eine niedrigere Überlebensrate [176]. Auch klinische Studien belegen, dass ein Hämoglobinabfall von mehr als 3 g/dl bei STEMI-Patienten mit einer reduzierten LVEF nach sechs Monaten sowie einer erhöhten Fünfjahresmortalität assoziiert ist [177].

Die pathophysiologischen Ursachen der Anämie assoziierten Verschlechterung der Herzfunktion sind multifaktoriell. Neben der reduzierten Sauerstofftransportkapazität und einer gesteigerten myokardialen Hypoxie spielen Störungen im NO-Stoffwechsel

eine wesentliche Rolle. Wie in den vorangegangenen Kapiteln erläutert, ist die NO-Bioverfügbarkeit bei Anämie häufig reduziert – unter anderem durch eine eNOS-Entkopplung infolge oxidativen Stresses. Dies resultiert in der vermehrten Bildung von Peroxynitrit anstelle von NO und kann zur endothelialen Dysfunktion beitragen. Die gestörte eNOS-Aktivität betrifft nicht nur das vaskuläre Endothel, sondern auch die erythrozytäre eNOS, wie bereits im Rahmen der KHK gezeigt wurde, und könnte somit auch die kardioprotektiven Funktionen der Erythrozyten beeinträchtigen [89].

Trotz der nachgewiesenen Bedeutung der Anämie im ACS-Kontext berücksichtigen die aktuellen European Society of Cardiology (ESC)-Leitlinien zur Behandlung des akuten Myokardinfarkts keine differenzierte Therapieempfehlung für anämische Patienten. Lediglich in der Leitlinie zum infarktbedingten kardiogenen Schock wird der Hämoglobinwert als klinischer Faktor berücksichtigt. Dieser Mangel an konkreten Empfehlungen wurde unter anderem von Wischmann et al. diskutiert [81]. Der therapeutische Einsatz von Erythropoetin (EPO) zeigte in Tiermodellen zwar protektive Effekte hinsichtlich Infarktgröße, Apoptoserate und Herzfunktion [178]. Hier gibt es weitere Hinweise, dass der positive Einfluss von EPO nicht auf die Erhöhung des Hämatokrit zurückzuführen ist, sondern NO abhängig erfolgt [179]. Im Gegenteil deuten aber Humanstudien (z. B. REVIVAL-3) auf ein potenziell ungünstiges Nutzen-Risiko-Profil beim Einsatz von EPO im Herzinfarkt hin, sodass der Einsatz von EPO im Rahmen des akuten Myokardinfarkts derzeit nicht empfohlen wird. Die aktuelle Leitlinie zum infarktbedingten kardiogenen Schock rät daher aufgrund fehlender Evidenz ausdrücklich vom routinemäßigen Einsatz bei anämischen Patienten ab [180].

Auch bezüglich Bluttransfusionen besteht kein klarer Konsens. Die ESC-Leitlinie für ACS empfiehlt ein restriktives Vorgehen mit Transfusionen bei Hb-Werten unter 7 g/dl, jedoch ohne Evidenzgrad oder Empfehlungsstärke [180]. Beobachtungsdaten, wie jene aus dem BleedMACS-Register, zeigen ein erhöhtes Risiko für Reinfarkte und Mortalität bei transfundierten STEMI-Patienten. Weiter wurde festgestellt, dass die Letalität von STEMI- und NSTEMI-Patienten mit Transfusionen höher ist als ohne Transfusion [181]. Weitere Analysen ergaben, dass Transfusionen bei Hb < 8 g/dl positive oder neutrale Effekte zeigten, während sie bei Hb > 11 g/dl mit ungünstigen Verläufen assoziiert waren [182].

Die Datenlage zu liberalen versus restriktiven Transfusionsstrategien ist widersprüchlich. Während einige Studien auf negative Effekte liberaler Transfusionen hinweisen [183],

zeigen andere Vorteile gegenüber restriktiven Strategien [184]. Eine aktuelle Metaanalyse kommt zu dem Schluss, dass ein liberales Vorgehen nicht empfohlen werden kann [185], wenngleich die zugrundeliegende Evidenz – meist basierend auf Beobachtungsstudien – kritisch zu betrachten ist [186]. Insgesamt zeigen die genannten Studien, dass es bisher keine einheitlichen Empfehlungen zum Vorgehen bei Anämie im ACS gibt und lediglich Empfehlungen für Patienten mit infarktbedingtem kardiogenem Schock ausgesprochen wurden.

Parallel zu transfusionsbezogenen Fragestellungen wird zunehmend der gestörte NO-Stoffwechsel als therapeutisches Ziel bei Anämie diskutiert. Eine erhöhte Arginase-Aktivität, wie sie bei anderen kardiovaskulären Erkrankungen beschrieben wurde, konnte bei Anämie nicht als Ursache der eNOS-Dysfunktion identifiziert werden [140].

Ebenso führte die Gabe von L-Arginin zur Förderung der NO-Produktion in mehreren Studien nicht zu einer Verbesserung der Endothelfunktion, sondern war teilweise mit negativen Effekten assoziiert [187-189].

Der Einsatz von NO-Donatoren stellt einen wichtigen Aspekt in der Therapie der Angina Pectoris dar. Durch die Erhöhung von NO kommt es an den Koronarien zur Vasodilatation und somit zur verbesserten Sauerstoffversorgung. Jedoch ist dieser Einsatz vor allem für das akute Krankheitsbild sinnvoll. Bei chronischem Einsatz können Nitrate Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen, eine Toleranzentwicklung und ebenfalls eine endotheliale Dysfunktion verursachen. Nitrite können eine Methämoglobinämie und die Umwandlung in karzinogene Nitrosamine als Folge haben [190].

Eine therapeutische Möglichkeit wurde im eNOS-Kofaktor Tetrahydropterin (BH₄) gesehen. Ein Mangel an diesem wurde bereits bei Patienten mit Diabetes mellitus, KHK, Herzinsuffizienz und Ischämie/Reperfusionsschäden festgestellt. Eine Gabe von BH₄ verbesserte die Endothelfunktion [191-193]. Auch konnte eine Substitution von BH₄ im Mausmodell das Fortschreiten der Atherosklerose hemmen [194] und eine schwere Atherosklerose rückgängig machen [195]. Die Gabe von L-Arginin und BH₄ führte bei Ratten und Schweinen zu einer Reduktion von Ischämie/Reperfusionsschäden [196] und verbesserte die endothelabhängige Vasodilatation [197]. Beim Menschen zeigten sich jedoch bislang keine konsistent positiven Effekte, möglicherweise durch Oxidation von BH₄ zu BH₂, welches die eNOS-Entkopplung nicht verhindert [198].

Neuere Studien erforschen aktuell den Einsatz von Transkriptionsregulatoren der eNOS-Aktivität. Der Einsatz bei Ratten führte schon zu einer Verbesserung der LVEF, des Remodellings und der kontraktile Dysfunktion nach AMI [199]. Ebenso zeigen erste Gentherapie-Ansätze mittels adenoviraler eNOS-Übertragung vielversprechende Effekte im Tiermodell, etwa eine Verringerung der Infarktgröße und der Fibrose sowie eine Verbesserung der postischämischen Erholung [200, 201]. Ob diese experimentellen Strategien auf den Menschen übertragbar sind, bleibt Gegenstand zukünftiger Studien. Insgesamt verdeutlichen unsere Daten und die aktuelle Studienlage, dass eine Anämie einen eigenständigen, klinisch relevanten Risikofaktor für ein ungünstiges postmyokardiales Outcome darstellt. Die mit einer Anämie einhergehende Störung der NO-Homöostase – sowohl endothelial als auch erythrozytär – könnte dabei eine zentrale Rolle einnehmen. Künftige Forschungsansätze sollten sich daher verstärkt auf therapeutische Strategien konzentrieren, die gezielt die eNOS-Funktion verbessern oder stabilisieren, um so das Outcome anämischer Patienten mit ACS zu verbessern. Parallel dazu bedarf es dringend klarer, evidenzbasierter Leitlinien für das klinische Management der Anämie im akuten Koronarsyndrom.

5.9 Die Rolle der RBCs und des NO-Stoffwechsels beim STEMI mit Anämie

Die Rolle der Erythrozyten im NO-Stoffwechsel und ihre kardioprotektiven Eigenschaften im Rahmen des akuten Myokardinfarkts (STEMI) sind mittlerweile gut beschrieben. Aufbauend auf der Hypothese dieser Arbeit wurde untersucht, ob Erythrozyten anämischer Patienten ihre protektiven Funktionen im STEMI verlieren und ob dies zur erhöhten Morbidität und Mortalität dieser Patientengruppe beiträgt.

In unseren Untersuchungen zeigte sich, dass bei STEMI-Patienten mit Anämie die Konzentrationen von Nitrit und Nitrat in Erythrozyten signifikant reduziert waren – im Gegensatz zur KHK-Kohorte mit Anämie, bei der diese Reduktion nicht nachweisbar war. Dies weist darauf hin, dass eine erythrozytäre NO-Dysfunktion insbesondere im akuten Krankheitsbild zum Tragen kommt.

Die NO-Bioverfügbarkeit hängt maßgeblich von der Verfügbarkeit des Substrats L-Arginin, des Kofaktors Tetrahydrobiopterin (BH₄), der Aktivität und dem Kopplungsstatus der eNOS ab. Arginin selbst wird durch Arginase abgebaut, deren

Überexpression die NO-Produktion limitiert. Arginasen werden unter anderem im Endothel exprimiert [125] und sind mit einer endothelialen Dysfunktion bei verschiedenen Erkrankungen assoziiert, etwa bei Diabetes mellitus und im Alter [209–212]. Inhibitoren der Arginase können die NO-Bioverfügbarkeit verbessern und die kardioprotektive Wirkung nach Ischämie/Reperfusion (I/R) verstärken [125, 213]. Allerdings wurde bei chronischer Anämie keine gesteigerte Arginase-Aktivität als Ursache der endothelialen Dysfunktion identifiziert [140], sodass dieser Mechanismus bei Anämie nicht entscheidend zu sein scheint.

Eine verminderte eNOS-Expression gilt ebenfalls als potenzieller Mechanismus einer reduzierten NO-Produktion. Allerdings wurde bei chronischer Anämie eine normale bis erhöhte eNOS-Expression im Endothel beschrieben [89, 140]. Ob sich dieser Befund auf erythrozytäre eNOS übertragen lässt, ist bislang unklar und bedarf weiterer experimenteller Validierung.

Ein zentraler pathophysiologischer Mechanismus ist die Entkopplung der eNOS. Sie tritt insbesondere bei Mangel an BH₄ oder unter oxidativem Stress auf und führt zur Produktion von Superoxid anstelle von NO. Die Reaktion von Superoxid mit NO ergibt das toxische Peroxynitrit, das zur endothelialen Dysfunktion beiträgt [136–139, 215]. Eine chronische Anämie ist mit einer erhöhten ROS-Belastung und endothelialer Aktivierung assoziiert [89, 159, 160], und antioxidative Therapien konnten in Modellen anämischer Mäuse die endotheliale Funktion verbessern [140].

Erythrozyten tragen wesentlich zur peripheren NO-Homöostase bei. In Modellen wurde gezeigt, dass Erythrozyten anämischer Mäuse eine endotheliale Dysfunktion in isolierten Aortenringen induzieren können [140]. Ähnliche Effekte zeigten sich auch bei Erythrozyten aus eNOS-Knockout-Mäusen [218]. Es wird vermutet, dass extrazelluläre Vesikel aus dysfunktionalen RBCs über prooxidative Mechanismen – etwa durch den Transfer von Arginase-1 – negativ auf das Endothel wirken [219]. Zudem zeigen dysfunktionale Erythrozyten ein gestörtes Redox-Gleichgewicht, eine gesteigerte Phosphatidylserin-Exposition und einen beschleunigten Zellumsatz. Diese Veränderungen sind typisch für eine entkoppelte eNOS und führen zum Verlust der kardioprotektiven Eigenschaften der Erythrozyten [89, 220, 221].

Diese Zusammenhänge könnten eine Erklärung für die erhöhte Mortalität und Morbidität von STEMI-Patienten mit Anämie liefern.

Der Unterschied zwischen anämischen Patienten mit KHK und solchen mit STEMI in Bezug auf den erythrozytären NO-Stoffwechsel könnte durch die Reperfusion nach ischämischem Ereignis bedingt sein. Die Wiederherstellung des Blutflusses ist essenziell, löst jedoch selbst Gewebeschäden aus – sogenannte Reperfusionsschäden. Diese sind vor allem durch eine mitochondriale Dysfunktion und eine massive Freisetzung von ROS gekennzeichnet, die zelluläre Strukturen schädigen und weitere entzündliche Prozesse anstoßen [222–224]. Die bei STEMI freigesetzten ROS könnten zusätzlich zur Entkopplung der eNOS in Erythrozyten führen und so deren NO-vermittelte Funktion zusätzlich beeinträchtigen.

Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass eine Anämie zu einer funktionellen Entkopplung der erythrozytären eNOS führt, was im akuten Kontext des STEMI durch oxidativen Stress und Reperfusionsschäden weiter verstärkt wird. In der Folge verlieren Erythrozyten ihre kardioprotektiven Eigenschaften. Diese Dysfunktion ließ sich durch die Reduktion von NO-Metaboliten (Nitrit und Nitrat) in den Erythrozyten nachweisen. Die eingeschränkte NO-Bioverfügbarkeit könnte somit ein zentraler Mechanismus sein, der zur erhöhten Sterblichkeit und Morbidität bei STEMI-Patienten mit Anämie beiträgt.

5.10 Limitationen

5.10.1 Einschränkungen bei der Bestimmung von NO und seinen Metaboliten

NO ist ein flüchtiges Molekül. Aufgrund der kurzen Halbwertszeit von ca. 2 Millisekunden und der hohen chemischen Reaktivität ist eine direkte Bestimmung von NO ungeeignet. Die Chemilumineszenz ist eine etablierte und genaue Methode, um insbesondere Nitrit in flüssigen Proben zu bestimmen und so Rückschlüsse auf den NO-Stoffwechsel ziehen zu können. Aber auch Nitrit und Nitrat werden in Proben innerhalb kurzer Zeit verstoffwechselt. Nitrat hat eine lange Plasmahalbwertszeit von ca. 8 Stunden, wodurch Nitrit innerhalb weniger Minuten verstoffwechselt wird. Aufgrund dessen unterliegen die Probenaufbereitung und -verarbeitung zeitlichen Limitationen. Durch Nutzung der *preservation solution* innerhalb unseres Protokolls gelang es uns, die Verstoffwechslung von NO in Nitrit innerhalb der Probe zu stoppen, um so eine akkurate Probenmessung zu gewährleisten. Jedoch bedeutet dies auch, dass die Proben stets frisch abgenommen, sofort ins Labor transportiert und aufgearbeitet werden mussten. Dieser Ablauf birgt ein gewisses Fehlerpotential. Sodass, wenn es innerhalb dieser Kette zu

Verzögerungen kommt, auch die Genauigkeit der Probenkonzentrationen beeinflusst werden kann.

5.10.2 Unvollständige Erfassung des NO-Pools

Neben den genannten Marker zur Bestimmung des NO-Pools inklusive Nitrit, Nitrat und den Nitrosylspezies gibt es bei Letzteren jedoch noch eine Unterform, welche nicht in dieser Arbeit berücksichtigt wurde. Nitrosyl-Hämoglobin gehört zu den Nitrosylspezies und dient nicht nur als NO-Speicher, sondern kann quantitativ das zirkulierende NO widerspiegeln. Ebenfalls dient es als Indikator für vaskulären Stress und kann als Biomarker für die endotheliale Dysfunktion herangezogen werden [202]. In den 2000ern wurde eine indirekte Methode zum Nachweis von HbNO mittels Chemilumineszenz beschrieben [203]. Diese Technik ist jedoch sehr zeitaufwendig und beinhaltet viele Zwischenschritte, insbesondere das Aufbereiten der RBCs über ca. 30 Minuten, was in etwa dem Stabilitätszeitraum von HbNO entspricht. Des Weiteren hängt auch bei HbNO die Stabilität von exogenen Faktoren, wie der Temperatur und dem pH-Wert ab [204]. Aufgrund der Komplexität des Protokolls ist es uns nicht gelungen, HbNO-Messungen in diese Arbeit miteinfließen zu lassen. Um ein komplettes Bild des NO-Stoffwechsels zu erhalten, wären weitere Experimente notwendig, um auch den Einfluss eines AMI und des Einflusses der Anämie auf den HbNO-Gehalt zu identifizieren. Boughaleb et al schlagen die Elektronenspinresonanzspektroskopie als Alternative zur quantitativen Bestimmung von HbNO vor. Hier wird direkt der Übergang eines ungepaarten Elektrons in einem angelegten Magnetfeld gemessen und so zur Detektion von paramagnetischen Molekülen verwendet [202]. Dies könnte eine Alternative zur bekannten und bereits verwendeten Chemilumineszenz darstellen.

5.10.3 Einfluss externer Faktoren auf NO-Metabolite

Der Nitratgehalt ist abhängig sowohl von externen als auch internen Faktoren, die unabhängig von der eNOS sind und dementsprechend auch keine Rückschlüsse auf dessen Aktivität liefern. Deshalb wurde schon früh erkannt, dass die Interpretation mit Vorsicht vorgenommen werden muss.

So beeinflusst beispielsweise Rauchen, die bakterielle Nitratsynthese im Darm, aber auch eine Nitrit- bzw. Nitrathaltige Ernährung, die endogenen Nitratwerte [99, 205, 206]. Obwohl die Proben im nüchternen Zustand entnommen wurden, lagen keine detaillierten Angaben zur Ernährung vor, wodurch ein potenzieller Störeinfluss nicht ausgeschlossen

werden kann. Da diätär aufgenommenes Nitrat – insbesondere aus Obst und Gemüse – einen positiven Einfluss auf das kardiovaskuläre Risiko haben kann [207, 208], ist eine differenzierte Betrachtung notwendig.

Neben der Aufnahme von Nitrat ist auch die Elimination entscheidend bei der Betrachtung der Werte. Nitrat wird überwiegend über den Urin, über die Niere ausgeschieden [209]. Eine verringerte eGFR, wie sie beispielsweise bei chronischen Nierenerkrankungen auftritt, führt dementsprechend zu einer verringerten Ausscheidung von NO-Metaboliten [210].

5.10.4 Risiko der Kontamination

NO ist ein umweltpräsentes Molekül und kann als Kontaminationsquelle auftreten – etwa durch Luftkontakt oder kontaminierte Laborutensilien. Um Fremdbeeinflussungen zu minimieren, wurden alle Probengefäße mit hochreinem Wasser gespült und abgedeckt getrocknet. Die Probenbearbeitung erfolgte unter Verwendung eines Mund-Nasen-Schutzes. Kontrollproben aller verwendeten Lösungen wurden mit eingefroren und analysiert, um etwaige Kontaminationen zu erkennen und in der Auswertung zu berücksichtigen.

5.10.5 Stichprobengröße und technische Probleme

Zwischen unseren unterschiedlichen Experimenten verzeichnen wir deutliche Abweichungen bezüglich unserer n-Zahlen. Insbesondere die RXNO-RBC-Experimente verzeichnen eine zu geringe n-Zahl, sodass sogar Teile der Experimente komplett gescheitert sind. Hier müssen weitere Arbeiten durchgeführt werden, um eine komplette Charakterisierung des NO-Pools zu ermöglichen.

5.11 Schlussfolgerung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit verdeutlicht die klinische Relevanz der Anämie als eigenständigen Risikofaktor im Rahmen des akuten ST-Hebungsinfarkts (STEMI). Anämische Patienten zeigen eine signifikant erhöhte Morbidität und Mortalität, was durch aktuelle Daten untermauert und im Rahmen dieser Untersuchung weiter differenziert werden konnte. Dennoch fehlt bislang eine systematische Berücksichtigung dieses Risikofaktors in klinischen Leitlinien.

Ziel dieser Arbeit war die umfassende Charakterisierung des NO-Pools bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit sowie akutem ST-Hebungsinfarkt unter besonderer Berücksichtigung des Einflusses einer begleitenden Anämie. Dabei konnte erstmals gezeigt werden, dass eine Anämie im akuten Myokardinfarkt mit einer signifikanten Reduktion von Nitrit- und Nitratkonzentrationen in Erythrozyten assoziiert ist – im Gegensatz zur KHK-Kohorte, in der dieser Effekt nicht auftrat. Diese Ergebnisse sprechen für eine akute, anämieassoziierte Störung des erythrozytären NO-Stoffwechsels im Kontext des STEMI.

Die beobachtete Reduktion von NO-Metaboliten wird als Ausdruck einer funktionellen Dysregulation der erythrozytären eNOS interpretiert. Aufbauend auf tierexperimentellen und molekularbiologischen Daten lässt sich vermuten, dass eine durch oxidativen Stress bedingte Entkopplung der eNOS eine zentrale Rolle spielt. Diese führt zur vermehrten Bildung reaktiver Sauerstoffspezies und zur Bildung von Peroxynitrit anstelle von NO – mit der Folge einer verminderten NO-Bioverfügbarkeit und dem Verlust kardioprotektiver Funktionen der Erythrozyten. Eine solche Dysfunktion könnte wesentlich zur erhöhten Anfälligkeit des Myokards bei anämischen STEMI-Patienten beitragen.

Die genaue Pathophysiologie dieser eNOS-Dysfunktion bleibt bislang ungeklärt. Es ist jedoch davon auszugehen, dass sie multifaktoriell bedingt ist und sowohl durch endogene Mechanismen (z. B. Kofaktorverarmung, Argininmetabolismus) als auch durch exogene Einflüsse (z. B. oxidativer Stress, Reperfusionsschaden) moduliert wird. Um den Zusammenhang zwischen Anämie, NO-Dysregulation und Myokardschädigung im STEMI vollständig zu verstehen, sind daher weiterführende mechanistische und translationale Studien erforderlich.

Gleichzeitig wird deutlich, dass derzeit keine evidenzbasierte therapeutische Strategie existiert, die gezielt auf die pathophysiologischen Besonderheiten anämischer Patienten im akuten Koronarsyndrom eingeht. Weder der Einsatz von Erythropoetin noch transfusionsbasierte Strategien haben sich in klinischen Studien bisher als effektiv erwiesen. Darüber hinaus fehlen klare Leitlinienempfehlungen zur Behandlung anämischer STEMI-Patienten – mit Ausnahme der ESC-Leitlinie zum infarktbedingten kardiogenen Schock, die die Anämie zumindest als klinisch relevantes Kriterium

berücksichtigt. Es bleibt zu hoffen, dass die derzeit laufende Überarbeitung dieser Leitlinie zu konkreten Handlungsempfehlungen führen wird.

Aus den vorliegenden Ergebnissen ergeben sich mehrere Perspektiven für zukünftige Forschung und klinische Praxis:

- Die Entwicklung von therapeutischen Strategien zur **gezielten Stabilisierung der erythrozytären eNOS-Funktion**, etwa durch Modulation von BH₄, antioxidative Therapie oder neue molekulare Interventionsansätze.
- Die Erweiterung der NO-Pool-Analyse um **weitere Marker wie Nitrosylhämoglobin**, um ein noch differenzierteres Bild der NO-Homöostase zu erhalten.
- Die Durchführung **interventionsbasierter Studien**, die den Effekt einer gezielten NO-Modulation auf kardiale Outcomes bei anämischen STEMI-Patienten untersuchen.
- Die **Integration der Anämie als stratifizierendes Kriterium in künftige ACS-Leitlinien**, insbesondere im Hinblick auf diagnostisches Vorgehen, Transfusionstrigger und therapeutische Zielwerte.

Zusammenfassend legt diese Arbeit einen möglichen pathophysiologischen Mechanismus für die erhöhte Vulnerabilität anämischer Patienten im STEMI offen. Der Verlust kardioprotektiver NO-Eigenschaften der Erythrozyten infolge einer eNOS-Dysfunktion stellt einen vielversprechenden Ansatzpunkt für zukünftige diagnostische und therapeutische Entwicklungen dar, um die Prognose dieser besonders gefährdeten Patientengruppe zu verbessern.

6 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1 PATHOGENESE DER ATHEROSKLEROSE.....	2
ABBILDUNG 2 DER NO-STOFFWECHSEL IN ERYTHROZYTEN.....	14
ABBILDUNG 3 AUFBAU DES CLD	18
ABBILDUNG 6 DARSTELLUNG DER BLUTPROBENHERSTELLUNG	22
ABBILDUNG 7 PROBENAUFBEREITUNG VON PLASMA FÜR NITRIT- (NO_2^-) UND NITRATMESSUNG (NO_3^-) ..	23
ABBILDUNG 8 PROBENAUFBEREITUNG VON RBCs ZUR NITRIT- (NO_2^-) UND NITRATMESSUNG (NO_3^-).....	24
ABBILDUNG 9 PROBENAUFBEREITUNG VON PLASMA ZUR RXNO-MESSUNG.....	25
ABBILDUNG 10 PROBENAUFBEREITUNG VON RBCs ZUR RXNO-BESTIMMUNG	26
ABBILDUNG 11 NITRATBESTIMMUNG (NO_3^-) IM PLASMA	32
ABBILDUNG 12 NITRATBESTIMMUNG (NO_3^-) IM PLASMA MIT UNTERTEILUNG IN ANÄMIE-SUBGRUPPEN..	32
ABBILDUNG 13 NITRITBESTIMMUNG (NO_2^-) IM PLASMA	33
ABBILDUNG 14 NITRITBESTIMMUNG (NO_2^-) IM PLASMA MIT UNTERTEILUNG IN ANÄMIE-SUBGRUPPEN ...	33
ABBILDUNG 15 RSNO-BESTIMMUNG IM PLASMA.....	34
ABBILDUNG 16 RSNO-BESTIMMUNG IM PLASMA MIT UNTERTEILUNG IN ANÄMIE-SUBGRUPPEN	34
ABBILDUNG 17 RNNO-BESTIMMUNG IM PLASMA	35
ABBILDUNG 18 RNNO-BESTIMMUNG IM PLASMA MIT UNTERTEILUNG IN ANÄMIE-SUBGRUPPEN.....	35
ABBILDUNG 19 NITRATBESTIMMUNG (NO_3^-) IN RBCs	36
ABBILDUNG 20 NITRATBESTIMMUNG (NO_3^-) IN RBCs MIT UNTERTEILUNG IN ANÄMIE-SUBGRUPPEN.....	36
ABBILDUNG 21 NITRITBESTIMMUNG (NO_2^-) IN RBCs.....	37
ABBILDUNG 22 NITRITBESTIMMUNG (NO_2^-) IN RBCs MIT UNTERTEILUNG IN ANÄMIE-SUBGRUPPEN	37
ABBILDUNG 23 RSNO-BESTIMMUNG IN RBCs	38
ABBILDUNG 24 RSNO-BESTIMMUNG IN RBCs MIT UNTERTEILUNG IN ANÄMIE-SUBGRUPPEN	38
ABBILDUNG 25 RNNO-BESTIMMUNG IN RBCs	39
ABBILDUNG 26 RNNO-BESTIMMUNG IN RBCs MIT UNTERTEILUNG IN ANÄMIE-SUBGRUPPEN.....	39

7 Tabellenverzeichnis

TABELLE 1 KLINISCHE UND MEDIZINISCHE CHARAKTERISTIKA DER KHK-PATIENTEN	29
TABELLE 2 KLINISCHE UND MEDIZINISCHE CHARAKTERISTIKA DER STEMI-PATIENTEN.....	31

8 Literatur und Quellenverzeichnis

1. (Destatis), S.B., *Todesursachen in Deutschland 2023*. 2024.
2. (ZI), Z.d.k.r.B., *Versorgungsatlas – Dashboard häufige chronische Krankheiten*. 2023.
3. Gosswald, A., et al., *[Prevalence of myocardial infarction and coronary heart disease in adults aged 40-79 years in Germany: results of the German Health Interview and Examination Survey for Adults (DEGS1)]*. Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz, 2013. **56**(5-6): p. 650-5.
4. Bundesärztekammer (BÄK), K.r.B.K., Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF) *Nationale VersorgungsLeitlinie Chronische KHK*. 2024. **Langfassung, Version 7.0**.
5. Watanabe, T., et al., *Atherosclerosis and macrophages*. Acta Pathol Jpn, 1989. **39**(8): p. 473-86.
6. Bennett, M.R., S. Sinha, and G.K. Owens, *Vascular Smooth Muscle Cells in Atherosclerosis*. Circ Res, 2016. **118**(4): p. 692-702.
7. Geng, Y.J. and P. Libby, *Progression of atheroma: a struggle between death and procreation*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2002. **22**(9): p. 1370-80.
8. Hoffmann, U., T.J. Brady, and J. Muller, *Cardiology patient page. Use of new imaging techniques to screen for coronary artery disease*. Circulation, 2003. **108**(8): p. e50-3.
9. Ehara, S., et al., *Spotty calcification typifies the culprit plaque in patients with acute myocardial infarction: an intravascular ultrasound study*. Circulation, 2004. **110**(22): p. 3424-9.
10. Beckman, J.A., et al., *Relationship of clinical presentation and calcification of culprit coronary artery stenoses*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001. **21**(10): p. 1618-22.
11. Vink, A., et al., *Plaque burden, arterial remodeling and plaque vulnerability: determined by systemic factors?* J Am Coll Cardiol, 2001. **38**(3): p. 718-23.
12. Schaar, J.A., et al., *Terminology for high-risk and vulnerable coronary artery plaques. Report of a meeting on the vulnerable plaque, June 17 and 18, 2003, Santorini, Greece*. Eur Heart J, 2004. **25**(12): p. 1077-82.
13. Society, C.C., *Grading of angina pectoris*. Circulation, 1976. **54**:522--3.
14. Neumann, J.T., et al., *Temporal trends in incidence and outcome of acute coronary syndrome*. Clin Res Cardiol, 2020. **109**(9): p. 1186-1192.
15. Thygesen, K., et al., *Fourth Universal Definition of Myocardial Infarction (2018)*. J Am Coll Cardiol, 2018. **72**(18): p. 2231-2264.
16. Byrne, R.A., et al., *2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes*. European Heart Journal, 2023. **44**(38): p. 3720-3826.
17. Neumann, J.T., et al., *Discrimination of patients with type 2 myocardial infarction*. Eur Heart J, 2017. **38**(47): p. 3514-3520.
18. Nestelberger, T., et al., *Effect of Definition on Incidence and Prognosis of Type 2 Myocardial Infarction*. J Am Coll Cardiol, 2017. **70**(13): p. 1558-1568.
19. Chapman, A.R., et al., *Long-Term Outcomes in Patients With Type 2 Myocardial Infarction and Myocardial Injury*. Circulation, 2018. **137**(12): p. 1236-1245.
20. Ibanez, B., et al., *2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)*. Eur Heart J, 2018. **39**(2): p. 119-177.
21. Diercks, D.B., et al., *Frequency and consequences of recording an electrocardiogram >10 minutes after arrival in an emergency room in non-ST-segment elevation acute coronary syndromes (from the CRUSADE Initiative)*. Am J Cardiol, 2006. **97**(4): p. 437-42.
22. Reichlin, T., et al., *Introduction of high-sensitivity troponin assays: impact on myocardial infarction incidence and prognosis*. Am J Med, 2012. **125**(12): p. 1205-1213 e1.
23. Neumann, J.T., et al., *Application of High-Sensitivity Troponin in Suspected Myocardial Infarction*. N Engl J Med, 2019. **380**(26): p. 2529-2540.
24. Neumann, J.T., et al., *Diagnosis of Myocardial Infarction Using a High-Sensitivity Troponin I 1-Hour Algorithm*. JAMA Cardiol, 2016. **1**(4): p. 397-404.
25. Koechlin, L., et al., *Performance of the ESC 0/2h-algorithm using high-sensitivity cardiac troponin I in the early diagnosis of myocardial infarction*. Am Heart J, 2021. **242**: p. 132-137.

26. Stewart, R.A.H., et al., *High flow oxygen and risk of mortality in patients with a suspected acute coronary syndrome: pragmatic, cluster randomised, crossover trial*. *BMJ*, 2021. **372**: p. n355.
27. Hofmann, R., et al., *Oxygen Therapy in Suspected Acute Myocardial Infarction*. *N Engl J Med*, 2017. **377**(13): p. 1240-1249.
28. Henrikson, C.A., et al., *Chest pain relief by nitroglycerin does not predict active coronary artery disease*. *Ann Intern Med*, 2003. **139**(12): p. 979-86.
29. 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.
30. Roolvink, V., et al., *Early Intravenous Beta-Blockers in Patients With ST-Segment Elevation Myocardial Infarction Before Primary Percutaneous Coronary Intervention*. *J Am Coll Cardiol*, 2016. **67**(23): p. 2705-2715.
31. Pizarro, G., et al., *Long-Term Benefit of Early Pre-Reperfusion Metoprolol Administration in Patients With Acute Myocardial Infarction*. *Journal of the American College of Cardiology*, 2014. **63**(22): p. 2356-2362.
32. Ibanez, B., et al., *Effect of early metoprolol on infarct size in ST-segment-elevation myocardial infarction patients undergoing primary percutaneous coronary intervention: the Effect of Metoprolol in Cardioprotection During an Acute Myocardial Infarction (METOCARD-CNIC) trial*. *Circulation*, 2013. **128**(14): p. 1495-503.
33. Chatterjee, S., et al., *Early intravenous beta-blockers in patients with acute coronary syndrome—A meta-analysis of randomized trials*. *International Journal of Cardiology*, 2013. **168**(2): p. 915-921.
34. Morrison, L.J., et al., *Mortality and Prehospital Thrombolysis for Acute Myocardial Infarction*. *Jama*, 2000. **283**(20).
35. 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.
36. Oler, A., *Adding Heparin to Aspirin Reduces the Incidence of Myocardial Infarction and Death in Patients With Unstable Angina*. *Jama*, 1996. **276**(10).
37. Eikelboom, J.W., et al., *Unfractionated heparin and low-molecular-weight heparin in acute coronary syndrome without ST elevation: a meta-analysis*. *The Lancet*, 2000. **355**(9219): p. 1936-1942.
38. 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.
39. *Collaborative overview of randomised trials of antiplatelet therapy Prevention of death, myocardial infarction, and stroke by prolonged antiplatelet therapy in various categories of patients*. *Bmj*, 1994. **308**(6921): p. 81-106.
40. Montalescot, G., et al., *Prehospital ticagrelor in ST-segment elevation myocardial infarction*. *N Engl J Med*, 2014. **371**(11): p. 1016-27.
41. Urban, P., et al., *Defining high bleeding risk in patients undergoing percutaneous coronary intervention: a consensus document from the Academic Research Consortium for High Bleeding Risk*. *European Heart Journal*, 2019. **40**(31): p. 2632-2653.
42. Husted, S., et al., *Ticagrelor versus clopidogrel in elderly patients with acute coronary syndromes: a substudy from the prospective randomized PLATelet inhibition and patient Outcomes (PLATO) trial*. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*, 2012. **5**(5): p. 680-8.
43. Gimbel, M., et al., *Clopidogrel versus ticagrelor or prasugrel in patients aged 70 years or older with non-ST-elevation acute coronary syndrome (POPular AGE): the randomised, open-label, non-inferiority trial*. *Lancet*, 2020. **395**(10233): p. 1374-1381.
44. Schupke, S., et al., *Ticagrelor or Prasugrel in Patients with Acute Coronary Syndromes*. *N Engl J Med*, 2019. **381**(16): p. 1524-1534.
45. 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.
46. 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.

47. Fazel, R., et al., *Comparison of Reperfusion Strategies for ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction: A Multivariate Network Meta-analysis*. J Am Heart Assoc, 2020. **9**(12): p. e015186.
48. Di Mario, C., et al., *Immediate angioplasty versus standard therapy with rescue angioplasty after thrombolysis in the Combined Abciximab REteplase Stent Study in Acute Myocardial Infarction (CARESS-in-AMI): an open, prospective, randomised, multicentre trial*. Lancet, 2008. **371**(9612): p. 559-68.
49. Cantor, W.J., et al., *Routine Early Angioplasty after Fibrinolysis for Acute Myocardial Infarction*. New England Journal of Medicine, 2009. **360**(26): p. 2705-2718.
50. Pinto, D.S., et al., *Hospital delays in reperfusion for ST-elevation myocardial infarction: implications when selecting a reperfusion strategy*. Circulation, 2006. **114**(19): p. 2019-25.
51. Pinto, D.S., et al., *Benefit of transferring ST-segment-elevation myocardial infarction patients for percutaneous coronary intervention compared with administration of onsite fibrinolytic declines as delays increase*. Circulation, 2011. **124**(23): p. 2512-21.
52. Richards, S.H., et al., *Psychological interventions for coronary heart disease: Cochrane systematic review and meta-analysis*. Eur J Prev Cardiol, 2018. **25**(3): p. 247-259.
53. Delgado-Lista, J., et al., *Long-term secondary prevention of cardiovascular disease with a Mediterranean diet and a low-fat diet (CORDIOPREV): a randomised controlled trial*. Lancet, 2022. **399**(10338): p. 1876-1885.
54. Critchley, J.A. and S. Capewell, *Mortality risk reduction associated with smoking cessation in patients with coronary heart disease: a systematic review*. JAMA, 2003. **290**(1): p. 86-97.
55. Chow, C.K., et al., *Association of diet, exercise, and smoking modification with risk of early cardiovascular events after acute coronary syndromes*. Circulation, 2010. **121**(6): p. 750-8.
56. Frederix, I., P. Dendale, and J.P. Schmid, *Who needs secondary prevention?* Eur J Prev Cardiol, 2017. **24**(3_suppl): p. 8-13.
57. 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*. Eur J Prev Cardiol, 2021. **28**(5): p. 460-495.
58. 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)*. Eur J Prev Cardiol, 2021. **28**(5): p. 496-509.
59. De Bacquer, D., et al., *Poor adherence to lifestyle recommendations in patients with coronary heart disease: results from the EUROASPIRE surveys*. Eur J Prev Cardiol, 2022. **29**(2): p. 383-395.
60. Benzer, W., et al., *Exercise-based cardiac rehabilitation in twelve European countries results of the European cardiac rehabilitation registry*. Int J Cardiol, 2017. **228**: p. 58-67.
61. Ference, B.A., et al., *Low-density lipoproteins cause atherosclerotic cardiovascular disease. 1. Evidence from genetic, epidemiologic, and clinical studies. A consensus statement from the European Atherosclerosis Society Consensus Panel*. Eur Heart J, 2017. **38**(32): p. 2459-2472.
62. 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.
63. Gencer, B., et al., *Efficacy of Evolocumab on Cardiovascular Outcomes in Patients With Recent Myocardial Infarction: A Prespecified Secondary Analysis From the FOURIER Trial*. JAMA Cardiol, 2020. **5**(8): p. 952-957.
64. McDonagh, T.A., et al., *2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure*. Eur Heart J, 2021. **42**(36): p. 3599-3726.
65. Dahl Aarvik, M., et al., *Effect of oral beta-blocker treatment on mortality in contemporary post-myocardial infarction patients: a systematic review and meta-analysis*. Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother, 2019. **5**(1): p. 12-20.
66. Pfeffer, M.A., et al., *Effect of captopril on mortality and morbidity in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. Results of the survival and ventricular enlargement trial. The SAVE Investigators*. N Engl J Med, 1992. **327**(10): p. 669-77.
67. Investigators, T.A.S., *Effect of ramipril on mortality and morbidity of survivors of acute myocardial infarction with clinical evidence of heart failure*. The Lancet, 1993. **342**(8875):

68. Heart Outcomes Prevention Evaluation Study, I., et al., *Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients*. N Engl J Med, 2000. **342**(3): p. 145-53.
69. Group, A.I.M.I.C., *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.
70. 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.
71. Yedlapati, S.H., et al., *Effects of Influenza Vaccine on Mortality and Cardiovascular Outcomes in Patients With Cardiovascular Disease: A Systematic Review and Meta-Analysis*. J Am Heart Assoc, 2021. **10**(6): p. e019636.
72. Liprandi, A.S., et al., *Influenza Vaccination for the Prevention of Cardiovascular Disease in the Americas: Consensus document of the Inter-American Society of Cardiology and the World Heart Federation*. Glob Heart, 2021. **16**(1): p. 55.
73. Phrommintikul, A., et al., *Influenza vaccination reduces cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome*. Eur Heart J, 2011. **32**(14): p. 1730-5.
74. Organization, W.H., *Guideline on haemoglobin cutoffs to define anaemia in individuals and populations*. 2024.
75. Moghaddam, N., et al., *Association of Anemia With Outcomes Among ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction Patients Receiving Primary Percutaneous Coronary Intervention*. Circ Cardiovasc Interv, 2018. **11**(12): p. e007175.
76. Herold, G., *Innere Medizin* 2022.
77. Czempik, P.F., et al., *Hospital-Acquired Anemia in Patients Hospitalized in the Intensive Care Unit: A Retrospective Cohort Study*. J Clin Med, 2022. **11**(14).
78. Carson, J.L., et al., *Effect of anaemia and cardiovascular disease on surgical mortality and morbidity*. Lancet, 1996. **348**(9034): p. 1055-60.
79. Anand, I., et al., *Anemia and its relationship to clinical outcome in heart failure*. Circulation, 2004. **110**(2): p. 149-54.
80. Sarnak, M.J., et al., *Anemia as a risk factor for cardiovascular disease in The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study*. J Am Coll Cardiol, 2002. **40**(1): p. 27-33.
81. Jung, C., et al., *The role of anemia on admission in acute coronary syndrome - An umbrella review of systematic reviews and meta-analyses*. Int J Cardiol, 2022. **367**: p. 1-10.
82. 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.
83. Sabatine, M.S., et al., *Association of hemoglobin levels with clinical outcomes in acute coronary syndromes*. Circulation, 2005. **111**(16): p. 2042-9.
84. 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.
85. Mamas, M.A., et al., *Relationship Between Anemia and Mortality Outcomes in a National Acute Coronary Syndrome Cohort: Insights From the UK Myocardial Ischemia National Audit Project Registry*. J Am Heart Assoc, 2016. **5**(11).
86. Wester, A., et al., *Impact of Baseline Anemia in Patients With Acute Coronary Syndromes Undergoing Percutaneous Coronary Intervention: A Prespecified Analysis From the VALIDATE-SWEDEHEART Trial*. J Am Heart Assoc, 2019. **8**(16): p. e012741.
87. Dauerman, H.L., et al., *Bleeding complications in patients with anemia and acute myocardial infarction*. Am J Cardiol, 2005. **96**(10): p. 1379-83.
88. Lipsic, E., et al., *Hemoglobin levels and 30-day mortality in patients after myocardial infarction*. Int J Cardiol, 2005. **100**(2): p. 289-92.
89. 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 Res Cardiol, 2020. **115**(4): p. 43.
90. Zindrou, D., K.M. Taylor, and J.P. Bagger, *Preoperative haemoglobin concentration and mortality rate after coronary artery bypass surgery*. Lancet, 2002. **359**(9319): p. 1747-8.
91. McKechnie, R.S., et al., *Prognostic implication of anemia on in-hospital outcomes after percutaneous coronary intervention*. Circulation, 2004. **110**(3): p. 271-7.

92. Habib, S. and A. Ali, *Biochemistry of nitric oxide*. Indian J Clin Biochem, 2011. **26**(1): p. 3-17.
93. Silbernagl, ed. *Physiologie*. 7. ed. 2014
94. Dhananjayan, R., et al., *Endothelial Dysfunction in Type 2 Diabetes Mellitus*. Indian J Clin Biochem, 2016. **31**(4): p. 372-9.
95. Gordge, M.P., *How cytotoxic is nitric oxide?* Exp Nephrol, 1998. **6**(1): p. 12-6.
96. Moncada, S., R.M. Palmer, and E.A. Higgs, *Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology*. Pharmacol Rev, 1991. **43**(2): p. 109-42.
97. 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.
98. Ford, P.C., D.A. Wink, and D.M. Stanbury, *Autoxidation kinetics of aqueous nitric oxide*. FEBS Lett, 1993. **326**(1-3): p. 1-3.
99. Kleinbongard, P., et al., *Plasma nitrite concentrations reflect the degree of endothelial dysfunction in humans*. Free Radic Biol Med, 2006. **40**(2): p. 295-302.
100. Rhodes, P., et al., *The L-arginine:nitric oxide pathway is the major source of plasma nitrite in fasted humans*. Biochem Biophys Res Commun, 1995. **209**(2): p. 590-6.
101. Lauer, T., et al., *Plasma nitrite rather than nitrate reflects regional endothelial nitric oxide synthase activity but lacks intrinsic vasodilator action*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2001. **98**(22): p. 12814-9.
102. Dejam, A., et al., *Emerging role of nitrite in human biology*. Blood Cells Mol Dis, 2004. **32**(3): p. 423-9.
103. Doyle, M.P. and J.W. Hoekstra, *Oxidation of nitrogen oxides by bound dioxygen in hemoproteins*. J Inorg Biochem, 1981. **14**(4): p. 351-8.
104. Malte Kelm*, H.P.-S., Michael Preik, Bodo E. Strauer, <Serum nitrite sensitively reflects endothelial NO formation in human forearm vasculature.pdf>. 1998.
105. Rassaf, T., et al., *Concomitant presence of N-nitroso and S-nitroso proteins in human plasma*. Free Radic Biol Med, 2002. **33**(11): p. 1590-6.
106. Stamler, J.S., et al., *Nitric oxide circulates in mammalian plasma primarily as an S-nitroso adduct of serum albumin*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992. **89**(16): p. 7674-7.
107. 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.
108. Rassaf, T., et al., *Plasma nitrosothiols contribute to the systemic vasodilator effects of intravenously applied NO: experimental and clinical Study on the fate of NO in human blood*. Circ Res, 2002. **91**(6): p. 470-7.
109. de Belder, A.J., et al., *Effects of S-nitroso-glutathione in the human forearm circulation: evidence for selective inhibition of platelet activation*. Cardiovasc Res, 1994. **28**(5): p. 691-4.
110. Heusch, G., et al., *Endogenous nitric oxide and myocardial adaptation to ischemia*. Circ Res, 2000. **87**(2): p. 146-52.
111. Rassaf, T., et al., *Positive effects of nitric oxide on left ventricular function in humans*. Eur Heart J, 2006. **27**(14): p. 1699-705.
112. Rassaf, T., et al., *Nitrite reductase function of deoxymyoglobin: oxygen sensor and regulator of cardiac energetics and function*. Circ Res, 2007. **100**(12): p. 1749-54.
113. Gladwin, M.T., et al., *Nitrite as a vascular endocrine nitric oxide reservoir that contributes to hypoxic signaling, cytoprotection, and vasodilation*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2006. **291**(5): p. H2026-35.
114. 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.
115. Gorressen, S., et al., *Circulating NOS3 modulates left ventricular remodeling following reperfused myocardial infarction*. PLoS One, 2015. **10**(4): p. e0120961.
116. Jones, S.P., et al., *Myocardial ischemia-reperfusion injury is exacerbated in absence of endothelial cell nitric oxide synthase*. Am J Physiol, 1999. **276**(5): p. H1567-73.
117. Kleinbongard, P., et al., *Red blood cells express a functional endothelial nitric oxide synthase*. Blood, 2006. **107**(7): p. 2943-51.
118. Gladwin, M.T., et al., *Role of circulating nitrite and S-nitrosohemoglobin in the regulation of regional blood flow in humans*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2000. **97**(21): p. 11482-7.
119. Dejam, A., et al., *Erythrocytes are the major intravascular storage sites of nitrite in human blood*. Blood, 2005. **106**(2): p. 734-9.

120. 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.
121. Singel, D.J. and J.S. Stamler, *Chemical physiology of blood flow regulation by red blood cells: the role of nitric oxide and S-nitrosohemoglobin*. Annu Rev Physiol, 2005. **67**: p. 99-145.
122. Kim-Shapiro, D.B., A.N. Schechter, and M.T. Gladwin, *Unraveling the reactions of nitric oxide, nitrite, and hemoglobin in physiology and therapeutics*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006. **26**(4): p. 697-705.
123. Gladwin, M.T. and A.N. Schechter, *NO contest: nitrite versus S-nitroso-hemoglobin*. Circ Res, 2004. **94**(7): p. 851-5.
124. Kobayashi, J., et al., *Nitric oxide bioavailability for red blood cell deformability in the microcirculation: A review of recent progress*. Nitric Oxide, 2022. **129**: p. 25-29.
125. 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.
126. Cortese-Krott, M.M. and M. Kelm, *Endothelial nitric oxide synthase in red blood cells: key to a new erythrocrine function?* Redox Biol, 2014. **2**: p. 251-8.
127. Nicolay, J.P., et al., *Inhibition of suicidal erythrocyte death by nitric oxide*. Pflugers Arch, 2008. **456**(2): p. 293-305.
128. Cortese-Krott, M.M., et al., *Red blood cell eNOS is cardioprotective in acute myocardial infarction*. Redox Biol, 2022. **54**: p. 102370.
129. 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.
130. Greenburg, A.G., *Pathophysiology of anemia*. Am J Med, 1996. **101**(2A): p. 7S-11S.
131. Brannon, E.S., et al., *The Cardiac Output in Patients with Chronic Anemia as Measured by the Technique of Right Atrial Catheterization*. J Clin Invest, 1945. **24**(3): p. 332-6.
132. 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.
133. Minneci, P.C., et al., *Hemolysis-associated endothelial dysfunction mediated by accelerated NO inactivation by decompartmentalized oxyhemoglobin*. J Clin Invest, 2005. **115**(12): p. 3409-17.
134. 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.
135. 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.
136. Radi, R., *Nitric oxide, oxidants, and protein tyrosine nitration*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2004. **101**(12): p. 4003-8.
137. Mathews, M.T. and B.C. Berk, *PARP-1 inhibition prevents oxidative and nitrosative stress-induced endothelial cell death via transactivation of the VEGF receptor 2*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008. **28**(4): p. 711-7.
138. Liaudet, L., G. Vassalli, and P. Pacher, *Role of peroxynitrite in the redox regulation of cell signal transduction pathways*. Front Biosci (Landmark Ed), 2009. **14**(12): p. 4809-14.
139. Diers, A.R., K.A. Broniowska, and N. Hogg, *Nitrosative stress and redox-cycling agents synergize to cause mitochondrial dysfunction and cell death in endothelial cells*. Redox Biol, 2013. **1**(1): p. 1-7.
140. Chennupati, R., et al., *Chronic anemia is associated with systemic endothelial dysfunction*. Front Cardiovasc Med, 2023. **10**: p. 1099069.
141. HAMPL, V., *Determination of Nitric Oxide by the*. Methods in nitric oxide research, 1996: p. 309.
142. Pelletier, M.M., et al., *The measurement of blood and plasma nitrite by chemiluminescence: pitfalls and solutions*. Free Radic Biol Med, 2006. **41**(4): p. 541-8.
143. Marley, R., et al., *A chemiluminescence-based assay for S-nitrosoalbumin and other plasma S-nitrosothiols*. Free Radic Res, 2000. **32**(1): p. 1-9.
144. Kleinbongard, P., et al., *Griess method for nitrite measurement of aqueous and protein-containing samples*. Methods Enzymol, 2002. **359**: p. 158-68.

145. Ishibashi, T., J. Yoshida, and M. Nishio, *New methods to evaluate endothelial function: A search for a marker of nitric oxide (NO) in vivo: re-evaluation of NOx in plasma and red blood cells and a trial to detect nitrosothiols*. J Pharmacol Sci, 2003. **93**(4): p. 409-16.
146. Pernow, J., et al., *Red blood cell dysfunction: a new player in cardiovascular disease*. Cardiovasc Res, 2019. **115**(11): p. 1596-1605.
147. Schulz, R., M. Kelm, and G. Heusch, *Nitric oxide in myocardial ischemia/reperfusion injury*. Cardiovasc Res, 2004. **61**(3): p. 402-13.
148. Talukder, M.A., et al., *eNOS is required for acute in vivo ischemic preconditioning of the heart: effects of ischemic duration and sex*. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010. **299**(2): p. H437-45.
149. Jia, L., et al., *S-nitrosohaemoglobin: a dynamic activity of blood involved in vascular control*. Nature, 1996. **380**(6571): p. 221-6.
150. Isbell, T.S., et al., *SNO-hemoglobin is not essential for red blood cell-dependent hypoxic vasodilation*. Nat Med, 2008. **14**(7): p. 773-7.
151. Cosby, K., et al., *Nitrite reduction to nitric oxide by deoxyhemoglobin vasodilates the human circulation*. Nat Med, 2003. **9**(12): p. 1498-505.
152. Park, J.W., et al., *Effect of blood nitrite and nitrate levels on murine platelet function*. PLoS One, 2013. **8**(2): p. e55699.
153. Cortese-Krott, M.M., *Red Blood Cells as a "Central Hub" for Sulfide Bioactivity: Scavenging, Metabolism, Transport, and Cross-Talk with Nitric Oxide*. Antioxid Redox Signal, 2020. **33**(18): p. 1332-1349.
154. 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.
155. Heusch, G., K. Boengler, and R. Schulz, *Cardioprotection: nitric oxide, protein kinases, and mitochondria*. Circulation, 2008. **118**(19): p. 1915-9.
156. 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.
157. 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.
158. Mittal, M., et al., *Reactive oxygen species in inflammation and tissue injury*. Antioxid Redox Signal, 2014. **20**(7): p. 1126-67.
159. Bulua, A.C., et al., *Mitochondrial reactive oxygen species promote production of proinflammatory cytokines and are elevated in TNFR1-associated periodic syndrome (TRAPS)*. J Exp Med, 2011. **208**(3): p. 519-33.
160. Cyr, A.R., et al., *Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction*. Crit Care Clin, 2020. **36**(2): p. 307-321.
161. Sena, C.M., A.M. Pereira, and R. Seica, *Endothelial dysfunction - a major mediator of diabetic vascular disease*. Biochim Biophys Acta, 2013. **1832**(12): p. 2216-31.
162. Gimbrone, M.A., Jr., *Vascular endothelium: an integrator of pathophysiologic stimuli in atherosclerosis*. Am J Cardiol, 1995. **75**(6): p. 67B-70B.
163. Rassaf, T., P. Kleinbongard, and M. Kelm, *The L-arginine nitric oxide pathway: avenue for a multiple-level approach to assess vascular function*. Biol Chem, 2006. **387**(10-11): p. 1347-9.
164. Hong, F.F., et al., *Roles of eNOS in atherosclerosis treatment*. Inflamm Res, 2019. **68**(6): p. 429-441.
165. Chen, J.Y., et al., *Nitric oxide bioavailability dysfunction involves in atherosclerosis*. Biomed Pharmacother, 2018. **97**: p. 423-428.
166. Kuhlencordt, P.J., et al., *Accelerated atherosclerosis, aortic aneurysm formation, and ischemic heart disease in apolipoprotein E/endothelial nitric oxide synthase double-knockout mice*. Circulation, 2001. **104**(4): p. 448-54.
167. Liao, J.K., *Linking endothelial dysfunction with endothelial cell activation*. J Clin Invest, 2013. **123**(2): p. 540-1.
168. Wolin, M.S., et al., *Oxidant-redox regulation of pulmonary vascular responses to hypoxia and nitric oxide-cGMP signaling*. Cardiol Rev, 2010. **18**(2): p. 89-93.
169. Potenza, M.A., et al., *Endothelial dysfunction in diabetes: from mechanisms to therapeutic targets*. Curr Med Chem, 2009. **16**(1): p. 94-112.

170. Landmesser, U., et al., *Oxidation of tetrahydrobiopterin leads to uncoupling of endothelial cell nitric oxide synthase in hypertension*. J Clin Invest, 2003. **111**(8): p. 1201-9.
171. Karbach, S., et al., *eNOS uncoupling in cardiovascular diseases--the role of oxidative stress and inflammation*. Curr Pharm Des, 2014. **20**(22): p. 3579-94.
172. Cortese-Krott, M.M., et al., *Human red blood cells at work: identification and visualization of erythrocytic eNOS activity in health and disease*. Blood, 2012. **120**(20): p. 4229-37.
173. Cortese-Krott, M.M., et al., *Identification of a soluble guanylate cyclase in RBCs: preserved activity in patients with coronary artery disease*. Redox Biol, 2018. **14**: p. 328-337.
174. Klutstein, M.W. and D. Tzivoni, *Anaemia and heart failure: aetiology and treatment*. Nephrol Dial Transplant, 2005. **20 Suppl 7**: p. vii7-10.
175. Horwich, T.B., et al., *Anemia is associated with worse symptoms, greater impairment in functional capacity and a significant increase in mortality in patients with advanced heart failure*. J Am Coll Cardiol, 2002. **39**(11): p. 1780-6.
176. Hu, H., et al., *Effects of anemia and blood transfusion in acute myocardial infarction in rats*. Transfusion, 2010. **50**(1): p. 243-51.
177. Dutsch, A., et al., *Association of In-Hospital Hemoglobin Drop With Decreased Myocardial Salvage and Increased Long-Term Mortality in Patients With Acute ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction*. J Am Heart Assoc, 2022. **11**(17): p. e024857.
178. Xenocostas, A., et al., *Erythropoietin is equally effective as fresh-blood transfusion at reducing infarct size in anemic rats*. Crit Care Med, 2010. **38**(11): p. 2215-21.
179. Bullard, A.J. and D.M. Yellon, *Chronic erythropoietin treatment limits infarct-size in the myocardium in vitro*. Cardiovasc Drugs Ther, 2005. **19**(5): p. 333-6.
180. Werdan, K., et al., *Infarktbedingter kardiogener Schock – Diagnose, Monitoring und Therapie*. Dtsch Arztebl International, 2021. **118**(6): p. 88-95.
181. Gili, S., et al., *Impact of blood transfusion on in-hospital myocardial infarctions according to patterns of acute coronary syndrome: Insights from the BleeMACS registry*. Int J Cardiol, 2016. **221**: p. 364-70.
182. Garfinkle, M., et al., *Red blood cell transfusion and mortality among patients hospitalized for acute coronary syndromes: a systematic review*. Int J Cardiol, 2013. **164**(2): p. 151-7.
183. Cooper, H.A., et al., *Conservative versus liberal red cell transfusion in acute myocardial infarction (the CRIT Randomized Pilot Study)*. Am J Cardiol, 2011. **108**(8): p. 1108-11.
184. Carson, J.L., et al., *Liberal versus restrictive transfusion thresholds for patients with symptomatic coronary artery disease*. Am Heart J, 2013. **165**(6): p. 964-971 e1.
185. Chatterjee, S., et al., *Association of blood transfusion with increased mortality in myocardial infarction: a meta-analysis and diversity-adjusted study sequential analysis*. JAMA Intern Med, 2013. **173**(2): p. 132-9.
186. Holst, L.B., J.L. Carson, and A. Perner, *Should red blood cell transfusion be individualized? No*. Intensive Care Med, 2015. **41**(11): p. 1977-9.
187. Sun, T., et al., *Oral L-arginine supplementation in acute myocardial infarction therapy: a meta-analysis of randomized controlled trials*. Clin Cardiol, 2009. **32**(11): p. 649-52.
188. Schulman, S.P., et al., *L-arginine therapy in acute myocardial infarction: the Vascular Interaction With Age in Myocardial Infarction (VINTAGE MI) randomized clinical trial*. JAMA, 2006. **295**(1): p. 58-64.
189. Rodrigues-Krause, J., et al., *Association of l-Arginine Supplementation with Markers of Endothelial Function in Patients with Cardiovascular or Metabolic Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis*. Nutrients, 2018. **11**(1).
190. Munzel, T. and A. Daiber, *Inorganic nitrite and nitrate in cardiovascular therapy: A better alternative to organic nitrates as nitric oxide donors?* Vascul Pharmacol, 2018. **102**: p. 1-10.
191. Moens, A.L., et al., *Reversal of cardiac hypertrophy and fibrosis from pressure overload by tetrahydrobiopterin: efficacy of recoupling nitric oxide synthase as a therapeutic strategy*. Circulation, 2008. **117**(20): p. 2626-36.
192. Moens, A.L. and D.A. Kass, *Tetrahydrobiopterin and cardiovascular disease*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2006. **26**(11): p. 2439-44.
193. Moens, A.L. and D.A. Kass, *Therapeutic potential of tetrahydrobiopterin for treating vascular and cardiac disease*. J Cardiovasc Pharmacol, 2007. **50**(3): p. 238-46.
194. Hattori, Y., et al., *Oral administration of tetrahydrobiopterin slows the progression of atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2007. **27**(4): p. 865-70.

195. Li, L., et al., *Tetrahydrobiopterin deficiency and nitric oxide synthase uncoupling contribute to atherosclerosis induced by disturbed flow*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2011. **31**(7): p. 1547-54.
196. Tratsiakovich, Y., et al., *Myocardial protection by co-administration of L-arginine and tetrahydrobiopterin during ischemia and reperfusion*. *Int J Cardiol*, 2013. **169**(1): p. 83-8.
197. Tiefenbacher, C.P., et al., *Endothelial dysfunction of coronary resistance arteries is improved by tetrahydrobiopterin in atherosclerosis*. *Circulation*, 2000. **102**(18): p. 2172-9.
198. Cunnington, C., et al., *Systemic and vascular oxidation limits the efficacy of oral tetrahydrobiopterin treatment in patients with coronary artery disease*. *Circulation*, 2012. **125**(11): p. 1356-66.
199. Fraccarollo, D., et al., *Improvement in left ventricular remodeling by the endothelial nitric oxide synthase enhancer AVE9488 after experimental myocardial infarction*. *Circulation*, 2008. **118**(8): p. 818-27.
200. Chen, L.L., H. Yin, and J. Huang, *Inhibition of TGF-beta1 signaling by eNOS gene transfer improves ventricular remodeling after myocardial infarction through angiogenesis and reduction of apoptosis*. *Cardiovasc Pathol*, 2007. **16**(4): p. 221-30.
201. Smith, R.S., Jr., et al., *Human endothelial nitric oxide synthase gene delivery protects against cardiac remodeling and reduces oxidative stress after myocardial infarction*. *Life Sci*, 2005. **76**(21): p. 2457-71.
202. Boughaleb, H., et al., *Biological Assessment of the NO-Dependent Endothelial Function*. *Molecules*, 2022. **27**(22).
203. Piknova, B., et al., *Electron paramagnetic resonance analysis of nitrosylhemoglobin in humans during NO inhalation*. *J Biol Chem*, 2005. **280**(49): p. 40583-8.
204. Dei Zotti, F., Lobysheva, II, and J.L. Balligand, *Nitrosyl-hemoglobin formation in rodent and human venous erythrocytes reflects NO formation from the vasculature in vivo*. *PLoS One*, 2018. **13**(7): p. e0200352.
205. Kurzer, M.S. and D.H. Calloway, *Nitrate and nitrogen balances in men*. *Am J Clin Nutr*, 1981. **34**(7): p. 1305-13.
206. Lee, K., et al., *Nitrate, nitrite balance, and de novo synthesis of nitrate in humans consuming cured meats*. *Am J Clin Nutr*, 1986. **44**(2): p. 188-94.
207. Jackson, J., et al., *The role of inorganic nitrate and nitrite in CVD*. *Nutr Res Rev*, 2017. **30**(2): p. 247-264.
208. Lundberg, J.O., et al., *Nitrate, bacteria and human health*. *Nat Rev Microbiol*, 2004. **2**(7): p. 593-602.
209. Yoshida, K., et al., *Biotransformation of nitric oxide, nitrite and nitrate*. *Int Arch Occup Environ Health*, 1983. **52**(2): p. 103-15.
210. Schramm, L., et al., *L-arginine deficiency and supplementation in experimental acute renal failure and in human kidney transplantation*. *Kidney Int*, 2002. **61**(4): p. 1423-32.

9 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Prof. Dr. Malte Kelm für seine hervorragende Unterstützung und Förderung während und nach der gesamten Entstehung dieser Dissertation. Ich danke ihm herzlich für die Möglichkeit, meine Forschung im Rahmen seiner Arbeitsgruppe durchzuführen.

Herrn Prof. Dr. Ulrich Germing danke ich besonders für die spontane Übernahme des Zweitgutachten.

Frau Dr. Patricia Wischmann danke ich besonders für die fachliche als auch emotionale Unterstützung im Rahmen der Arbeit über die letzten Jahre. Ihre fachliche Kompetenz, ihr Vertrauen in meine Arbeit und ihre stetige Bereitschaft, wertvolle Anregungen und konstruktive Kritik zu geben, haben maßgeblich zum Erfolg dieser Arbeit beigetragen.

Auch allen Mitarbeitern und Mitarbeiterinnen des kardiologischen Labors danke ich für die Erfahrungen, die ich sammeln durfte und die Hilfe und Unterstützung während meiner Zeit im Labor.

Zum Schluss danke ich insbesondere meiner Familie, meinen Freunden und meinem Partner, die mich immer unterstützen und mich zu der Person gemacht haben, die ich heute bin. Ihnen widme ich in Liebe diese Arbeit.