

Aus der Klinik für Kardiologie, Pneumologie, Angiologie
und Internistische Intensivmedizin
(Direktor Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaus Marx)

Das prothrombotische Risiko Typ 2 diabetischer Patienten in der stabilen und
instabilen koronaren Herzerkrankung

Von der Medizinischen Fakultät der Rheinisch-Westfälischen Technischen
Hochschule Aachen zur Erlangung des akademischen Grades eines Doktors der
Medizin genehmigte Dissertation

vorgelegt von

Martin Berger, M.Sc.

aus Mönchengladbach

Berichter: Herr Universitätsprofessor
Dr. med. Nikolaus Marx

Herr Universitätsprofessor
Dr. med. Jürgen Floege

Tag der mündlichen Prüfung: 18. Februar 2015

***Diese Dissertation ist auf den Internetseiten der Universitätsbibliothek online
verfügbar.***

Für Merle. Für meine Eltern. Vielen Dank für die Unterstützung.

Inhaltsverzeichnis

1. Diabetes mellitus	1
1.1 Diabetes und die koronare Herzerkrankung	2
1.2 Der vulnerable Patient.....	3
1.2.1 Das vulnerable Gefäß.....	3
1.2.2 Das vulnerable Myokard.....	5
1.2.3 Das vulnerable Blut	6
1.2.3.1 Die diabetische Thrombozytopathie	7
1.2.3.2 Veränderungen der plasmatischen Gerinnung bei Patienten mit Diabetes	7
1.3 Die plasmatische Gerinnung bei Patienten im akuten Myokardinfarkt	10
2. Fragestellung.....	11
3. Methoden	12
3.1 Chemikalien und Verbrauchsmaterial	12
3.2 Geräte und Software	12
3.3 ELISA - Kits.....	13
3.4 Biobank der medizinischen Klinik I.....	13
3.4.1 Selektion der Patienten – Studie.....	14
3.4.2 Dokumentation der Medikation	15
3.5 Enzyme Linked Immunosorbent Assay.....	17
3.5.1 Enzyme Linkend Immunosorbent Assay – Humanes PAI-1	17
3.5.2 Enzyme Linkend Immunosorbent Assay – Humanes Fibrinogen	18
3.6 Turbidimetrie und Lyse Assay	20
3.7 Statistische Auswertung.....	21
3.8 Patientenpopulation und Exklusion	22
4. Resultate	23
4.1 Patientenpopulation.....	23
4.1.1 Patientenpopulation – Patientencharakteristika.....	23
4.1.2 Patientenpopulation – Laborparameter	23
4.1.3 Patientenpopulation – Medikation	24
4.2 Fibringerinnsel-Dichte.....	27
4.3. Fibrinolyse-Dauer.....	28
4.4 Einfluss von PAI - 1 auf die Fibrinolyse Dauer.....	31
4.5 Einfluss des Fibrinogen auf die Fibrinolyse-Dauer.....	35

4.6 ANCOVA für Status der koronaren Herzerkrankung	37
4.7 Lineare Regression – Patientencharakteristika	38
4.8 Lineare Regression – Laborparameter.....	40
4.9 Lineare Regression - Medikation	43
5. Diskussion	46
5.1. Fibringerinnsel-Struktur und Fibrinolyse-Dauer bei Patienten mit Diabetes und metabolisch gesunden Patienten	46
5.2 Der medikamentöse Einfluss auf die Fibrinolyse-Dauer.....	53
5.3 Limitationen:	57
5.4 Fazit.....	58
5.5 Zusammenfassung.....	58
Literaturverzeichnis:	60
Danksagung	70

Abkürzungen:

8-iso-PGF ₂ α	8-iso-Prostaglandin 2 α
ACS	Acute Coronary Syndrome
AGE	Advanced Glycation Endproducts
ANCOVA	Analysis of Covariances
AM	Activation Mix
AU	Arbitrary Units
BMI	Body Mass Index
CD	Cluster of Differentiation
CRP	C reaktives Protein
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
eNOS	Endothelial Nitric Oxide Synthase
FACS	Flow assisted Cell sorting
GP IIb/IIIa	Glycoprotein IIb/IIIa
HbA1c	Glykohämoglobin
HF-REF	Heart Failure with reduced ejection Fraction
ICAM 1	Intracellular Adhesion Molecule 1
IFN-γ	Interferon Gamma
Ila	Thrombin
IKHK	Instabile Koronare Herzerkrankung
iNOS	Inducible Nitric Oxide
KKS	Koordinierungszentrum für kardiologische Studien
LDL	Low Density Lipoprotein
LM	Lysis Mix
MMP	Matrix Metalloproteasen
N	Anzahl
NO	Nitric Oxide
NSTEMI	Non ST-Elevation Myocardial Infarction
PAI-1	Plasminogen Activator Inhibitor
PAR	Protease activated Receptor
PCI	Percutaneous Coronary Intervention
PKC	Protein Kinase C
PB	Permeation Buffer
ROS	Reactive Oxygen Species
SERCA2	Sarco/endoplasmatic reticulum calcium
SMC	Smooth muscle cells
STEMI	ST Elevation Myocardial Infarction
TAH	Thrombozytenaggregationshemmung
TCFA	Thin Cap Fibroatheromas
TF	Tissue Factor
TMB	3,3' 5,5' Tetramethylbenzidine
TNF α	Tumor Necrosis Factor Alpha
TTE	Transösophageale Echokardiographie

VCAM - 1	Vascular Adhesion Molecule 1
WBC	White Blood Cell Count
WHO	World Health Organization

1. Diabetes mellitus

Der Diabetes mellitus ist ein Sammelbegriff für eine Gruppe von Stoffwechselerkrankungen, die sich durch erhöhte Blutzuckerspiegel kennzeichnen (American Diabetes Association 2009). Der Diabetes und assoziierte Folgeerkrankungen gehören zu den häufigsten weltweit dokumentierten Todesursachen. Nach Schätzungen der Weltgesundheitsorganisation (WHO) sind weltweit ca. 347 Millionen Menschen betroffen (Danaei et al. 2011). Innerhalb Europas sind derzeit laut Diabetes Federation rund 52 Millionen Menschen erkrankt. Für das Jahr 2030 wird ein Zuwachs von 12 Millionen Neuerkrankungen auf insgesamt 64 Millionen Patienten prognostiziert (International Diabetes Federation 2011). Die Erkrankung wird ätiologisch überwiegend in zwei Hauptgruppen unterteilt. Patienten mit einem Typ I Diabetes weisen ein absolutes Insulindefizit auf, welches durch die autoimmunologische Destruktion der Insulin produzierenden β - Zellen im Pankreas entsteht (Atkinson and Maclaren 1994). Der überwiegende Teil der Patienten erkrankt am sogenannten Typ II Diabetes. Der Typ II Diabetes wird durch ein relatives Insulindefizit bei gleichzeitig zunehmender Insulinresistenz in den peripheren Geweben charakterisiert. Dies führt zu einer vermehrten Insulinproduktion in den pankreatischen β – Zellen bis zur Überreizung und letztlich dem Versagen der β – Zellen mit rasch progredienter Insulinresistenz (*Abbildung 1*) (European Society of Cardiology - Guidelines 2013). Neben genetischen- und Umweltfaktoren entsteht der Diabetes mellitus Typ II überwiegend im Kontext des sogenannten ‚Metabolischen Syndroms‘. Das Metabolische Syndrom setzt sich je nach Definition der Fachgesellschaften aus den folgenden Komponenten zusammen: Insulinresistenz (I), viszeraler Adipositas (II), einer Lipidstoffwechselstörung (III). und einem arteriellen Hypertonus (IV). Studien haben gezeigt, dass Patienten, die die Kriterien des Metabolischen Syndroms erfüllen, ein bis zu fünffach erhöhtes Risiko haben an einem Diabetes Typ II zu erkranken (Alberti et al. 2009).

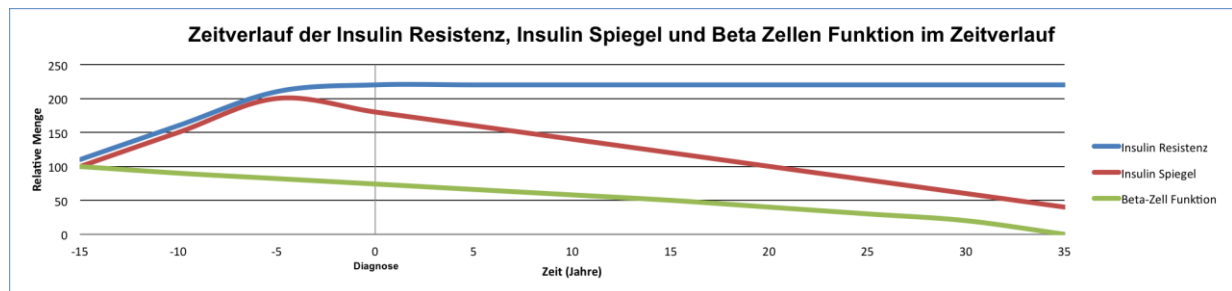


Abbildung 1: Beschreibende zeitliche Beziehung beim Typ II Diabetes zwischen Insulinresistenz, Insulin Spiegel und Beta-Zell Funktion (modifiziert nach (European Society of Cardiology - Guidelines 2013))

1.1 Diabetes und die koronare Herzerkrankung

Der Grundstein zur Klärung der Beziehung zwischen dem Diabetes mellitus und der koronaren Herzerkrankung wurde im Jahre 1979 durch den von Kannel und McGee veröffentlichten Artikel „*Diabetes and cardiovascular disease: The Framingham Study*“ gelegt (Kannel and McGee 1979). Die Autoren hatten über einen Zeitraum von 20 Jahren Patienten im Alter zwischen 45 und 74 Jahren aus der Framingham Kohorte unter anderem im Hinblick auf den Einfluss eines Diabetes mellitus und kardiovaskulärer Endpunkte untersucht. Die Framingham Studie war die erste generationsübergreifende, longitudinale Studie, die mit einer entsprechenden Größe in der Lage war, Risikofaktoren für koronare Herzerkrankungen zu identifizieren (Meigs 2010). In der Studie konnte zum ersten Mal nachgewiesen werden, dass Patienten mit Diabetes im direkten Vergleich zu Patienten ohne Diabetes ein zwei- bis dreifach erhöhtes Risiko für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankung haben (Kannel and McGee 1979). Durch intensivierte Therapien konnte das absolute Risiko eines Patienten mit Diabetes ein kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden im Laufe der Jahre um 49% gesenkt werden. Trotz dieser absoluten Senkung bleibt das relative Risiko des Patienten mit Diabetes unverändert 2-fach erhöht (Fox et al. 2004). Die enge Beziehung zwischen der koronaren Herzerkrankung und dem Diabetes Typ II hat zur Formulierung der sogenannten ‚*Common Soil Hypothese*‘ von Stern geführt (Stern 1995). Die ‚*Common Soil Hypothese*‘ besagt, dass die durch das Fettgewebe vermittelte subklinische Inflammation sowohl zur Entstehung der Arteriosklerose und

als auch zur Entwicklung des Diabetes mellitus beitragen. Beide Erkrankungen haben somit eine gemeinsame Wurzel. Diese auf hauptsächlich auf epidemiologischen Daten basierte Annahme wird nun vermehrt durch experimentelle Daten gestützt. So konnte beispielsweise gezeigt werden, dass eine latente Inflammation durch vermehrten oxidativen Stress und die daraus resultierende endotheliale Dysfunktion ein grundlegender Bestandteil in der Entstehung beider Erkrankungen ist (Ross 1999, Hess and Grant 2011). Die enge Beziehung zwischen Diabetes mellitus und koronarer Herzerkrankung wurde 1998 epidemiologisch von Haffner und Kollegen demonstriert. Haffner et al. wiesen in einer finnischen Kohorte nach, dass Patienten mit einem Diabetes mellitus ohne kardiovaskuläre Erkrankung dasselbe Risiko haben, einen akuten Myokardinfarkt zu entwickeln wie Patienten ohne Diabetes mit einem vorhergegangenen Infarkt. Der Diabetes mellitus wird daher als Risikoäquivalent für einen Myokardinfarkt angesehen (Haffner et al. 1998). Ursächlich hierfür sind unter anderem instabilere Plaques, frühzeitigere Plaquerupturen und eine vermehrte Thrombusformation bei Diabetespatienten wie in humanen Gewebstudien von Moreno et al. und Stratmann et al. gezeigt werden konnte (Moreno et al. 2000, Stratmann and Tschoepe 2009).

1.2 Der vulnerable Patient

Patienten mit Diabetes mellitus gelten als vulnerabele Patienten im Hinblick auf ihr erhöhtes kardiovaskuläres Risiko. Es wurde lange angenommen, dass isolierte arteriosklerotische Veränderungen im Gefäß dieses Risiko determinieren, allerdings gibt es nun vermehrte Evidenz, dass ebenfalls Veränderungen des Blutes und des Myokards einen wichtigen Einfluss auf das erhöhte kardiovaskuläre Risiko haben. Das Konzept des vulnerablen Patienten beinhaltet somit 3 Aspekte, die in ihrer Gesamtheit das kardiovaskuläre Risiko von Patienten mit Diabetes bestimmen: Das vulnerable Gefäß (I), das vulnerable Myokard (II) und das vulnerable Blut (III).

1.2.1 Das vulnerable Gefäß

Die endotheliale Dysfunktion ist die Grundlage der diabetischen Vaskulopathie und bildet somit den Boden des vulnerablen Gefäßes des Patienten mit Diabetes. Durch eine Dysfunktion des Endothels kommt es zu einer vermehrten Akkumulation von Low Density Lipoprotein (LDL) in der Intima, welches durch Reactive Oxygen

Species (ROS) und proinflammatorische Zellen oxidiert wird. Dies führt zur vermehrten Expression von Adhäsionsmolekülen und somit zur vermehrten intimalen Infiltration von Makrophagen und Lymphozyten. Makrophagen internalisieren das oxidierte LDL und bilden sich zu sogenannten Schaumzellen um. Diese Konstellation wird ‚Fatty Streak‘ genannt. Dieser Prozess bildet über Jahrzehnte einen fibroatheromatösen Plaque, der durch eine fibröse Kappe aus proliferierten glatten Muskelzellen und Kollagen bedeckt ist. In instabilen Plaques werden die glatten Muskelzellen durch Makrophagen und Lymphozyten ersetzt, die zu einer progressiven Verdünnung der Kappe führen, letztendlich mit Ruptur, Thrombusauflagerung und konsekutiv dem akuten Myokardinfarkt (Weber and Noels 2011).

Bei Patienten mit Typ II Diabetes wird die endotheliale Dysfunktion durch eine persistierende Hyperglykämie und vermehrtes Vorkommen proinflammatorischer Zytokinen wie Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF α) und Interleukin 6 (IL-6) aus dem viszeralen Fettgewebe verursacht (Jian and Ming-H 2009). Darüber hinaus ist das Endothel bei Patienten mit Diabetes einer erhöhten oxidativen Stressbelastung ausgesetzt. Die erhöhte ROS-Produktion entsteht sowohl direkt durch die Hyperglykämie als auch indirekt durch eine gesteigerte Protein Kinase C – Aktivität (PKC) (Hink et al. 2001). Dies führt zu einer Aktivierung des Endothels und kann somit zu einer vermehrten Expression von Adhäsionsmolekülen Vascular Adhesion Molecule 1 (VCAM-1) und Intracellular Adhesion Molecule 1 (ICAM-1) führen, die wiederum die Infiltration von CD4-positiven Lymphozyten und Makrophagen erhöhen. Dies führt zur vermehrten Produktion der proinflammatorischen Zytokine IL-1 und TNF- α (Morigi et al. 1998). Stickstoffmonoxid (NO) ist als wichtiger Mediator der endothelialen Vitalität bei Patienten mit einem Diabetes reduziert (Jian and Ming H 2009, Hess et al. 2012). Es entsteht ein Ungleichgewicht zwischen ROS- und NO-Produktion, zugunsten der ROS-Produktion. Es konnte gezeigt werden, dass das superoxide Anion (O_2^-) mit NO Peroxynitrit ($ONOO^-$) bildet, welches über Nitrosylierung die Aktivität der Endothelien Stickstoffmonoxid Synthase (eNOS) hemmt und somit die NO Synthese reduziert (Creager 2003).

Experimentelle Daten implizieren, dass der Progress der atherosklerotischen Plaqueformation durch einen direkten Effekt der Hyperglykämie beim Patienten mit

Diabetes über Osteopontin, Vitronectin und Thrombospondin auf die glatten Muskelzellen beschleunigt wird (Maile et al. 2007).

Die Plaqueruptur wird beim Patienten mit Diabetes durch ein vermehrtes Vorliegen von instabilen Plaques, sogenannten Thin-Cap-Fibroatheromas (TCFA), begünstigt (Hong et al. 2009). Es konnte gezeigt werden, dass das Vorliegen des TCFA Phänotyps mit der Dauer des Diabetes assoziiert ist (Jason et al. 2009). Biopsiestudien von diabetischen, arteriosklerotischen Plaques zeigten, dass diese im Vergleich zu Patienten ohne Diabetes eine signifikant erhöhte Makrophageninfiltration aufweisen, die somit die erhöhte Vulnerabilität des Plaques erklären (Moreno et al. 2000).

1.2.2 Das vulnerable Myokard

Bereits in der Framingham Studie konnte gezeigt werden, dass Patienten mit Diabetes im direkten Vergleich zur allgemeinen Bevölkerung ein vier- bis fünffach erhöhtes Risiko haben, im Laufe ihres Lebens eine Herzinsuffizienz zu entwickeln (Kannel et al. 1974). Echokardiographische Studien haben nachgewiesen, dass Patienten mit einem insulinunabhängigen Diabetes ein signifikant höheres Risiko auf eine LV -Hypertrophie sowie auf ein global reduziertes LV-Schlagvolumen haben (Devereux et al. 2000). Die Pathophysiologie des vulnerablen Myokards ist zum jetzigen Zeitpunkt nur unzureichend geklärt, allerdings konnten verschiedene metabolische Auswirkungen auf das Myokard gezeigt werden. Es stellte sich heraus, dass Patienten mit Diabetes einen veränderten myokardialen Metabolismus aufweisen, der sich aufgrund des durch die Insulinresistenz bedingten relativen Minderangebots an Glukose auf die Lipolyse von nicht veresterten Fettsäuren umstellt (Rijzewijk et al. 2009). Hierdurch steigt der myokardiale Sauerstoffbedarf, der wiederum die Sensibilität des Herzens in der Ischämie erhöht (Paulson 1997, Stanley et al. 1997). Neben dem veränderten Metabolismus führen die durch Hyperglykämie entstandenen Advanced Glycation Endproducts (AGEs) zu einer Mikroangiopathie, die die myokardiale Sauerstoffversorgung weiter einschränkt (Donaldson et al. 2010). Die vermehrte Aufnahme von Fettsäuren führt bei reduziertem Sauerstoffangebot hingegen zu einer Akkumulation, sodass unter anderem das toxische Metabolit Ceramide gebildet wird. Es konnte gezeigt werden,

dass Ceramide über vermehrte induzierbare Stickstoffmonoxid Synthase (iNOS) Aktivität Apoptose in Kardiomyocyten induzieren kann (T. et al. 2000).

Elektrochemisch zeigt sich in Kardiomyozyten diabetischer Patienten ein erhöhter Ca^{2+} -Spiegel, welcher die ventrikuläre Relaxation negativ beeinflusst und das Entstehen einer diastolischen Pumpfunktionsstörung und zusätzlich, durch verlängerte QT Intervalle, das Entstehen von Arrhythmien begünstigt (Vasanji et al. 2004).

Tabelle 1: Übersicht biochemischer und klinischer Veränderungen im vulnerablen Gefäß und Myokard in Patienten mit Diabetes mellitus Typ II (ROS: Reactive Oxygen Species; TNF- α : Tumor Necrosis Factor Alpha, NO: Nitric Oxide; TCFA: Thin Cap Fibroatheroma; LV: Linker Ventrikel; HF-REF: Heart Failure Reduced Ejection Fraction).

<i>Vulnerables Gefäß</i>	<i>Vulnerables Myokard</i>
↑ ROS (O_2^- , ONOO^-)	↑ LV – Hypertrophie
↑ Inflammatorische Zytokine (TNF- α , IL-1, IL-6)	↑ HF-REF
↑ aktivierte Endothel (VCAM-1, ICAM-1	↑ O_2 Bedarf
↓ NO Synthese (eNOS)	↑ Deposition toxischer Metaboliten (Ceramide)
↑ TCFA	↑ Ca^{2+} Spiegel
↑ Makrophagen Infiltration	

1.2.3 Das vulnerable Blut

Das vulnerable Blut beschreibt Komponenten im Blut, die zum prothrombotischen Risiko des Patienten mit Diabetes beitragen und somit das Risiko auf ein kardiovaskuläres Ereignis erhöhen. Während das Konzept des vulnerablen Gefäßes die Grundlage für die arteriosklerotischen Plaques und letztendlich den Myokardinfarkt bildet und das vulnerable Myokard die Anfälligkeit des Herzens gegenüber metabolischen Störungen bestimmt, sind in der Akutphase, also der Plaqueruptur und Thrombusformation, die Komponenten des vulnerablen Blutes entscheidend. Die Faktoren, die zu einem erhöhten prothrombotischen Risiko der diabetischen Patienten beitragen, können in die diabetische Thrombozytopenie (I)

und Veränderung der plasmatischen Gerinnung (II) unterteilt werden. Auf die folgenden Komponenten wird im nächsten Abschnitt detailliert eingegangen.

1.2.3.1 Die diabetische Thrombozytopathie

Die diabetische Thrombozytopathie beschreibt eine Hyperreaktivität der Thrombozyten, die sich sowohl bei Patienten mit Typ I und Typ II Diabetes nachweisen lässt (Halushka et al. 1981). Es konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit Diabetes AGEs selektiv an CD36 - (Glycoprotein IIIb) Rezeptoren binden und Thrombozyten über diese Bindung aktivieren können (Ni 2012). Thrombozyten von Patienten mit Diabetes zeigen reduzierte Magnesiumspiegel und eine erhöhte Calciummobilisation aus Vesikeln, die wiederum mit einer erhöhten Aktivität assoziiert sind (Gawaz et al. 1994, Watala et al. 1998). Eine verstärkte Thrombozyten-Endothel Bindung wird bei Patienten mit einem Diabetes mellitus durch eine herabgesetzte Produktion von NO und Prostacyclin verursacht (Martina et al. 1998). Studien haben gezeigt, dass diabetische Thrombozyten durch Glykosylierung vermehrte Subpopulationen mit GPIIb-IIIa, Thrombospondin und P-Selectin exprimieren, so dass diese Thrombozyten in einem proaktiven Zustand sind und eher durch Agonisten stimuliert werden können (Tschoepe et al. 1997). Ein weiterer Mechanismus ist der oxidative Stress, der Thrombozyten in einen hyperreaktiven Zustand im Rahmen des proinflammatorischen Milieus versetzt. Faktoren, die hierzu beitragen, sind erhöhte intrazelluläre Ca^{2+} Konzentrationen und die Synthese von 8-iso-prostaglandin $\text{F}_{2\alpha}$ aus oxidiertem LDL, das zur vermehrten Aktivierung der Thrombozyten beiträgt (Praticò et al. 1996, Ferretti et al. 2002).

1.2.3.2 Veränderungen der plasmatischen Gerinnung bei Patienten mit Diabetes

Tissue Faktor (TF) ist der Initiator der Koagulationskaskade und führt über eine Komplexbildung mit FVIIa zur Aktivierung von Faktor IX und Faktor X. Der aktivierte Faktor Xa bildet mit den Faktoren Va und Ca^{2+} den sogenannten Prothrombinase Komplex und initiiert somit die Spaltung von Prothrombin in Thrombin. Dieser Prozess kann durch aktiviertes Protein C, über die Inaktivierung von Faktor Va, gestoppt werden. Thrombin spaltet wiederum Fibrinogen in Fibrin, welches zusammen mit dem stabilisierenden Faktor XIIIa ein dichtes Fibrinnetzwerk um den

Plättchenthrombus ausbildet. Das entstandene Fibrinnetzwerk kann über Plasmin, welches über Urokinase- und Tissue-Plasminogen Aktivator (uPA und tPA) aus Plasminogen gebildet wird, lysiert werden (Owens and Mackman 2010). Studien konnten zeigen, dass Patienten mit einem Diabetes mellitus dichtere Fibringerinnsel-Netzwerke und eine verlängerte Fibrinolyse aufweisen (Alzahrani and Ajjan 2010). Des Weiteren konnte wiederholt gezeigt werden, dass dichtere Fibringerinnsel Netzwerke und eine verlängerte Fibrinolyse das Risiko auf eine arterielle Thrombose erhöhen (Meltzer et al. 2009, Karin et al. 2012, Siegerink et al. 2012). Es wird daher angenommen, dass das kardiovaskuläre Risiko der Patienten mit Diabetes durch die Alterationen in der Koagulation mitbestimmt wird. Auf die einzelnen Faktoren soll im folgenden eingegangen werden.

Patienten mit einem Diabetes mellitus exprimieren erhöhte TF-Spiegel, die sowohl durch oxidativen Stress als auch durch Hyperglykämie und latente Inflammation entstehen können (Min et al. 1999, Boden and Rao 2007, Boden et al. 2007). Ebenfalls konnte nachgewiesen werden, dass Adipozyten in der Lage sind TF zu produzieren (Samad et al. 1998). Eine weitere Rolle spielen Mikropartikel (MP), die als Abschnürungen bei Zellaktivierungen oder Apoptose freigegeben werden. Studien haben gezeigt, dass MPs bei Patienten mit Diabetes vermehrt TF transportieren und somit zur Hyperkoagulabilität beitragen können (Tsimerman et al. 2011).

Die Rolle von Faktor VIIa ist aktuell noch unzureichend geklärt. Zwar korreliert der Faktor VIIa mit einem erhöhten Risiko auf einen Myokardinfarkt, allerdings scheinen die Werte mit erhöhten Triglyceridspiegeln und Adipositas zu korrelieren, sodass der Einfluss auf die Hyperkoagulabilität auch im Rahmen des metabolischen Syndroms zu deuten ist (Meade et al. 1986, Vambergue et al. 2001). Collet et al. konnten in einer Übersichtsarbeit weiterhin zeigen, dass Faktor VIII, XI und XII beim diabetischen Patienten erhöht und das antikoagulatorische Protein C erniedrigt sind (Carr 2001).

Die Hyperglykämie bei Patienten mit Diabetes ist weiterhin mit erhöhten Thrombin-Plasmaspiegeln assoziiert. Erhöhte Plasmaspiegel tragen wiederum über eine erhöhte Umsetzung von Fibrinogen zu Fibrin zu dichteren und weniger permeablen Fibringerinnseln bei. Es konnte gezeigt werden, dass bei Patienten mit Diabetes

eine gesteigerte Thrombinsynthese zum prothrombotischen Milieu beiträgt (Undas et al. 2008, Ceriello et al. 2009).

Fibrinogenspiegel sind bei Patienten mit Diabetes erhöht und stellen einen unabhängigen Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen dar (Klein et al. 2003, Corrado et al. 2010). Die vermehrte Glykosylierung von Fibrinogen führt zur Ausbildung von dichteren und kompakteren Fibrinnetzwerken, die für eine Lyse durch Plasmin weniger zugänglich sind und somit die Fibrinolyse des Patienten mit Diabetes verzögern (Dunn et al. 2005).

Collet et al. wiesen nach, dass eine ineffektive Fibrinolyse mit prämaternen kardiovaskulären Ereignissen assoziiert ist (Collet et al. 2006). Neben dem glykosylierten Fibrinogen spielt der Serinprotease-Inhibitor PAI- 1 eine entscheidende Rolle in der diabetischen Hypofibrinolyse. PAI-1 inhibiert die Fibrinolyse indem es einen Komplex mit tPA bildet, welches somit in seiner Funktion inaktiviert wird. Ungebunden katalysiert tPA die Konversion von Plasminogen in Plasmin, welches sehr effektiv Fibringerinnung lysiert (Hess and Grant 2011). PAI -1 Spiegel sind bei Patienten mit Diabetes erhöht und ebenfalls ein unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen (Auwerx et al. 1988, Juhan-Vague et al. 1989, Brazionis et al. 2008). Darüber hinaus sind Adipozyten und Makrophagen in der Lage PAI-1 zu produzieren (Loskutoff and Samad 1998). Dieser Effekt steht sowohl unter Einfluss proinflammatorischer Zytokinen als auch von Insulin, welches in Experimenten Adipozyten zur PAI-1 Produktion anregen konnte (Fain and Madan 2005).

Tabelle 2: Biochemische Veränderungen bei Patienten mit einem Diabetes mellitus

<i>Vulnerables Blut</i>	
<i>Diabetische Thrombozytopathie</i>	<i>Veränderungen der plasmatischen Gerinnung</i>
↑ AGE- CD36 Bindung	↑ Tissue Factor
↓ Magnesium Spiegel	↑ Thrombin
↑ Ca ²⁺ Mobilisation	↑ Fibrinogen
↑ GPIIb-IIIa, Thrombospondin und P-Selectin Expression	↑ FVIIa, FVIIIa, FXIa, FXIIa
↑ 8-iso-prostaglandin F2α	↓ APC
	↑ PAI - 1

1.3 Die plasmatische Gerinnung bei Patienten im akuten Myokardinfarkt

Das erhöhte kardiovaskuläre Risiko von Patienten mit Diabetes wird unter anderem durch Veränderungen der plasmatischen Gerinnung und eine dichtere Fibringerinnsel Struktur beeinflusst (vgl. 1.2.3. Das vulnerable Blut). Undas et al konnten kürzlich demonstrieren, dass metabolisch gesunde Patienten im Rahmen eines akuten Myokardinfarkt eine verlängerte Fibrinolyse und eine dichtere Fibringerinnsel Struktur aufweisen (Undas et al. 2008). Unklar ist allerdings inwieweit sich die plasmatische Gerinnung und die Fibringerinnsel Struktur bei Patienten mit Diabetes im akuten Myokardinfarkt verändert. Bisher fehlen Studien, die gezielt die Auswirkung eines akuten Myokardinfarkts auf die Fibringerinnselstruktur und Fibrinolyse bei Patienten mit Diabetes näher untersucht haben.

2. Fragestellung

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Veränderungen des prothrombotischen Profils in der instabilen, koronaren Herzerkrankung näher zu untersuchen. Hierzu sollen vor allem Unterschiede zwischen metabolisch gesunden Individuen und Patienten mit Diabetes mellitus näher analysiert werden. Hieraus leiten sich die folgenden Fragestellungen ab:

1. Zu welchen Veränderungen des Gerinnungssystems kommt es bei Patienten mit Diabetes und metabolisch gesunden Individuen im Hinblick auf die stabile und instabile koronare Herzerkrankung.
2. Gibt es Einflussfaktoren, welche die Koagulation beim Patienten mit Diabetes im akuten Myokardinfarkt beeinflussen ?
3. Gibt es Gemeinsamkeiten zwischen Patienten mit Diabetes und metabolisch gesunden Individuen im Myokardinfarkt im Hinblick auf die Fibrinolyse-Dauer und Fibringerinnsel-Dichte?

3. Methoden

Im folgenden Abschnitt werden die für die Analysen notwendigen Verfahren und Techniken sowie Systeme im Detail beschrieben.

3.1 Chemikalien und Verbrauchsmaterial

Tabelle 3: Zusammensetzung der Lösungen für die Turbidimetrie und Lyse.

Bezeichnung	Zusammensetzung	Masse
<i>Permeation Buffer (PB) (pH = 7,4)</i>	<i>TrisBase 6,061g NaCl 5,844g H2O 1,0L</i>	<i>0,050 M 0,100 M</i>
<i>Activation Mix</i>	<i>PB 11676µl CaCl2 270µl Thrombin 54µl</i>	<i>Tris 0,05M, NaCl 0,1M 0,02 M 0,1 U/ml</i>
<i>Lysis mix</i>	<i>PB 14,5ml Verdünntes t-PA 50µl</i>	<i>Tris 0,05M, 0,1M 0,1U/ml</i>
<i>Stop Solution (Fibrinogen u. C3 Assay)</i>	<i>Schwefelsäure 100µl</i>	<i>1M</i>

3.2 Geräte und Software

Tabelle 4: Auflistung der Geräte und Software die im Rahmen der Studie verwendet wurden.

Geräte/Zubehör	Hersteller/Anbieter
<i>Gen 5</i>	<i>BioTek, Winooski, USA</i>
<i>SPSS 21.0</i>	<i>IBM Software, New York, USA</i>
<i>Excel 2010</i>	<i>Microsoft Corporation, Redmond, USA</i>
<i>Prism v.5.03</i>	<i>GraphPad Software, Inc, La Jolla, USA</i>
<i>Plate reader ELX808IU</i>	<i>Biotek, Winooski USA</i>
<i>Waage TE 214S/ TE 212</i>	<i>Sartorius Stedim Biotec S.A., Aubagne Cedex, France Sartorius</i>
<i>96- Well Platte</i>	<i>GLKL Greiner Bio One, Frickenhausen, Germany</i>
<i>Vakuum Pumpe 86</i>	<i>VWR International Ltd, Lutterworth, England</i>
<i>Open Clinica v.14.0</i>	<i>Isovera, Waltham, Massachusetts</i>
<i>Mikro 200R</i>	<i>Hettich GmbH & Co.KG, Tuttlingen, Germany</i>

3.3 ELISA - Kits

Tabelle 5: Auflistung der verschiedenen ELISA Kits

Kits	Hersteller/Anbieter
<i>Human PAI-1 ELISA Kit</i>	<i>Life Technologies - Invitrogen Corporation, Camarillo, USA</i>
<i>Human Fibrinogen ELISA Quantitation Kit</i>	<i>Genway Biotech Inc., San Diego, California</i>
<i>Human C3 ELISA Quantitation Kit</i>	<i>Genway Biotech Inc., San Diego, California</i>

3.4 Biobank der medizinischen Klinik I

Die Biobank der medizinischen Klinik I existiert seit März 2012 und stellt ein Register zur Identifikation und Analyse kardiovaskulärer Risikofaktoren dar. Eine ethische Prüfung der Datenbank erfolgte vorab durch die Ethikkommission des Universitätsklinikum Aachen (Aktenzeichen EK 206/09). Patienten, die im Rahmen der Diagnostik eine Herzkatheteruntersuchung erhalten haben, werden nach entsprechender Einwilligung, in die Datenbank eingeschlossen. Ausschlusskriterien der Biodatenbank sind die Diagnose eines Typ I Diabetes, eine immunsuppressive Therapie, eine aktive maligne Grunderkrankung, bzw. der Verdacht auf eine maligne Grunderkrankung, sowie das Vorliegen einer Hepatopathie. Es fand keine Dokumentation der aus der Studie ausgeschlossenen Patienten statt. Die Daten wurden vom Koordinierungszentrum für kardiologische Studien (KKS) mittels standardisiertem Fragebogen und anhand der für die Patienten angefertigten Entlassbriefe erhoben. Die Dokumentation umfasst die Patientencharakteristika, den koronaren Status der Patienten, das kardiovaskuläre Risikoprofil, die kardiovaskulären Vorerkrankungen, Routine-Laborparameter sowie die apparative Diagnostik (z.B. transthorakale Echokardiographie). Die Daten wurden standardisiert in die Datenbanksoftware Open Clinica v14.0 eingegeben und durch zwei ärztliche Mitarbeiter auf Validität überprüft (siehe Abbildung 2). Weiterhin wurden von allen Patienten 9ml Serumblut (2 x 4,5ml Serum Monovetten) und 9ml EDTA Blut entnommen (3 x 3ml EDTA Monovetten). Die EDTA Monovetten wurden für zehn Minuten bei 2500g zentrifugiert und im Anschluss das überstehende thrombozytenfreie Plasma abpipettiert. Die Plasma-Proben wurden im Institut für Pathologie in einem Gefrierschrank bei - 80° Celsius aufbewahrt.

3.4.1 Selektion der Patienten – Studie

Für die Studie wurde eine Kohorte aus der Biodatenbank von N = 500 Patienten als Pool zur Patientenselektion ausgewählt. Die Kohorte entspricht dem Stand der Biodatenbank vom 2. März 2012 bis zum 8. Februar 2013. Anhand der Diagnose eines Diabetes Typ II und dem Bestehen einer koronaren Herzerkrankung wurden die Patienten in insgesamt 4 Gruppen aufgeteilt:

1. *Kontrollpatienten ohne koronare Herzerkrankung*
2. *Kontrollpatienten mit einer koronaren Herzerkrankung*
3. *Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ II ohne koronare Herzerkrankung*
4. *Patienten mit einem Diabetes mellitus Typ II mit koronarer Herzerkrankung*

Zielsetzung war es, in jede der genannten Gruppen insgesamt 50 Patienten einzuschließen. Weiterhin wurden alle Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung anhand des koronaren Status in die Gruppe ‚*Stabil*‘ (kein Myokardinfarkt) und die Gruppe ‚*Instabil*‘ (Non-ST Segment Elevation Infarkt (NSTEMI) oder ST Segment Elevation Infarkt (STEMI) unterteilt. Die Definition für die Klassifikation ‚*Instabil*‘ war ein Troponin T größer 50 pg/ml sowie eine erfolgte Koronarintervention.

Tabelle 6: Geplante Studienverteilung (KHK: Koronare Herzerkrankung)

	<i>Diabetes</i>	<i>Kontrolle</i>
<i>KHK +</i>	50 (25 stabil/ 25 instabil)	50 (25 stabil/ 25 instabil)
<i>KHK -</i>	50	50

Die Patienten wurden anhand des Status Diabetes (ja/nein), KHK (ja/nein) und Myokardinfarkt (ja/nein) konsekutiv in die Studie eingefügt. Ausschlusskriterien für eine Aufnahme in die Datenbank waren eine unzureichende oder nicht nachvollziehbare Dokumentation der Patientencharakteristika (z.B. ein Fehlen der Akten im Archiv), mangelnde Qualität der Blutproben (z.B. bereits geronnenes Blut)

und eine maximal erreichte Anzahl von Patienten in den verschiedenen Subgruppen. Die ausgeschlossenen Patienten wurden in allen Gruppen dokumentiert um einen selektiven Ausfall zu detektieren. Insgesamt wurden 149 Patienten in die Studie eingeschlossen.

3.4.2 Dokumentation der Medikation

Die Medikation der Patienten wurde anhand der Patientenakten aus dem stationären Aufenthalt aus dem Archiv des Universitätsklinikum Aachen dokumentiert. Anhand der Medikamentendokumentation in den stationären Akten wurden alle Medikamente dokumentiert, die die Patienten am Tag der Blutentnahme für die Biobank eingenommen hatten. Alle Medikamente wurden binär (ja/nein) dokumentiert. Weiterhin wurde anhand der Herzkatheterprotokolle, Notarztdokumentationsbögen und Dokumentationsbögen der Intensivstationen ein eventuell vorher erfolgtes Loading mittels Thrombozytenaggregationshemmern und Heparin dokumentiert.

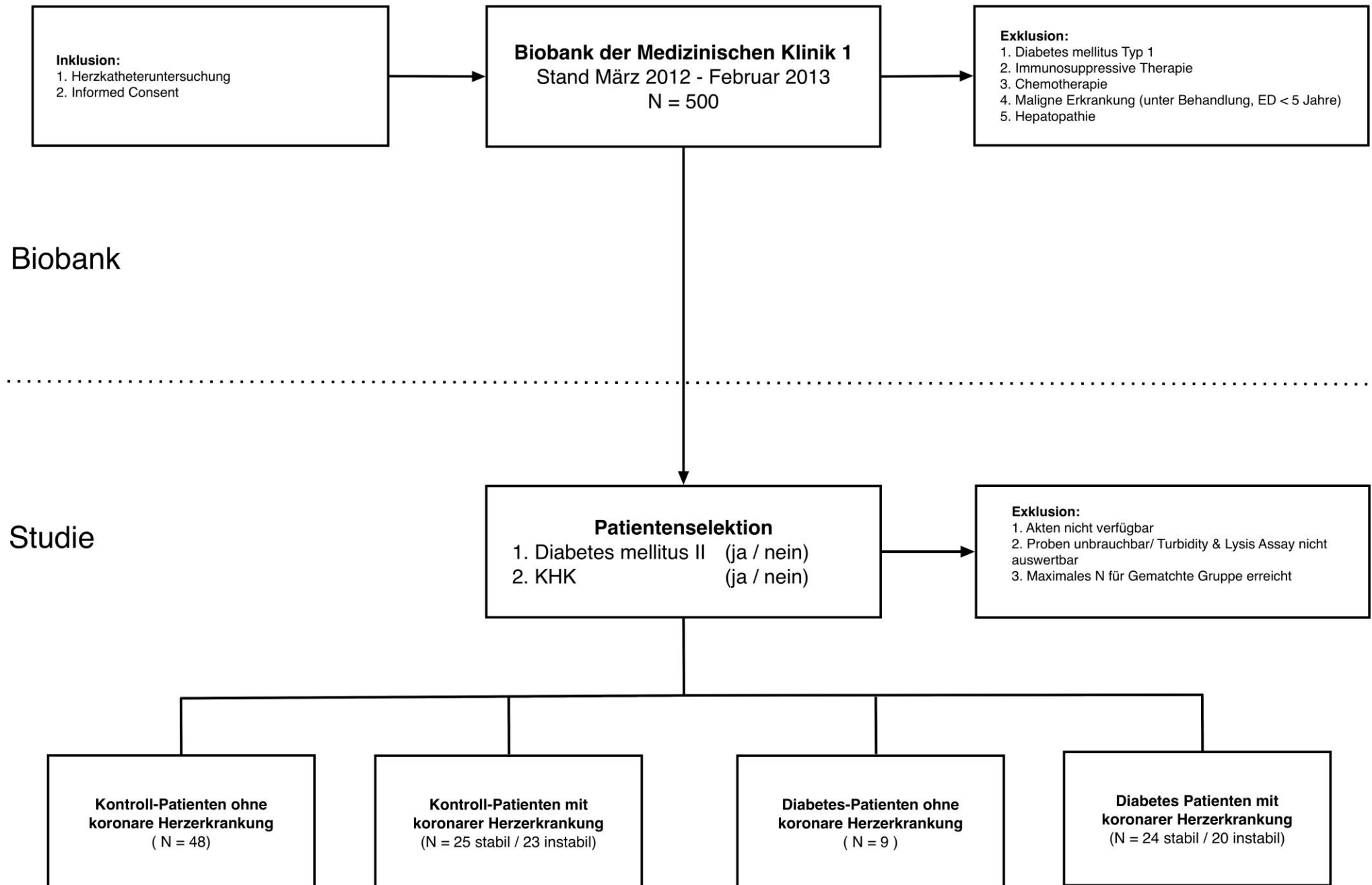


Abbildung 2: Studien Flowchart (N: Anzahl; DM II: Diabetes mellitus Typ II; KHK: Koronare Herzerkrankung)

3.5 Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Der *Enzyme Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) ist ein antikörperspezifisches Nachweisverfahren zur Quantifizierung von Stoffen in einer bestimmten Substanz. Hierbei bindet ein spezifischer Antikörper an den gesuchten Stoff und wird direkt oder indirekt über einen zweiten Antikörper mit einem Farbstoff detektierbar, so dass er auf einem Photometer (Platereader) quantifiziert werden kann. Anhand von parallel angefertigten Standardreihen können so Konzentrationen des Stoffes bestimmt werden. In diese Studie wurden Indirekte (PAI-1) - und Sandwich Assays (Fibrinogen, C3) zur Detektion verwendet. Für die ELISA Assays wurden kommerzielle Kits der Firma Life Technologies – Invitrogen und Genway verwendet.

3.5.1 Enzyme Linkend Immunosorbent Assay – Humanes PAI-1

Die Proben für den ELISA wurden vor Durchführung des Assay aus dem -80° Celsius Gefrierschrank geholt und auf Eis lagernd aufgetaut. Die Proben wurden vor Gebrauch einmal für die Aliquotierung und einmal für ein Experiment einer anderen Arbeitsgruppe aufgetaut. Die im Invitrogen Kit enthaltenen Lochplatten sind bereits mit einem monoklonalen spezifischen Antikörper für humanes PAI-1 beschichtet, so dass die Platten nicht für den Assay vorbereitet werden mussten. Alle Proben wurden im Verhältnis 1:2 mittels im Kit enthaltenem *Standard Diluent Puffer* verdünnt und jeweils als Duplikat auf die Platte aufgetragen. Als Standard wurde im Kit ein mitgelieferter Human PAI-1 Standard verwendet. Der Standard wurde mit *Diluent Puffer* so verdünnt, dass die folgenden Konzentrationen entstanden (siehe Tabelle 7): 4000pg/ml, 2000 pg/ml, 1000 pg/ml, 500pg/ml, 250pg/ml, 125pg/ml und 62,5pg/ml.

Tabelle 7: Verdünnungsreihe ELISA PAI-1

Schritt	Konzentration pg/ml	Standard	Sample Diluent
1	4000	600µ aus Standard	0µl
2	2000	300µl aus Schritt 1	300µl
3	1000	300µl aus Schritt 2	300µl
4	500	300µl aus Schritt 3	300µl
5	250	300µl aus Schritt 4	300µl
6	125	300µl aus Schritt 5	300µl
7	62,5	300µl aus Schritt 6	300µl

Nach Auftragen aller Proben und des Standards erfolgte eine Inkubation von zwei Stunden. Im Anschluss wurden alle Proben mittels Vakuumpumpe abgesaugt und die verbleibenden Wells insgesamt vier Mal mit 400µl *Wash Puffer* gewaschen. Nach jeder Befüllung erfolgte das erneute Absaugen mittels Vakuumpumpe. Nach viermaligem Absaugen wurde die gesamte Lochplatte über einem Tuch ausgeschlagen, um alle Rückstände zu beseitigen. Im Anschluss wurden 100µl des biotinylierten polyklonalen Antikörper auf die entsprechenden Wells pipettiert. Es erfolgte eine erneute Inkubation von zwei Stunden. Im Anschluss erfolgte wie oben beschrieben ein erneuter vierfacher Waschschrift. Anschließend wurden 100µl des Enzyme Streptavidin Peroxidase in der im Kit enthaltenen *Streptavidin - Horseradish peroxidase Working Solution* zugefügt. Streptavidin bindet durch die Biotinylierung mit hoher Affinität an den zweiten Antikörper. Für eine maximale Bindung erfolgte eine Inkubation über 30 Minuten. Im Anschluss erfolgte ein weiterer vierfacher Waschschrift wie bereits beschrieben. Nach dem Waschschrift wurden 100µl stabilized Chromogen, ein Substrat für die Meerrettich Peroxidase, in jedes Well gegeben und im Dunkeln für 15 Minuten inkubiert. Die Meerrettich Peroxidase hat die Aufgabe eines Reporter-Enzyms und kann die Reaktion vom Chromogen in einen Farbstoff katalysieren, so dass in Abhängigkeit der Konzentration die Intensität der Farbe zu- oder abnimmt. Nach Inkubation wurde direkt eine 100 µl Stop Solution zu den Proben gegeben, die die Katalysation der Peroxidase unterbindet. Die gefärbten Proben wurden anschließend auf dem Plate Reader bei einer Wellenlänge von 340nm gemessen. Die Auswertung erfolgte über Microsoft Excel. Die Ergebnisse des Plate Readers wurden mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert um die Konzentration zu bestimmen. Bei einer Abweichung von mehr als 10% zwischen den Doppelmessungen wurden die Proben verworfen und erneut gemessen.

3.5.2 Enzyme Linked Immunosorbent Assay – Humanes Fibrinogen

Bei dem Kit für das humane Fibrinogen handelt es sich um ein Sandwich ELISA Assay. Es mussten vor Beginn des Assays die unbehandelten Lochplatten mit dem Capture Antibody vorbereitet werden. Hierfür wurden 27,5µl des im Kit enthaltenen Antikörpers in 11ml Coating Puffer gelöst und im nächsten Schritt zu jeweils 100µl pro Well auf die Lochplatte aufgetragen. Die Platten inkubierten nach diesem Schritt

für eine Stunde bei Raumtemperatur. Im Anschluss erfolgte ein Waschschrift. Die Proben wurden mit der beigelegten Washsolution insgesamt drei Mal mit jeweils 300µl pro Well gespült. Nach jedem Spülvorgang wurden die Wells vorsichtig mit der Vakuumpumpe leer gesaugt. Am Ende des Waschvorgangs wurden die Lochplatten auf einem Tuch sanft ausgeschlagen. Zur Vermeidung von unspezifischer Bindung erfolgte im nächsten Schritt ein Blocking der Capture Antibodys mit 200µl Blocking Solution pro Well. Im Anschluss inkubierten die Platten erneut für eine Stunde und wurden, wie zuvor beschrieben, drei Mal gewaschen. Die Proben wurden, wie unter 3.3.1. dargestellt, aus dem Gefrierschrank geholt und langsam auf Eis aufgetaut. Um im Rahmen der Detektionsgrenzen des Platereaders zu bleiben erfolgte eine Verdünnung der Proben von 1:100.000. Diese erfolgte in zwei Schritten von 1:100 und 1:1000. Parallel zu den Proben wurde der Standard vorbereitet (Tabelle 8)

Tabelle 8: Verdünnungsreihe ELISA – Humanes Fibrinogen

Schritt	Konzentration ng/ml	Standard	Sample Diluent
1	400	25µl aus Standard	975µl
2	200	500µl aus Schritt 1	500µl
3	100	500µl aus Schritt 2	500µl
4	50	500µl aus Schritt 3	500µl
5	25	500µl aus Schritt 4	500µl
6	12,5	500µl aus Schritt 5	500µl
7	6,25	500µl aus Schritt 6	500µl

Alle Proben und der Standard wurden zu jeweils 100µl pro Well auf die Lochplatte aufgetragen. Alle Proben wurden zweifach gemessen, um eventuelle Pipettierfehler auszuschließen. Die Lochplatten inkubierten für 60 Minuten. Nach der Inkubation wurden die Platten wie oben beschrieben insgesamt fünf Mal gewaschen. Das weitere Vorgehen ist identisch mit dem unter 3.3.1 beschriebenen. Die Proben wurden mit der Meerrettich Peroxidase für 60 Minuten inkubiert und erneut für eine Stunde inkubiert. Nach fünfmaligem Waschen erfolgte die Hinzugabe von 100µl Substrate Solution. Die Platten inkubierten mit der Substrate Solution für 15 Minuten und wurden im Anschluss mit Schwefelsäure gestoppt. Unmittelbar nach Beendigung der Reaktion wurden die Proben auf dem Plate Reader bei einer Wellenlänge von 340nm gemessen und im Anschluss in Excel weiter verarbeitet.

3.6 Turbidimetrie und Lyse Assay

Der Turbidimetrie und Lyse-Assay ist ein Verfahren in dem unter Laborbedingungen die Entstehung und Lyse eines Fibringerinnsels gemessen wird. In dieser Studie wurde der Assay mit EDTA - Plasmaproben der Biodatenbank durchgeführt. Da EDTA ein sehr potenter Ca^{2+} -Chelator ist, wurden die Proben mit Ca^{2+} und Thrombin versetzt um die Gerinnung zu aktivieren. Die Fibrinolyse wird mit tPA erzeugt. Die Koagulation und Lyse können im Platerreader bei einer Wellenlänge von 340nm mittels optischer Dichte bestimmt werden. Für die vorliegende Studie waren die folgenden Parameter interessant:

1. *Maximale Absorbance Units (AU)*: Die maximale Absorbierung (Abbildung: Punkt I) korrespondiert mit der maximalen Fibringerinnsel-Dichte und gibt den Punkt an, ab dem der Effekt der Fibrinolyse stärker wird als der Effekt der Koagulation.
2. *Lyse 100% - 50%*: Die Zeit, die benötigt wird, um das Fibringerinnsel mittels tPA von 100% optischer Dichte zu 50% Dichte zu lysieren, ist in der Literatur der etablierte Lyse-Parameter (Abbildung: Punkt I bis Punkt II) (Undas et al. 2009).

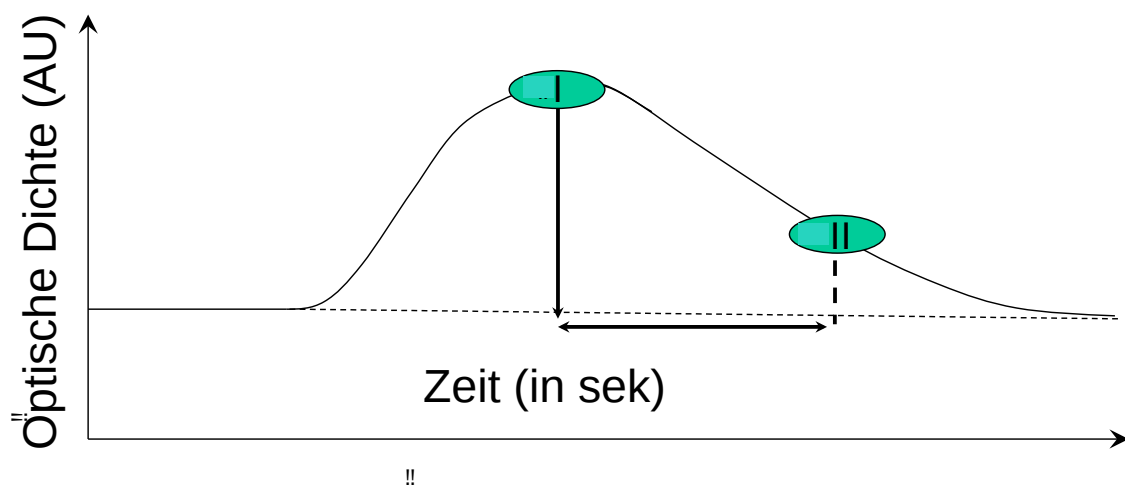


Abbildung 3: Exemplarischer Verlauf der Optischen Dichte im Verhältnis zur Zeit im Turbidimetrischen Assay.

Für die Turbidimetrie wurden EDTA - Plasma Proben aus dem - 80° Celsius Gefrierschrank im Wasserbad auf 37° Celsius erwärmt. Vor Gebrauch für den Assay wurden die Proben gevortext und in einer Zentrifuge bei 2000 RPM für eine Minute in der Mikroliter Zentrifuge zentrifugiert. Von den erwärmten, zentrifugierten Proben wurden jeweils 25µl in ein Well einer 96 Well-Platte pipettiert. Alle Proben wurden in den Experimenten doppelt bestimmt. Bei einer Abweichung von > 10% wurden die Ergebnisse verworfen und erneut gemessen. Danach wurden 75µl Permeation Buffer zu den Proben gegeben. Ergänzend wurde im 10-Sekunden-Takt 50µl Activation Mix auf die Proben pipettiert um die Turbidimetrie zu starten. Die Zeit wurde hierbei genau dokumentiert, um diese nach Ablauf des Experiments für die Ergebnisse korrigieren zu können. Die Proben wurden im Anschluss auf dem Reader für eine Stunde alle 12 Sekunden bei 37° Celsius gemessen. Die Ergebnisse der neun Messungen wurden im Anschluss in Excel weiterverarbeitet, um die maximale AU zu bestimmen.

Für den Turbidimetrie und Lyse Assay wurden die Proben wie in der Turbidimetrie vorbereitet. Zum Starten des Experiments wurde im Gegensatz zur Turbidimetrie allerdings 75µl Lysis Mix im 10-Sekunden-Takt in jedes Well pipettiert. Nach drei Minuten Inkubation wurden 50µl Activation Mix, erneut im Abstand von 10 Sekunden pro Spalte, zu den Proben gegeben. Die Messungen wurden auf dem Plate Reader ELX808IU über neun Stunden bei 37° Celsius durchgeführt. Das Programm des Readers wurde so eingestellt, dass alle 1:48 Minuten eine photometrische Messung erfolgte. Die Ergebnisse der neun Messungen wurden im Anschluss in Excel weiterverarbeitet, um die Lyse 100% - 50% zu bestimmen.

3.7 Statistische Auswertung

Die statistische Beratung wurde über das statistische Institut für Medizinische Statistik von Herrn Univ.-Prof. Dr. rer. nat. Ralf Dieter Hilgers des Universitätsklinikums Aachen durchgeführt. Alle statistischen Auswertungen wurden nach Beratung selbstständig durchgeführt. Die statistische Auswertung erfolgte mit Graph Pad Prism v.5.03 und SPSS v.21.0. Sämtliche T-Tests und Korrelationen wurden mittels Graph Pad Prism erstellt. Zur Korrektur der Heterogenität der Daten wurden die Daten für die Fibrinolyse-Dauer mit Hilfe einer Kovarianzanalyse (ANCOVA) mit SPSS analysiert. In der Analyse der übrigen Faktoren

(Patientencharakteristiken, Medikation, laborchemische Parameter) wurde sich für eine lineare Regressionsanalyse entschieden. Alle Fehlerbalken in den Grafiken sind Standardfehler des Mittelwertes. In der tabellarischen Darstellung werden zu den Mittelwerten jeweils die Standardabweichungen angegeben (vgl. Tabellen 9 u. 10).

3.8 Patientenpopulation und Exklusion

Die gewünschte Gruppengröße von 50 Patienten pro Stratum konnte nicht erreicht werden. Insgesamt wurden 263 Patienten für die Studie selektiert. Hierfür wurden die entsprechenden Akten über das Akten-Archiv des Universitätsklinikum Aachen bestellt. 44 Patienten mussten ausgeschlossen werden, da entweder die Akten über das Archiv nicht verfügbar waren oder die medikamentöse Therapie nicht ausreichend dokumentiert wurde. Sechsenddreißig Patienten konnten nicht eingeschlossen werden, da entweder die Plasmaproben über die Biodatenbank nicht verfügbar waren oder die turbidimetrischen Analysen nicht verwertbar. Ein Teil der Proben war nicht verwertbar, da die Plasma - Proben bereits geronnen waren (N = 14/36). Bei sieben Patienten ergab der ELISA für PAI 1 Plasmaspiegel Werte, die um ein vielfaches über der Detektionsgrenze des Reader lagen, sodass diese Proben trotz wiederholter Mehrfachverdünnung und erneute Kontrolle nicht in die Studie aufgenommen werden konnten. Weiterhin wurden jeweils drei Patienten in der Gruppe „Kontrolle mit koronarer Herzerkrankung“ und „Diabetes mit koronarer Herzerkrankung“ randomisiert ausgeschlossen, da die maximale Gruppengröße in der Subgruppe stabil und instabil erreicht wurde (vgl. Abbildung 2) . Somit ergab sich folgende Gesamtverteilung:

1. 48 Kontroll-Patienten ohne koronare Herzerkrankung
2. 48 Kontroll-Patienten mit koronarer Herzerkrankung
3. 9 Patienten mit Diabetes ohne koronare Herzerkrankung
4. 44 Patienten mit Diabetes mit koronarer Herzerkrankung.

4. Resultate

4.1 Patientenpopulation

4.1.1 Patientenpopulation – Patientencharakteristika

Die basalen Charakteristika der Patienten sind in Tabellen für das Vorliegen einer koronaren Herzerkrankung (Tabelle 9) und einer stabilen oder instabilen koronaren Herzerkrankung (Tabelle 10) wiedergegeben.

Die Patientencharakteristika der Studienpopulation sind in den Tabellen 9 und 10 unter dem Abschnitt ‚Patientencharakteristika‘ abgebildet. In der Gruppe der Patienten mit und ohne koronare Herzerkrankung zeigt sich, dass Patienten mit einem Diabetes signifikant älter sind (ohne KHK $54,65 \pm 17,08$ vs. $69 \pm 6,92$ Jahre; $p < 0,001$ und mit KHK $63,25 \pm 11,65$ vs. $71,09 \pm 10,44$ Jahre; $p = 0,001$). Dieser Trend bleibt in der Analyse der stabilen und instabilen Patienten mit Diabetes erhalten, ist allerdings nur bei den instabilen Patienten mit Diabetes signifikant (stabil: $65,48 \pm 11,32$ vs. $67,83 \pm 11,94$ Jahre; $p = 0,483$ und instabil: $60,83 \pm 11,76$ vs. $75 \pm 6,68$ Jahre; $p < 0,001$). Weiterhin haben Patienten mit Diabetes im Trend in allen Gruppen einen erhöhten BMI im Vergleich zu den Kontrollen. In der Gruppe der Patienten mit Diabetes und koronarer Herzerkrankung ist dieser Unterschied zu den metabolisch gesunden Patienten mit koronarer Herzerkrankung signifikant. (Kontrolle $26,13 \pm 3,65$ Diabetes $29,04 \pm 4,84$ kg/m²; $p < 0,01$). Zum Ausschluss eines möglichen Effekts der Latenz zwischen Blutentnahme und Indexereignis bzw. Herzkatheteruntersuchung auf die Outcomeparameter wurde die Zeit in diesem Intervall für jeden Patienten dokumentiert. In der Gruppe der instabilen Patienten mit Diabetes fand die Blutentnahme durchschnittlich $3,4 \pm 2,95$ Tage und in der Gruppe der instabilen Kontrollen $2,39 \pm 1,34$ Tage nach dem Indexereignis statt. Insgesamt war der Unterschied allerdings nicht statistisch signifikant mit einem P-Wert von $p = 0,147$.

4.1.2 Patientenpopulation – Laborparameter

Die Laborparameter der Studienpopulation sind in den Tabellen 9 und 10 unter dem Abschnitt ‚Laborparameter‘ abgebildet. Die tabellarische Darstellung dient der Übersicht und wird im Detail in den folgenden Abschnitten besprochen. Es zeigt sich,

dass alle Patienten mit Diabetes einen signifikant erhöhten HbA_{1c} Wert haben. In der Gruppe der stabilen Patienten mit Diabetes ist dieser Wert $6,72 \pm 1,30$ % und unterscheidet sich signifikant von den metabolischen Kontrollen mit einem P Wert von 0,003. In der Gruppe der instabilen Patienten mit Diabetes ist der HbA_{1c} Wert $7,01 \pm 1,05$ % und unterscheidet sich signifikant von den metabolischen Kontrollen mit einem P Wert von 0,001.

4.1.3 Patientenpopulation – Medikation

Die Dokumentation der Studienpopulation ist in den Tabellen 9 und 10 unter dem Abschnitt ‚Medikation‘ abgebildet. In der Gruppe der Patienten ohne koronare Herzerkrankung wurden die Diabetespatienten im Vergleich zu den Kontrollen signifikant häufiger mit Betablockern, Statinen und Diuretika behandelt (Betablocker: 88,9% vs. 58,3% $p = 0,035$, Statine: 66,7% vs. 25% $p = 0,013^*$ Diuretika: 66,7% vs. 20,8% $p = 0,013$). In der Gruppe der stabilen Patienten mit Diabetes setzt sich dieser Trend im Vergleich zu den stabilen Kontrollen fort. Hinsichtlich der Statin- und Diuretikatherapie zeigt sich allerdings keine signifikanten Resultate (Statine: 95,8% vs. 80% $p = 0,095$ Diuretika: 33,3% vs. 12% $p = 0,075$). In der instabilen Situation zeigen sich keine signifikanten Unterschiede bezüglich der Therapie bei Patienten mit Diabetes und Kontrollen (vgl. Tabelle 10).

Tabelle 9: Tabellarische Darstellung des Patientenkollektivs mit und ohne koronare Herzerkrankung unterteilt in Patientencharakteristika, Laborparameter und Medikation (p < 0,05*, p < 0,01** p < 0,001***) (BMI: Body Mass Index, KHK: koronare Herzerkrankung, BE: Blutentnahme; IE: Indexereignis STEMI: ST Elevation Myocardial Infarction, NSTEMI: Non ST Elevation Myocardial Infarction, AU: Arbitrary Units, PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor 1, C3: Komplement C3, CRP: C reaktives Protein, WBC: White Blood Cell Count, TAH: Thrombozytenaggregationshemmung, ACE-Hemmer: Angiotensin Converting Enzyme-Hemmer).

		Ohne koronare Herzerkrankung			Mit koronarer Herzerkrankung		
		Kontrolle	Diabetes	T - Test	Kontrolle	Diabetes	T - Test
<i>Patienten charakteristiken</i>	<i>Geschlecht M(W)</i>	33(15)	6 (3)	0,904	38(10)	37 (7)	0,548
	<i>Alter (Jahre)</i>	54,65 ± 17,08	69,00 ± 6,92	0,000***	63,25 ± 11,65	71,09 ± 10,44	0,001**
	<i>Größe (cm)</i>	173 ± 8,4	172 ± 9,2	0,807	174 ± 8,4	173 ± 8,2	0,740
	<i>Gewicht (kg)</i>	84,2 ± 19,6	84,5 ± 14,5	0,961	80,5 ± 14,68	87,22 ± 18,8	0,058
	<i>BMI (kg/m²)</i>	27,75 ± 5,43	29,59 ± 6,06	0,364	26,13 ± 3,65	29,04 ± 4,84	0,002**
	<i>Stabile (Instabile) KHK</i>	48 (0)	9 (0)	X	25 (23)	25(20)	0,816
	<i>Latenz BE zum IE (Tage)</i>	0	0	X	1,19 ± 1,51	1,59 ± 2,58	0,358
	<i>STEMI (NSTEMI)</i>	0	0	X	10 (13)	6(14)	0,903
<i>Laborparameter</i>	<i>Fibringerinnsel Lyse (Sek)</i>	1273 ± 640	1512 ± 864	0,337	1120 ± 624	1366 ± 711	0,080
	<i>Fibringerinnsel Dichte (AU)</i>	0,319 ± 0,166	0,395 ± 0,147	0,211	0,362 ± 147	0,418 ± 0,159	0,094
	<i>PAI-1 (µg/ml)</i>	2,174 ± 1,603	2,302 ± 1,629	0,827	1,639 ± 1,102	2,301 ± 1,656	0,028*
	<i>Fibrinogen (mg/ml)</i>	9,463 ± 4,686	12,723 ± 5,580	0,068	6,918 ± 3,637	8,879 ± 4,965	0,032*
	<i>C3 (µg/ml)</i>	744 ± 197	398 ± 28	0,000***	828 ± 204	777 ± 224	0,257
	<i>HBA1c (%)</i>	5,28 ± 0,85	6,56 ± 1,08	0,001**	5,52 ± 0,33	6,86 ± 1,18	0,000***
	<i>CRP (mg/l)</i>	4,34 ± 9,25	2,75 ± 5,11	0,639	10 ± 20,24	11,24 ± 18,73	0,769
	<i>WBC (/nl)</i>	7,15 ± 1,84	6,9 ± 2,11	0,806	7,49 ± 1,82	8,54 ± 2,70	0,034*
<i>Medikation</i>	<i>TAH (%)</i>	35,4	44,4	0,190	95,8	95,5	0,930
	<i>Beta Blocker (%)</i>	58,3	88,9	0,035**	85,4	86,4	0,898
	<i>ACE Hemmer (%)</i>	52,1	44,4	0,681	75	70,5	0,629
	<i>Statine (%)</i>	25	66,7	0,013*	85,4	88,6	0,651
	<i>Diuretika (%)</i>	20,8	66,7	0,004**	14,6	29,5	0,084
	<i>Insulin (%)</i>	0	22,2	x	0	47,7	x
	<i>Oral Antidiabetika (%)</i>	0	44,4	x	0	18,2	x
	<i>Diätetisch (%)</i>	0	33,3	x	0	45,5	x
	<i>Antikoagulation (%)</i>	35,4	44,4	0,906	14,6	27,3	0,344

Tabelle 10: Tabellarische Darstellung des Patientenkollektivs im Rahmen der stabilen und instabilen koronaren Herzerkrankung unterteilt in Patientencharakteristika, Laborparameter und Medikation (p < 0,05*, p < 0,01** p < 0,001***) (BMI: Body Mass Index, KHK: koronare Herzerkrankung, BE: Blutentnahme; IE: Indexereignis; STEMI: ST Elevation Myocardial Infarction, NSTEMI: Non ST Elevation Myocardial Infarction, AU: Arbitrary Units, PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor 1, C3: Komplement C3, CRP: C reaktives Protein, WBC: White Blood Cell Count, TAH: Thrombozytenaggregationshemmung, ACE Hemmer: Angiotensin Converting Enzyme Hemmer).

		Stabile koronare Herzerkrankung			Instabile koronare Herzerkrankung		
		Kontrolle	Diabetes	T - Test	Kontrolle	Diabetes	T - Test
<i>Patienten charakteristiken</i>	<i>Geschlecht M(W)</i>	20(5)	21(3)	0,488	18(5)	16(4)	0,892
	<i>Alter (Jahre)</i>	65,48 ± 11,32	67,83 ± 11,94	0,482	60,83 ± 11,76	75 ± 6,68	0,000***
	<i>Größe (cm)</i>	172 ± 7,60	174,62 ± 9,63	0,309	176,95 ± 8,64	172,90 ± 6,15	0,088
	<i>Gewicht (kg)</i>	78,76 ± 12,45	93,25 ± 21,99	0,006**	82,39 ± 16,85	80,00 ± 10,67	0,588
	<i>BMI (kg/m²)</i>	26,44 ± 4,17	30,35 ± 5,14	0,973	25,77 ± 3,05	27,45 ± 4,03	0,130
	<i>Latenz BE zum IE (Tage)</i>	x	x	x	2,39 ± 1,34	3,4 ± 2,95	0,147
	<i>STEMI (NSTEMI)</i>	0	0	x	10 (13)	6(14)	0,903
<i>Laborparameter</i>	<i>Fibringerinnsel Lyse (Sek)</i>	841 ± 400	1368 ± 739	0,003**	1422 ± 688	1365 ± 695	0,788
	<i>Fibringerinnsel Dichte (AU)</i>	0,333 ± 117	0,401 ± 135	0,067	0,393 ± 171	0,435 ± 187	0,458
	<i>PAI-1 (µg/ml)</i>	1,766 ± 1,159	2,408 ± 1,822	0,146	1,502 ± 1,045	2,172 ± 1,468	0,089
	<i>Fibrinogen (mg/ml)</i>	6,148 ± 2,539	9,785 ± 6,057	0,011*	7,760 ± 4,451	7,793 ± 3,015	0,978
	<i>C3 (µg/ml)</i>	818 ± 205	735 ± 235	0,197	840 ± 207	828 ± 205	0,848
	<i>HBA1c (%)</i>	5,61 ± 0,37	6,72 ± 1,30	0,003**	5,44 ± 0,28	7,01 ± 1,05	0,000***
	<i>CRP (mg/l)</i>	6,16 ± 15,77	6,70 ± 15,46	0,905	14,0 ± 23,75	16,6 ± 21,17	0,709
	<i>WBC (/nl)</i>	7,03 ± 2,03	7,85 ± 1,56	0,120	8,00 ± 1,43	9,36 ± 3,50	0,117
<i>Medikation</i>	<i>TAH (%)</i>	92	91,7	0,967	100	100	x
	<i>Beta Blocker (%)</i>	80	83,3	0,769	91,3	90	0,887
	<i>ACE Hemmer (%)</i>	76	70,8	0,690	73,9	70	0,782
	<i>Statine (%)</i>	80	95,8	0,095	91,3	80	0,310
	<i>Diuretika (%)</i>	12	33,3	0,075	17,4	25	0,552
	<i>Insulin (%)</i>	x	58,3	x	x	35	x
	<i>Oral Antidiabetika (%)</i>	x	20,8	x	x	15	x
	<i>Diätetisch (%)</i>	x	37,5	x	x	55	x
	<i>Antikoagulation (%)</i>	64	54,2	0,494	82,6	75	0,552

4.2 Fibringerinsel-Dichte

Die Fibringerinsel-Dichte zeigt keinen signifikanten Unterschied bei Patienten mit Diabetes im Vergleich zu Kontrollpatienten (Abb 4.).

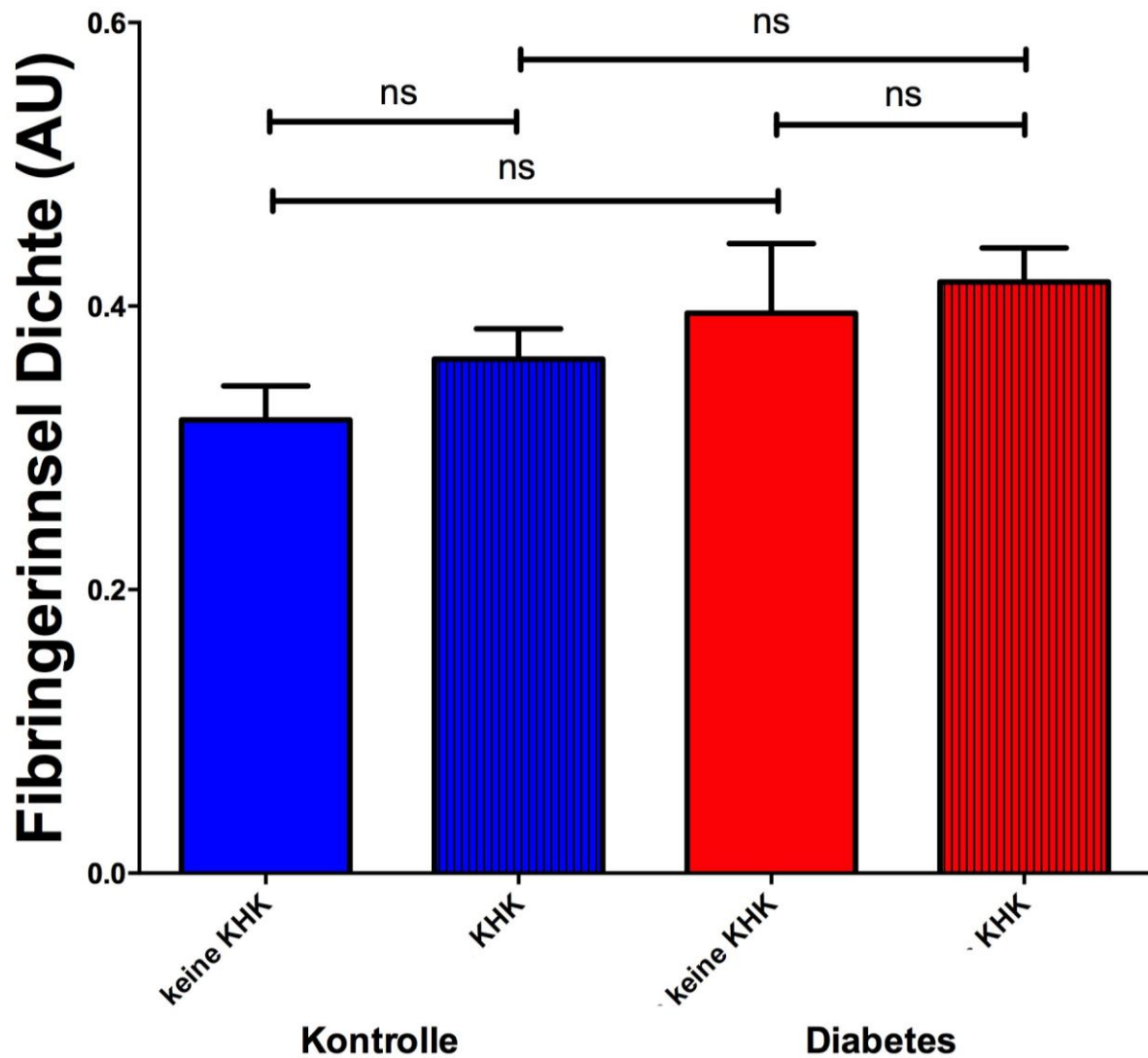


Abbildung 4: Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts der Fibringerinsel-Dichte in Arbitrary Units für Kontroll- und Diabetespatienten mit und ohne koronare Herzerkrankung.

Im Hinblick auf die stabile und instabile koronare Herzerkrankung zeigt sich ebenfalls kein statistisch signifikanter Unterschied bei Patienten mit Diabetes und Kontrollpatienten (Abb. 5).

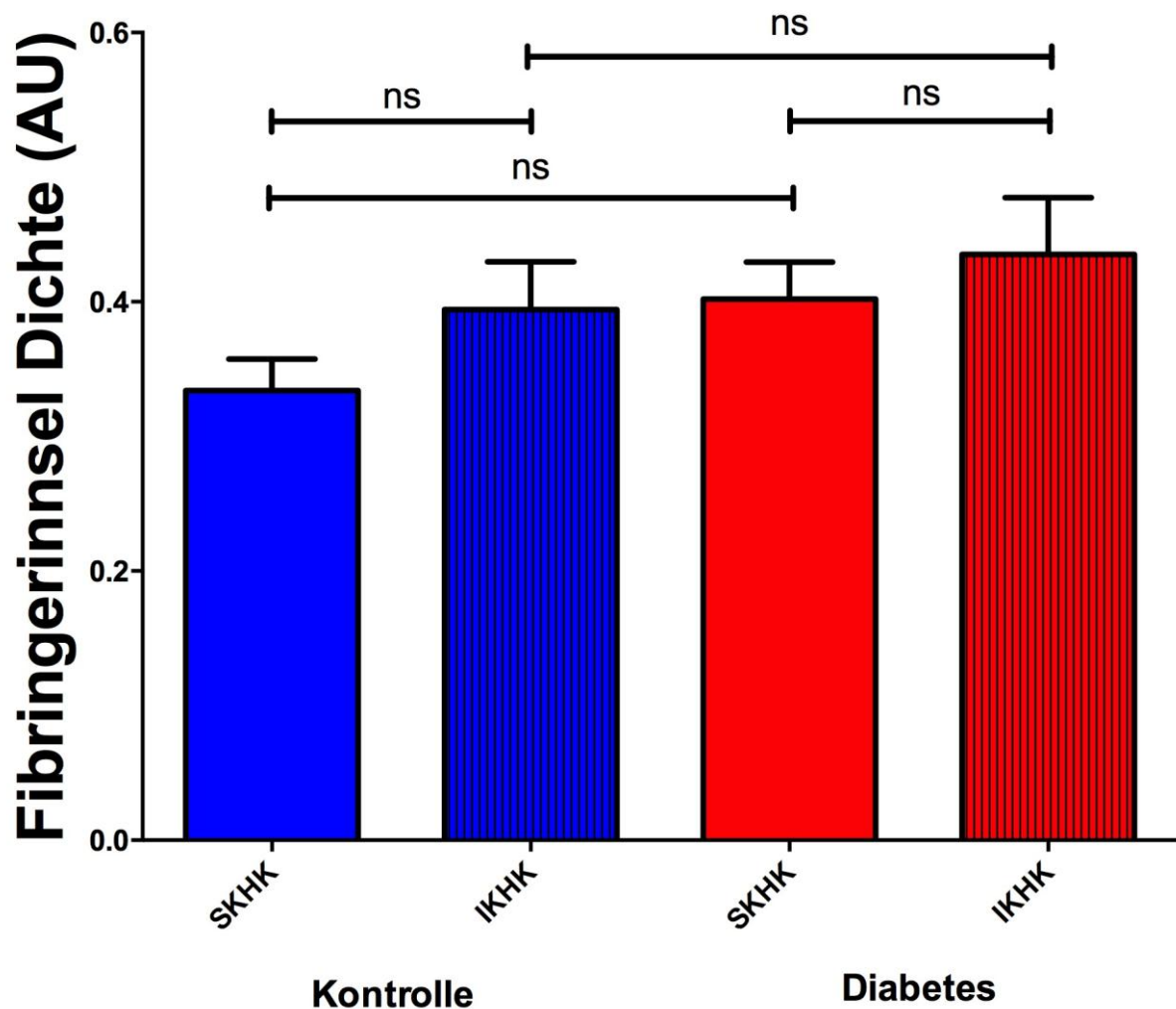


Abbildung 5: Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts der Fibringerinnsel-Dichte in Arbitrary Units (AU) für Kontroll- und Diabetespatienten im akuten Infarkt und der stabilen koronaren Herzerkrankung (SKHK: Stabile koronare Herzerkrankung, IKHK: Instabile koronare Herzerkrankung).

4.3. Fibrinolyse-Dauer

Die Dauer der Fibrinolyse unterscheidet sich bei Diabetespatienten ohne koronare Herzerkrankung nicht signifikant im Vergleich zu Kontrollpatienten ohne koronare Herzerkrankung. Ebenfalls besteht kein signifikanter Unterschied bezüglich der Fibrinolyse Dauer bei Patienten mit Diabetes und koronarer Herzerkrankung im Vergleich zu Kontrollpatienten und koronarer Herzerkrankung (Abb. 6).

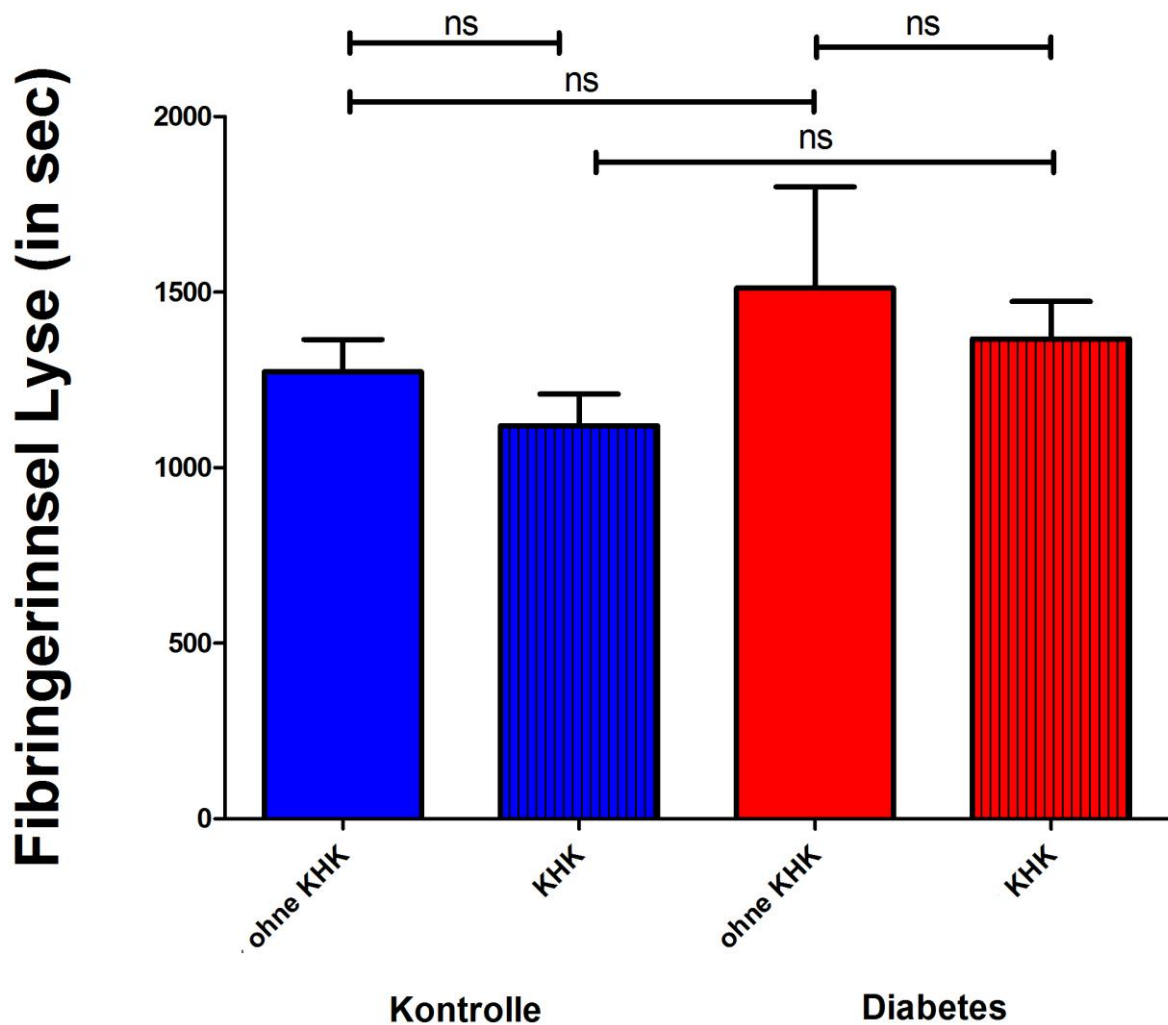


Abbildung 6: Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts der Fibrinolyse-Dauer in Sekunden für Kontroll- und Diabetespatienten mit und ohne koronare Herzerkrankung.

In der instabilen koronaren Herzerkrankung zeigt sich bei den Kontrollen eine hoch signifikante Verlängerung der Fibrinolyse-Dauer im Vergleich zur stabilen Situation (Kontrolle SKHK: 841 ± 400 sec. vs. Kontrolle IKHK: 1422 ± 688 sec.; $p < 0,001$). Bei Patienten mit einem Diabetes hingegen kommt es in der instabilen Situation zu keiner weiteren Verlängerung der Fibrinolyse (Diabetes SKHK: $1368 \text{ sec} \pm 739$ vs. Diabetes IKHK: $1365 \text{ sec} \pm 695$ $p = 0,991$). In der stabilen Situation ist die Fibrinolyse-Dauer der Patienten mit Diabetes bereits so lang wie bei den Kontrollen mit instabiler KHK (Diabetes SKHK: 1368 ± 739 sec vs. Kontrolle IKHK: 1422 ± 688 sec; $p = 0,7942$) (Abb 7).

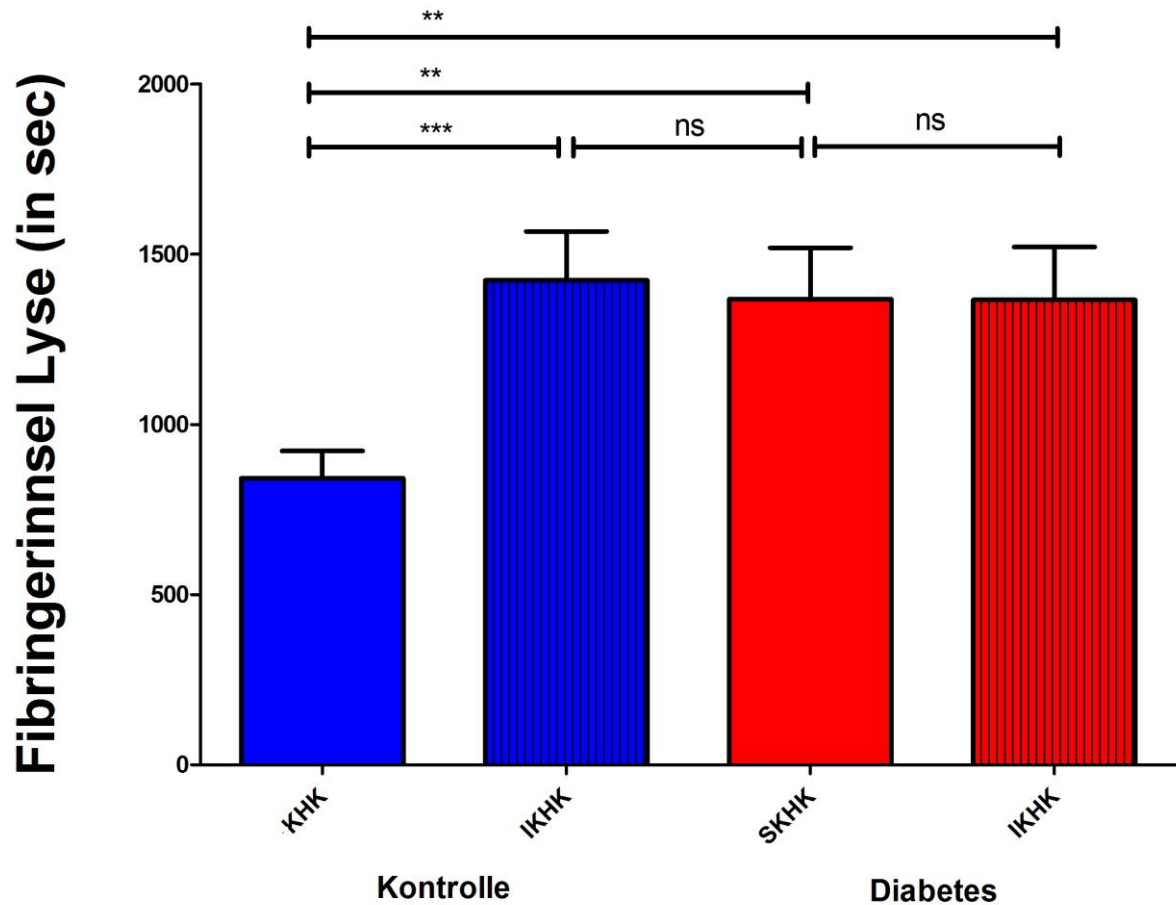


Abbildung 7: Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts der Fibrinolyse-Dauer in Sekunden für Kontroll- und Diabetespatienten in der stabilen und instabilen koronaren Herzerkrankung (** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$, SKHK: Stabile koronare Herzerkrankung, IKHK: Instabile koronare Herzerkrankung).

4.4 Einfluss von PAI - 1 auf die Fibrinolyse Dauer

Zur Analyse der Faktoren, welche die Fibrinolyse-Dauer, insbesondere in der instabilen Situation, beeinflussen, haben wir zunächst das antifibrinolytische Protein PAI-1 untersucht. Im Kollektiv der Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung zeigt sich ein signifikant höherer PAI-1-Plasmaspiegel bei den Patienten mit Diabetes im Vergleich zu den gesunden Kontrollen (Diabetes: 2,301 $\mu\text{g/ml} \pm 1,656$ vs. Kontrolle: 1,592 $\mu\text{g/ml} \pm 1,078$) (Abb 8).

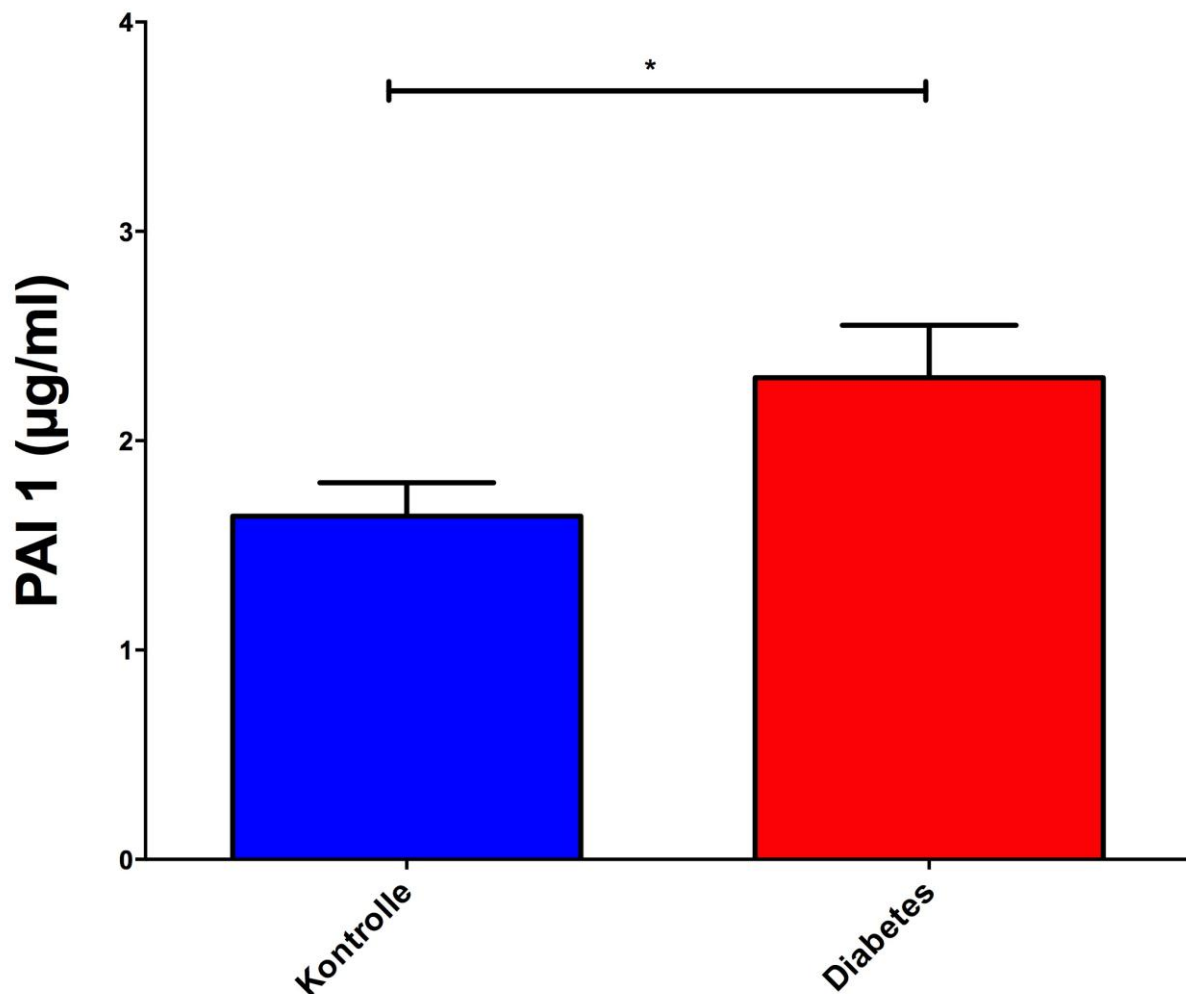


Abbildung 8: Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts der PAI-1 Plasmaspiegel in $\mu\text{g/ml}$ für Kontroll- und Diabetespatienten mit einer koronaren Herzerkrankung (* $p < 0,05$).

In der Analyse der Subgruppen bleiben die erhöhten PAI-1-Plasmaspiegel in der stabilen und instabilen Situation beim Patienten mit Diabetes erhalten. Die Unterschiede zeigen allerdings keine statistische Signifikanz (SKHK Diabetes: 2,409 $\pm 1,823$ $\mu\text{g/ml}$ vs. SKHK Kontrolle: 1,766 $\pm 1,159$ $\mu\text{g/ml}$; $p = 0,145$ und IKHK

Diabetes: $2,172 \pm 1468 \mu\text{g/ml} \pm$ IKHK Kontrolle: $1,502 \pm 1,045 \mu\text{g/ml}$; $p = 0,089$
 (Abb. 9).

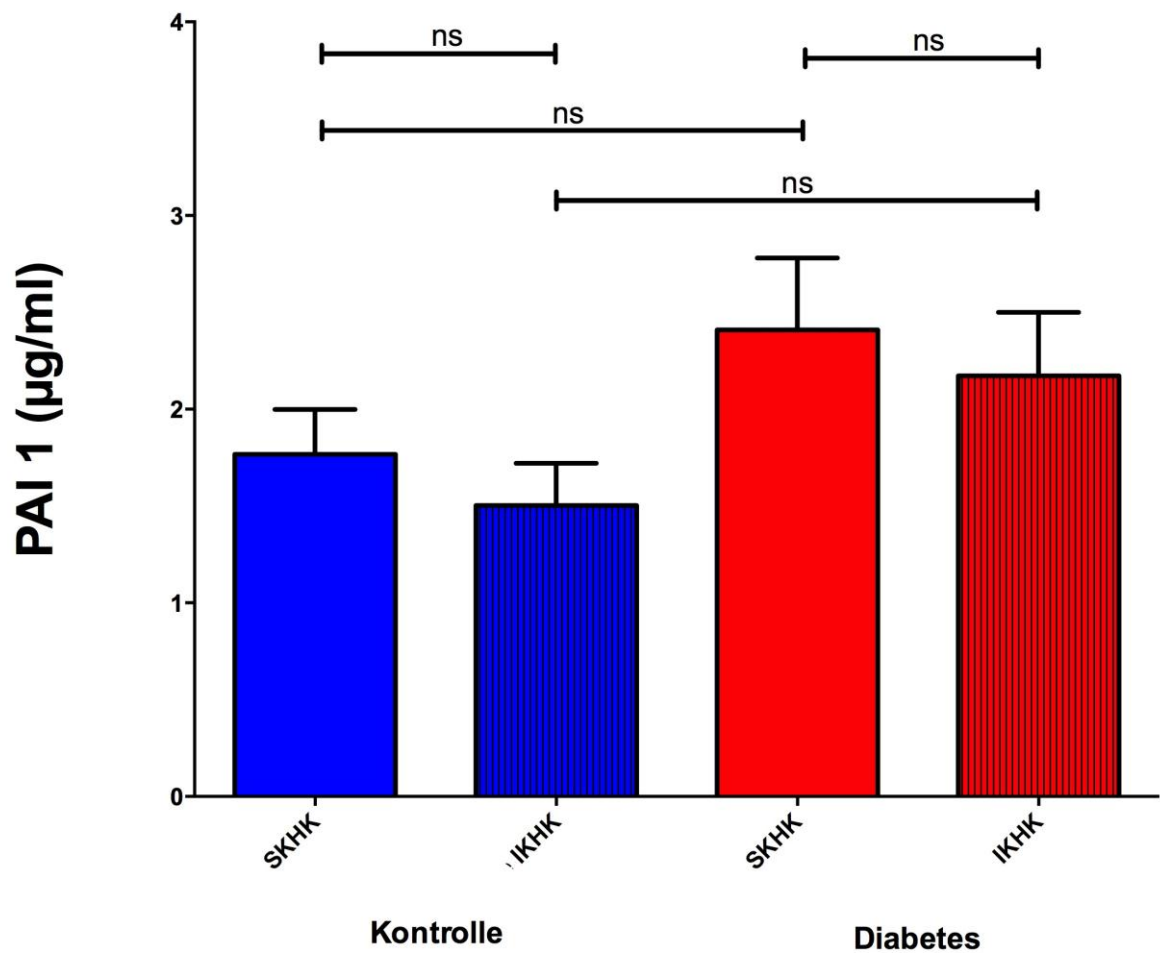


Abbildung 9: Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts für PAI 1 Plasma Spiegel (µg/ml) für Kontrollen und Patienten mit Diabetes in der stabilen und instabilen koronaren Herzerkrankung

Zur Überprüfung des Einflusses der PAI-1-Plasmaspiegel auf die Fibrinolyse-Dauer wurde die Korrelation der Variablen überprüft. Im Gesamtkollektiv der Patienten mit Diabetes und Kontrollen mit KHK zeigt sich hier eine signifikante, positive Korrelation in beiden Gruppen (Diabetes: $r^2 = 0,010$; $p = 0,028$ und Kontrolle: $r^2 = 0,106$; $p = 0,03$) (Abb. 10). In der Subgruppen Analyse der stabilen Patienten mit Diabetes und stabilen Kontrollen zeigt sich hingegen keine Signifikanz hinsichtlich der Korrelation zwischen der Fibrinolyse-Dauer und den PAI-1 Plasmaspiegeln (Diabetes: $r^2 = 0,106$; $p = 0,101$ Kontrolle: $r^2 = 0,057$; $p = 0,249$) (Abb. 11a). In der Subgruppe der instabilen Patienten zeigt sich eine signifikante Korrelation in der Gruppe der Kontrollen. Die Gruppe der instabilen Patienten mit Diabetes zeigt keine signifikante Korrelation (Kontrolle: $r^2 = 0,354$ $p = 0,002$ Diabetes: $r^2 = 0,097$ $p = 0,181$) (Abb. 10,11a & 11b).

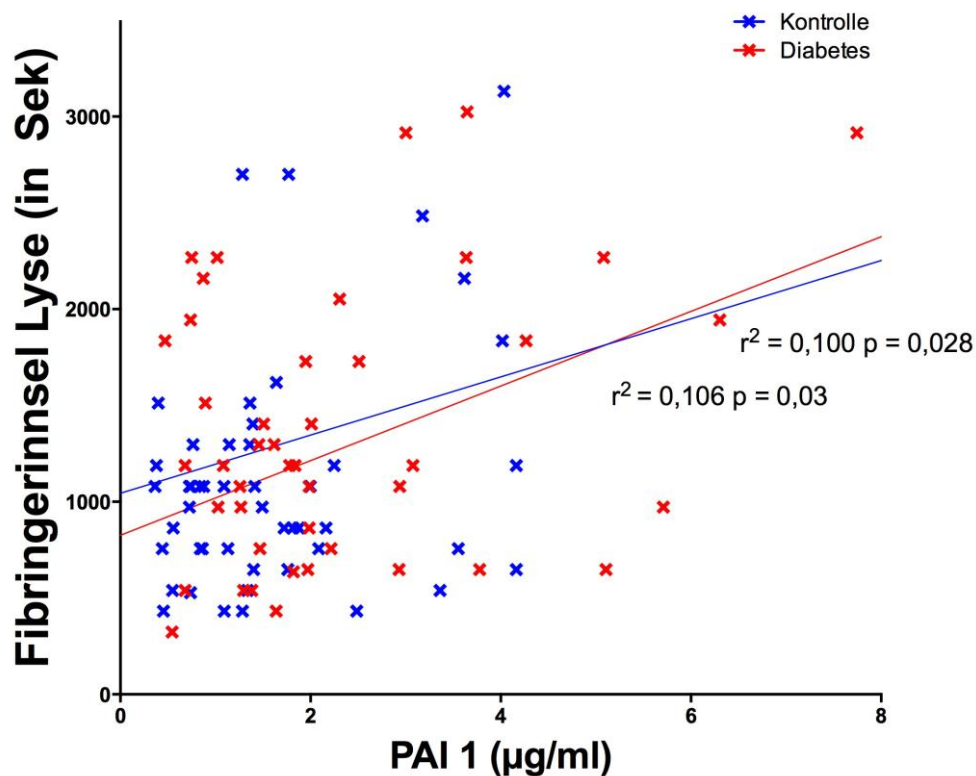


Abbildung 10: Korrelation (R^2) zwischen Fibrinolyse-Dauer und PAI-1-Spiegeln von Diabetes- und Kontrollpatient mit koronarer Herzerkrankung.

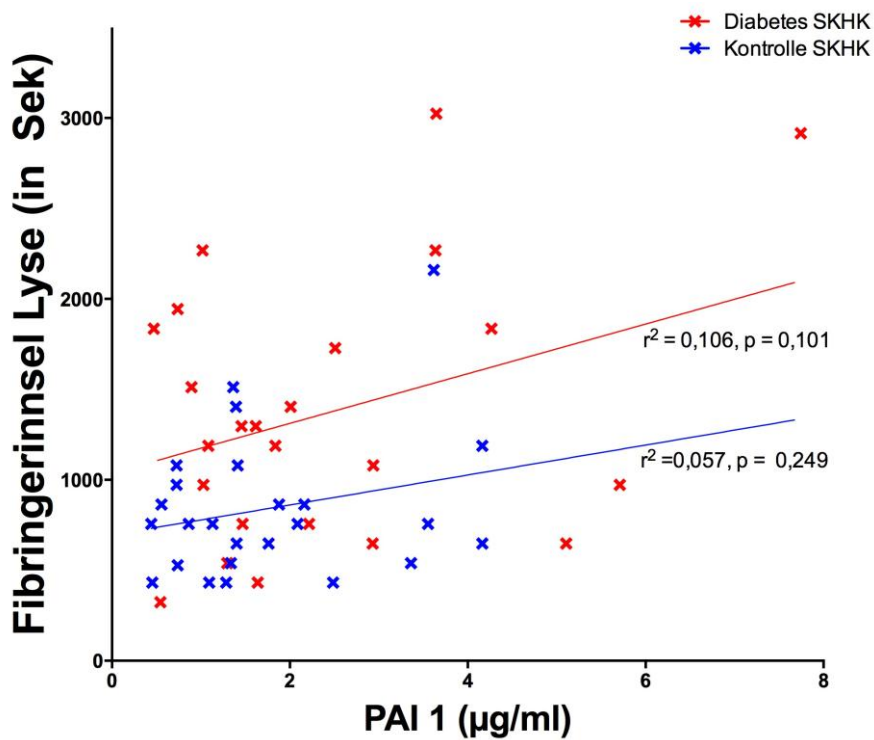


Abbildung 11a: Korrelation (R^2) zwischen PAI-1 Spiegeln und der Fibrinolyse-Dauer von Diabetes- und Kontrollpatienten in der stabilen koronaren Herzerkrankung (SKHK: Stabile koronare Herzerkrankung).

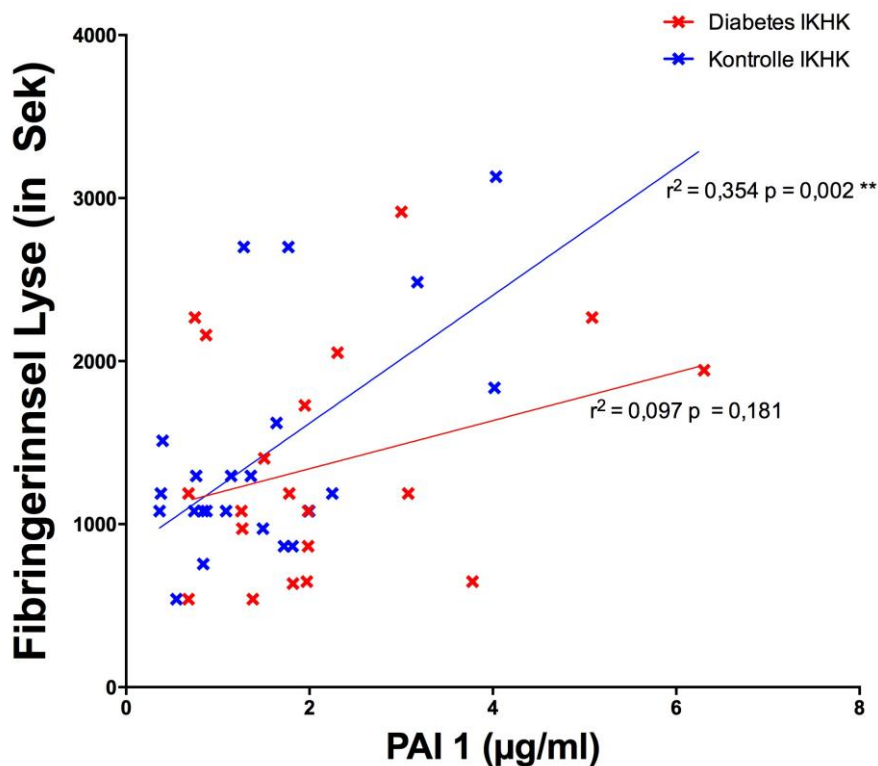


Abbildung 11b: Korrelation (R^2) zwischen Fibrinolyse-Dauer und PAI-1-Spiegeln von Diabetes- und Kontrollpatienten in der instabilen koronaren Herzerkrankung (IKHK: Instabile koronare Herzerkrankung).

4.5. Einfluss des Fibrinogen auf die Fibrinolyse-Dauer

Zur weiteren Klärung des Einflusses von Fibrinogen auf die Fibrinolyse-Dauer wurden die Fibrinogen-Plasmaspiegel bestimmt. Im Kollektiv der Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung zeigen sich in der Gruppe der Patienten mit Diabetes statistisch signifikant erhöhte Fibrinogen-Plasmaspiegel im Vergleich zu den Kontrollen (Diabetes: $8,880 \pm 4,965$ mg/ml vs. Kontrolle: $6,918 \pm 3,638$ mg/ml $p = 0,0323$) (Abb. 12).

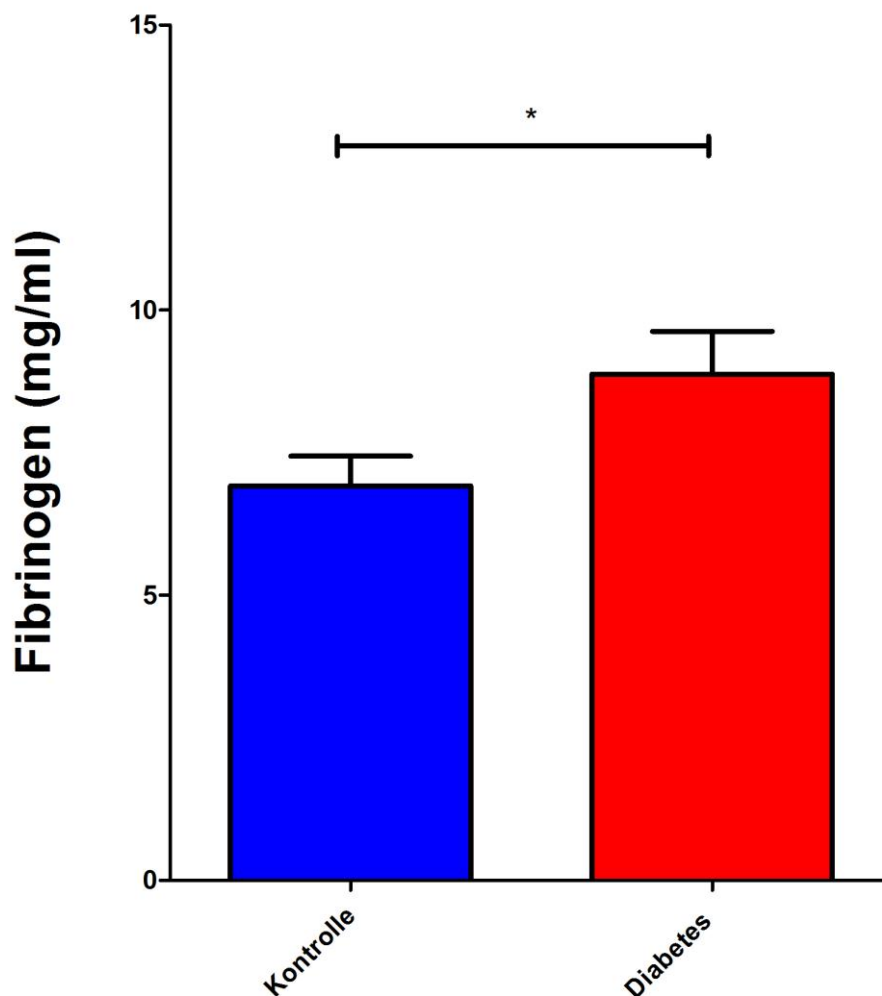


Abbildung 12: Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts der Fibrinogen-Plasmaspiegel in mg/ml für Kontroll- und Diabetespatienten mit einer koronaren Herzerkrankung (* $p < 0,05$).

Des Weiteren zeigen sich die Fibrinogen-Plasmaspiegel in der Gruppe der stabilen Patienten mit Diabetes im Vergleich zu den stabilen Kontrollen signifikant erhöht (Diabetes: $9,785 \pm 6,057 \text{ mg/ml}$ vs. Kontrolle: $6,148 \pm 2,539$; $p = 0,01$). In der Gruppe der instabilen Patienten mit Diabetes ist dieser Effekt nicht mehr vorhanden (Diabetes: $7,793 \pm 3,015 \text{ mg/ml}$ vs. Kontrolle: $7,760 \pm 4,451$; $p = 0,978$). Auffallend zeigen sich bei Patienten mit Diabetes in der instabilen Situation tendenziell erniedrigte Fibrinogen-Spiegel im Vergleich zu den stabilen Patienten mit Diabetes. Dieser Effekt ist allerdings nicht statistisch signifikant (Diabetes SKHK: $9,785 \pm 1,236 \text{ mg/ml}$ vs. Diabetes IKHK: $7,793 \pm 0,646 \text{ mg/ml}$; $p = 0,188$) (Abb 13).

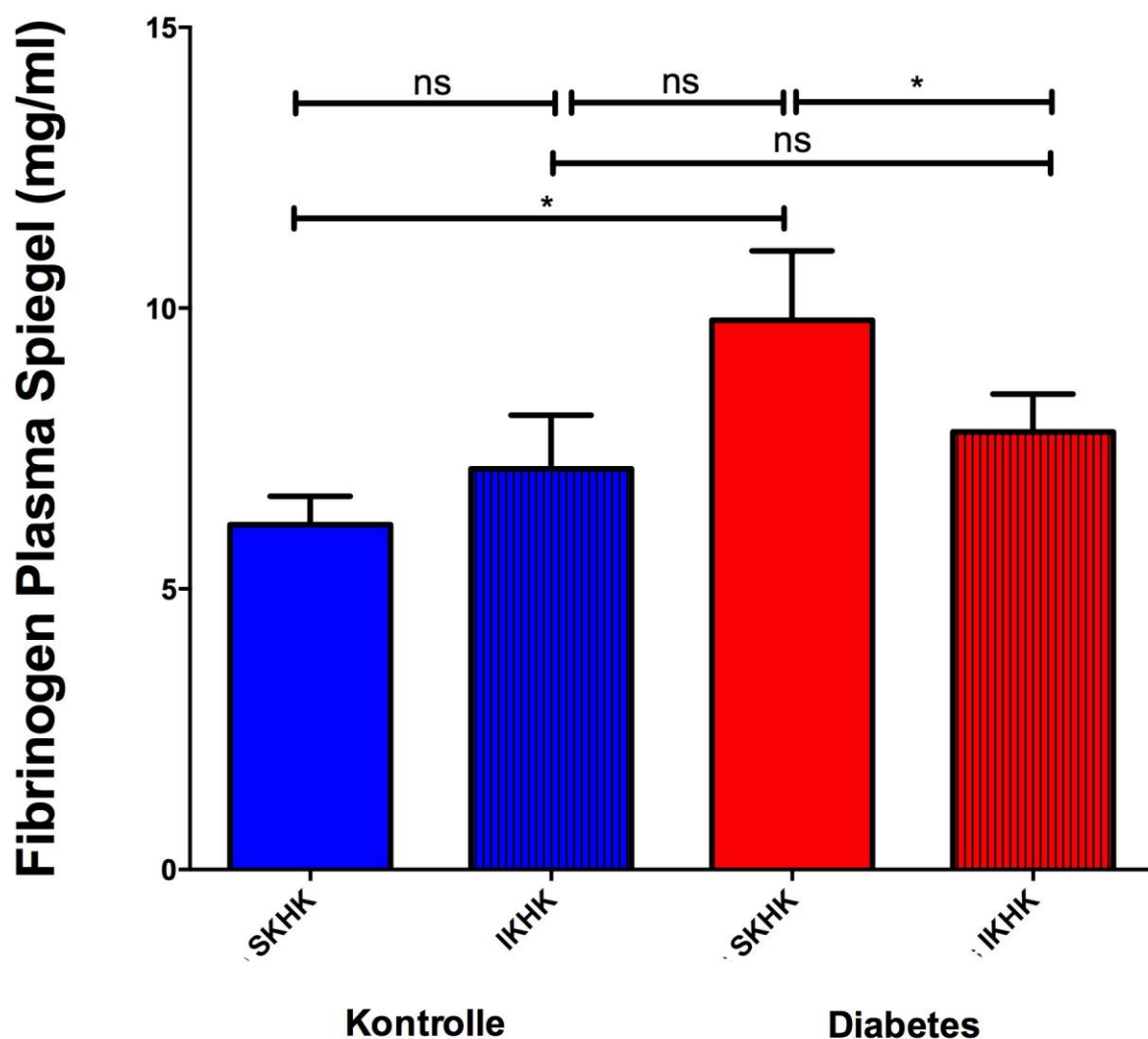


Abbildung 13: Mittelwerte und Standardfehler des Mittelwerts des Fibrinogen-Spiegels (mg/ml) für Kontroll- und Diabetespatienten in der stabilen und instabilen koronaren Herzerkrankung (* $p < 0,05$).

4.6. ANCOVA für Status der koronaren Herzerkrankung

In der Analysis of Covariances (ANCOVA) wurde der Einfluss des KHK-Status des Patienten (instabile und stabile koronare Herzerkrankung) auf die Fibrinolyse-Dauer untersucht. Der Effekt wurde für die Variablen PAI-1-Plasmaspiegel, CRP und Fibringerinnsel-Dichte korrigiert. Um eine Überparametrisierung der ANCOVA zu vermeiden wurde, hinsichtlich der Gruppengröße für lediglich drei Variablen korrigiert. Die Daten wurden gewählt, da sie in den präliminären Analysen einen signifikanten Einfluss auf die Fibrinolyse-Dauer hatten. In der Kontrollgruppe zeigt sich, dass der korrigierte Statuseffekt ein hoch signifikanter Prädiktor der Fibrinolyse-Dauer ist. Es werden durch den Statuseffekt 24,3% der Varianz erklärt bei einer beobachteten Schärfe von 94,8% ist ($p = 0,001$). Die Parameter CRP und PAI 1-Plasmaspiegel sind in diesem Modell ebenfalls signifikante Prädiktoren für die Fibrinolyse-Dauer. Hierbei erklärt das CRP 19,5% der gefundenen Varianz bei einer beobachteten Schärfe von 87,6% ($p = 0,007$) und die PAI-1-Plasmaspiegel 16% bei einer beobachteten Schärfe von 78,9% ($p = 0,003$). Bei den Patienten mit Diabetes findet sich kein unabhängiger Effekt des koronaren Status auf die Fibrinolyse-Dauer. Der korrigierte Statuseffekt erklärt hier lediglich zu 0,001% die gefundene Varianz der Fibrinolyse-Dauer bei einer beobachteten Schärfe von 5,3 % ($p = 0,867$). Lediglich der PAI-1 -Plasmaspiegel ist ein signifikanter Prädiktor für die Fibrinolyse-Dauer mit einer erklärenden Varianz von 11,2% und einer beobachteten Schärfe von 58,0% ($p = 0,033$).

Tabelle 13: ANCOVA für die abhängige Variable Fibrinolyse-Dauer und die unabhängige Variable Status (Instabil/stabile KHK). Modell korrigiert für PAI-1 und CRP Plasmaspiegel sowie Fibringerinnsel Dichte.

Gruppe	Parameter	Partielles Eta-Quadrat	Beobachtete Schärfe	p-Wert
Kontrolle	PAI 1	0,160	0,789	,007
	CRP	0,195	0,876	,003
	Fibringerinnsel Dichte	0,007	0,081	,600
	Status	0,243	0,948	,001
Diabetes	PAI 1	0,112	0,580	,033
	CRP	0,004	0,069	,682
	Fibringerinnsel Dichte	0,017	0,128	,410
	Status	0,001	0,053	,867

4.7 Lineare Regression – Patientencharakteristika

Die lineare Regressionsanalyse wurde für die erfassten Parameter der Patientencharakteristika erstellt. In diese Analyse sind die Parameter Geschlecht, Alter, BMI, Zeitpunkt der Blutentnahme und die Art des Infarkts (z.B. STEMI oder NSTEMI) eingeflossen. In der Regressionsanalyse zeigt sich, dass die Variablen Alter, Geschlecht und BMI sowohl bei den Patienten mit Diabetes als auch den Kontrollen in der stabilen und instabilen Situation keinen Einfluss auf die Fibrinolyse haben.

Die Art des Infarktes hat bei den Patienten mit Diabetes und Kontrollen keinen Einfluss auf die Fibrinolyse. Ein STEMI ist in der Gruppe der Kontrollen zwar mit einer verlängerten Fibrinolyse von durchschnittlich 215 Sekunden assoziiert (95% KI -393; 824), eine statistische Signifikanz zeigt sich allerdings nicht bei einem P-Wert von 0,471. Bei den Patienten mit Diabetes zeigt sich im Rahmen eines STEMI im Vergleich zu einem NSTEMI zwar eine Verkürzung der Fibrinolyse-Dauer um -488 Sekunden (95% KI -1179; 203), allerdings ist dieser Effekt ebenfalls nicht statistisch signifikant bei einem P-Wert von 0,155.

Die Latenz zwischen Blutentnahme und Indexereignis hat in der instabilen Situation keinen Einfluss auf die Fibrinolyse bei Patienten mit Diabetes und Kontrollen. Hier zeigt sich für die Patienten mit Diabetes eine nicht signifikante Verlängerung der Fibrinolyse um 44,46 Sekunden (95% KI -70,40; 159,32 $p = 0,427$) pro Tag Differenz zwischen Blutentnahme und Indexereignis. Für die Gruppe der Kontrollen zeigt sich ein Wert von 113,35 Sekunden (95% KI 114,31; 341,02 $p = 0,312$).

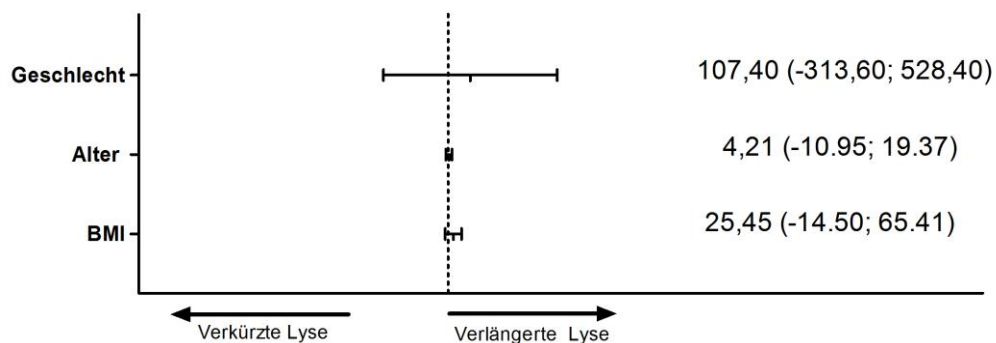


Abbildung 14: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für die Patientencharakteristika Geschlecht (hier: Männlich), Alter (in Jahren), BMI (in kg/m^2) für Kontrollpatienten in der stabilen Situation.

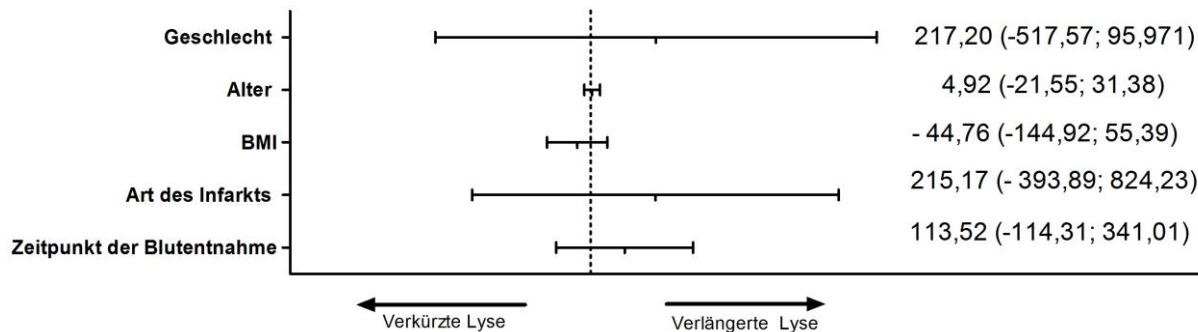


Abbildung 15: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für die Patientencharakteristika Geschlecht (hier: Männlich), Alter (in Jahren), BMI (in kg/m^2), Art des Infarkts (hier: STEMI) und Zeitpunkt der Blutentnahme (in Tagen) für Kontrollpatienten in der instabilen Situation.

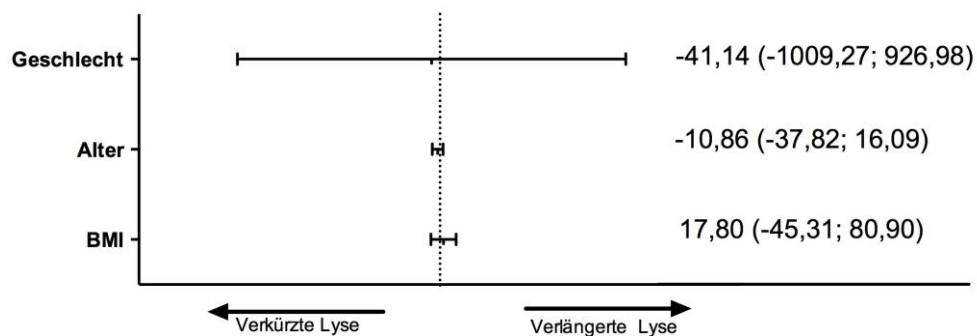


Abbildung 16: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für die Patientencharakteristika Geschlecht (hier: Männlich), Alter (in Jahren), BMI (in kg/m^2) für Diabetespatienten in der stabilen Situation.

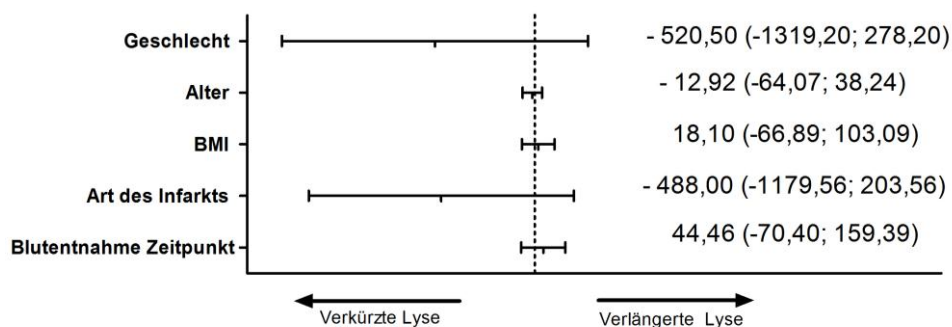


Abbildung 17: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für die Patientencharakteristika Geschlecht (hier: Männlich), Alter (in Jahren), BMI (in kg/m^2), Infarkt Status

(hier: STEMI) und Zeitpunkt der Blutentnahme (in Tagen) für Diabetespatienten in der instabilen Situation.

4.8 Lineare Regression – Laborparameter

Die lineare Regressionsanalyse wurde für die Proteine der Koagulation PAI-1 und Fibrinogen durchgeführt. Darüber hinaus wurde der Einfluss der Fibringerinnsel-Dichte, des WBC, des CRP und des HbA_{1c} auf die Fibrinolyse untersucht.

In der Gruppe der stabilen Kontrollen zeigt sich ein hochsignifikanter Einfluss des Fibrinogen-Plasmaspiegels bei einem Regressionskoeffizienten von 0,11 (95% KI 0,07; 0,16 $p < 0,001$) und der Fibringerinnsel-Dichte mit einem Regressionskoeffizienten von 1548,67 (95% KI: 233,74; 2863,60 $p = 0,023$). Ebenfalls ist das CRP ein signifikanter Prädiktor mit einem Regressionskoeffizienten von 18,03 (95% KI 10,00; 26,08 $p < 0,001$).

In der Gruppe der instabilen Kontrollen bleibt der prädiktive Wert des CRP erhalten bei einem signifikanten Regressionskoeffizienten von 12,34 (95% KI: 0,43; 24,25 $p = 0,043$). Darüber hinaus ist PAI-1 ebenfalls ein signifikanter Prädiktor der Fibrinolyse mit einem Regressionskoeffizienten von 0,39 (95% KI: 0,15; 0,63 $p = 0,003$).

Interessanterweise ist der prädiktive Effekt in der Gruppe der stabilen Patienten mit Diabetes für PAI-1 und CRP nicht mehr vorhanden. Hier zeigt sich in der Gruppe der stabilen Patienten mit Diabetes ein Regressionskoeffizient für PAI-1 von 0,14 (95% KI: -0,03; 0,31 $p = 0,106$) und für das CRP von 1,07 (95% KI: -20,07; 22,24 $p = 0,917$). Interessanterweise zeigt sich allerdings bei den stabilen Patienten mit Diabetes die Leukozytenzahl (WBC) als signifikanter Prädiktor der Fibrinolyse mit einem Regressionskoeffizienten von 215,60 (95% KI: 30,08; 401,19 $p = 0,025$). Darüber hinaus ist die Fibringerinnsel-Dichte prädiktiv für die Fibrinolyse mit einem Regressionskoeffizienten 2609,59 (95% KI 478,99; 4740,19 $p = 0,019$).

In der Gruppe der instabilen Patienten mit Diabetes zeigt sich keiner der erfassten Laborparameter prädiktiv für die Fibrinolyse im akuten Myokardinfarkt. Es besteht ein grenzwertiger Trend bezüglich des prädiktiven Wertes der PAI-1-Plasmaspiegel mit einem Regressionskoeffizienten von 0,15 (95% KI: -0,07; 0,37 $p = 0,106$) allerdings ohne signifikanten Effekt.

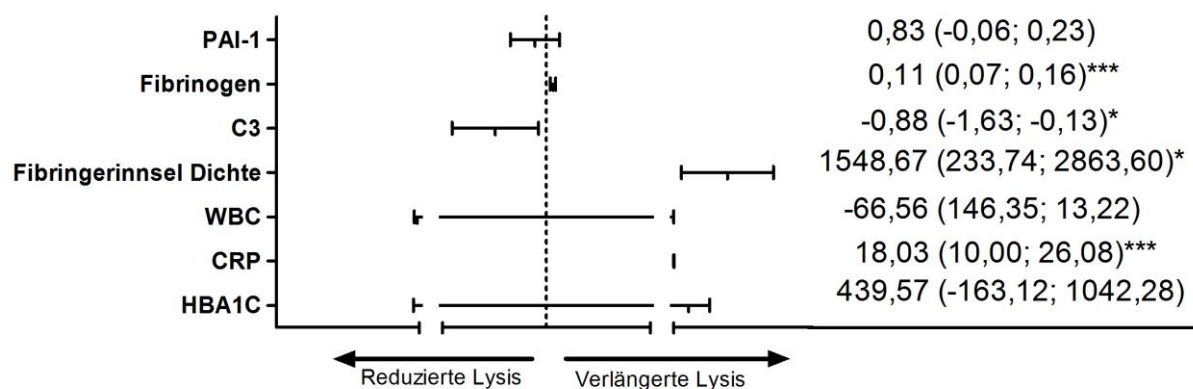


Abbildung 18: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für Laborparameter PAI-1 ($\mu\text{g/ml}$), Fibrinogen ($\mu\text{g/ml}$), C3 (mg/ml), Fibrinogeninnsel-Dichte (AU), WBC (/nl), CRP (mg/l) und HbA_{1c} (%) bei metabolisch gesunden Kontrollen mit stabiler koronarer Herzerkrankung ($p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$) (PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor – 1, C3: Komplement C3, AU: Arbitrary Units, WBC: Leukozyten, CRP: C-reaktives Protein)

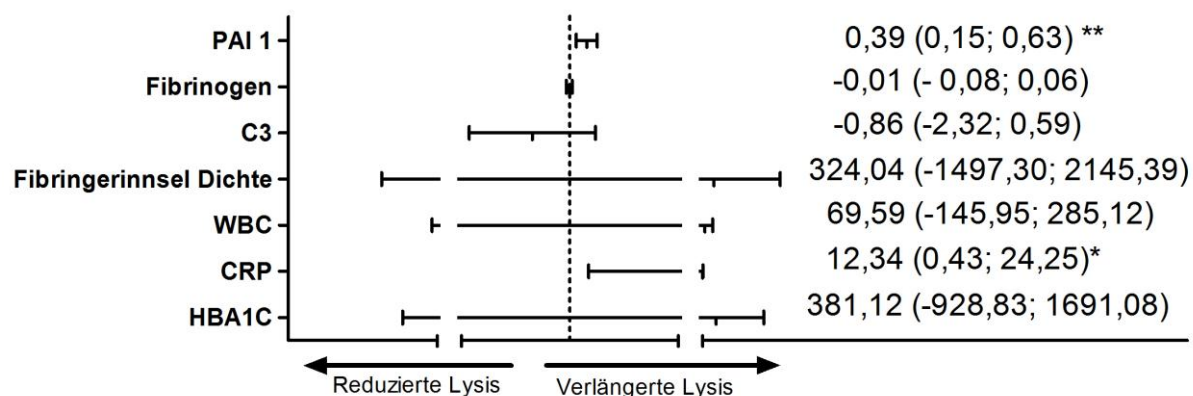


Abbildung 19: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für Laborparameter PAI-1 ($\mu\text{g/ml}$), Fibrinogen ($\mu\text{g/ml}$), C3 (mg/ml), Fibrinogeninnsel-Dichte (AU), WBC (/nl), CRP (mg/l) und HbA_{1c} (%) bei metabolisch gesunden Kontrollen mit instabiler koronarer Herzerkrankung ($p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$) (PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor – 1, C3: Komplement C3, AU: Arbitrary Units, WBC: Leukozyten, CRP: C-reaktives Protein)

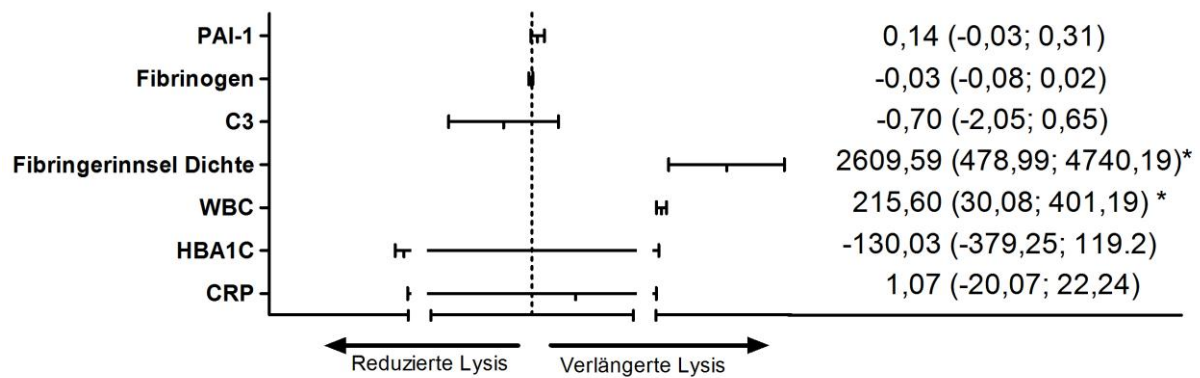


Abbildung 20: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für Laborparameter PAI-1 ($\mu\text{g/ml}$), Fibrinogen ($\mu\text{g/ml}$), C3 (mg/ml), Fibringerinnsel-Dichte (AU), WBC (/nl), CRP (mg/l) und HbA_{1c} (%) bei Patienten mit Diabetes mit stabiler koronarer Herzerkrankung ($p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$) (PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor – 1, C3: Komplement C3, AU: Arbitrary Units, WBC: Leukozyten, CRP: C-reaktives Protein)

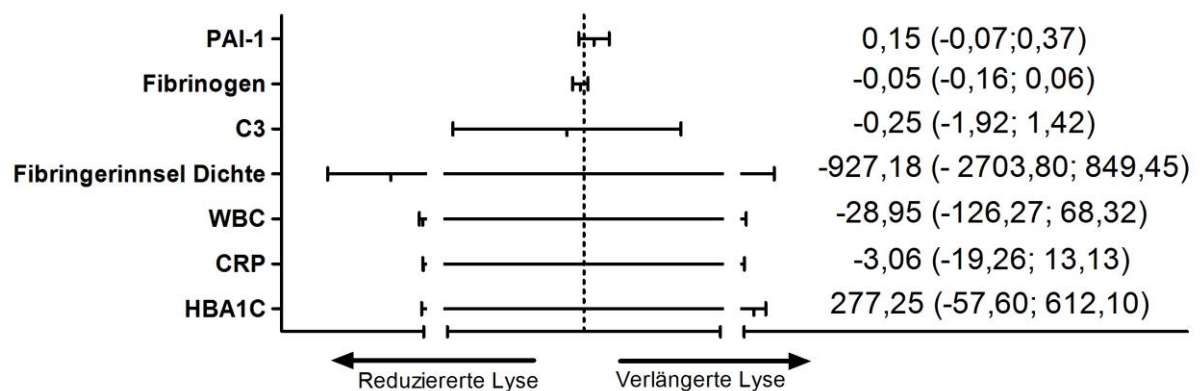


Abbildung 21: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für Laborparameter PAI-1 ($\mu\text{g/ml}$), Fibrinogen ($\mu\text{g/ml}$), C3 (mg/ml), Fibringerinnsel-Dichte (AU), WBC (/nl), CRP (mg/l) und HbA_{1c} (%) bei Patienten mit Diabetes mit instabiler koronarer Herzerkrankung ($p < 0,05^*$, $p < 0,01^{**}$, $p < 0,001^{***}$) (PAI-1: Plasminogen Activator Inhibitor – 1, C3: Komplement C3, AU: Arbitrary Units, WBC: Leukozyten, CRP: C-reaktives Protein)

4.9 Lineare Regression - Medikation

Die lineare Regression wurde für die erfasste kardioprotektive und antidiabetische Medikation der Patienten durchgeführt. Erfasst wurden die Thrombozytenaggregationshemmung (TAH), Betablocker-, ACE Hemmer-, Statin-, und Diuretika-Therapie sowie die Antikoagulation. Darüber hinaus wurde ein eventuelles Loading erfasst. Für die Diabetespatienten wurden Insulin-Therapie, orale Antidiabetika oder eine diätetische Therapie dokumentiert.

In der Gruppe der stabilen Kontrollen zeigt sich kein signifikanter Einfluss der Medikation auf die Fibrinolyse. In der Gruppe der instabilen Kontrollen hingegen zeigt sich ein protektiver Effekt der Betablocker Therapie auf die Fibrinolyse mit einem Regressionskoeffizienten von -1044,00 (95% KI -2020,35; -67,65 $p = 0,037$). Da 100% der Patienten in den instabilen Gruppen eine duale Thrombozytenaggregationshemmung (TAH) erhalten haben war keine Auswertung hinsichtlich der Fibrinolyse möglich.

In der Gruppe der stabilen Patienten mit Diabetes zeigt sich ebenfalls kein signifikanter Effekt der Medikation auf die Fibrinolyse der Patienten. Es zeigt sich allerdings ein Trend einer TAH-Therapie zur verlängerten Fibrinolyse mit einem Regressionskoeffizienten von 419,35 (95% KI: -41,93; 880,62 $p = 0,073$).

In der Gruppe der instabilen Patienten mit Diabetes zeigt sich ein signifikanter prädiktiver Effekt der Statin-Therapie auf die Fibrinolyse mit einem Regressionskoeffizienten von - 891 (95% KI - 1605; - 178 $p = 0,017$). Weiterhin ist die diätetische Einstellung des Diabetes mellitus ein protektiver Faktor für die Fibrinolyse-Dauer mit einem Regressionskoeffizienten von - 743 (95% KI -1309; -178 $p = 0,013$). Insbesondere die antidiabetische Therapie hat allerdings keinen Einfluss auf die Fibrinolyse in dieser Kohorte mit einem Regressionskoeffizienten für das Insulin von 507,42 (KI 95%: -150,02; 1164,87 $p = 0,122$) und lediglich im Trend die oralen Antidiabetika mit einem Koeffizienten von 765,18 (KI 95%: -95,24; 1625,20 $p = 0,078$).

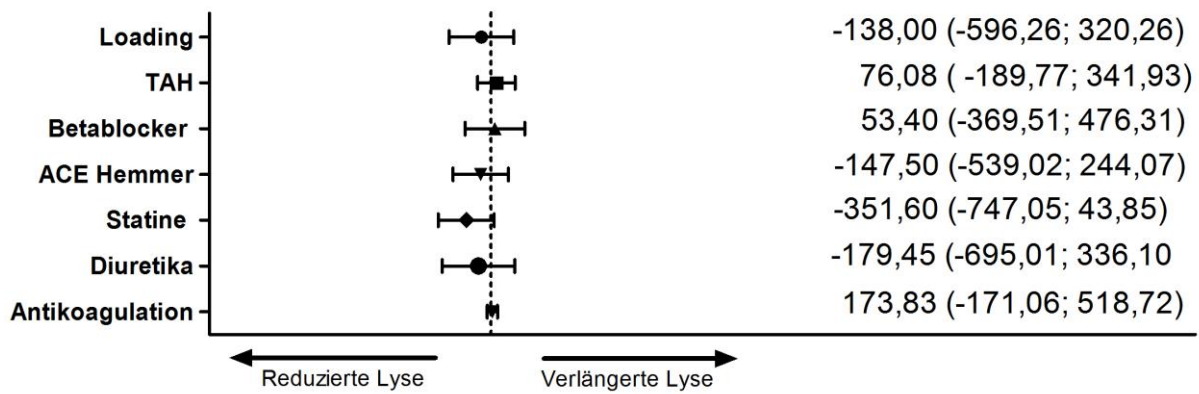


Abbildung 22: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für die medikamentöse Behandlung Loading (ja/nein), Thrombozytenaggregationshemmung (TAH) (ja/nein), Betablocker (ja/nein), Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Hemmer (ja/nein), Statine (ja/nein), Diuretika (ja/nein) und Antikoagulation (ja/nein) bei metabolisch gesunden Kontrollen mit stabiler koronarer Herzerkrankung.

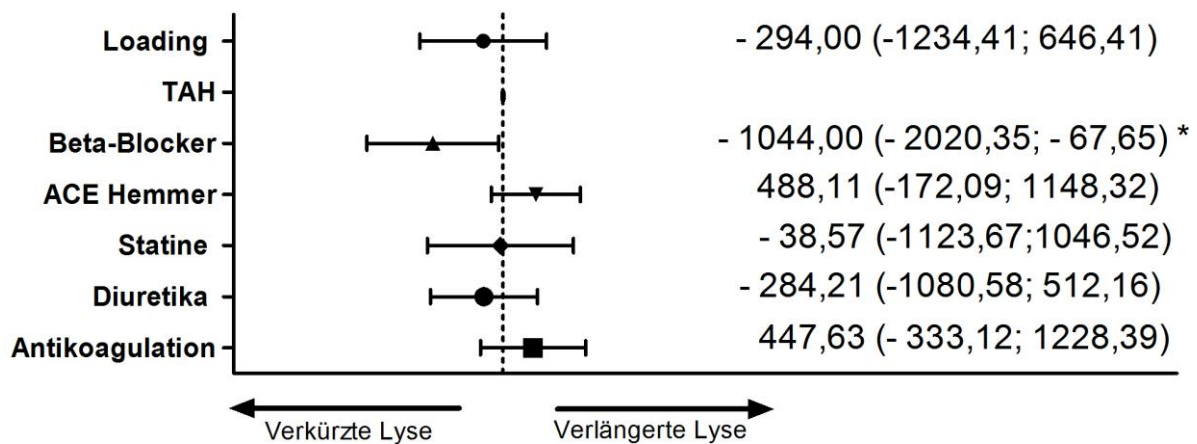


Abbildung 23: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für die medikamentöse Behandlung Loading (ja/nein), Thrombozytenaggregationshemmung (TAH) (ja/nein), Betablocker (ja/nein), Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Hemmer (ja/nein), Statine (ja/nein), Diuretika (ja/nein) und Antikoagulation (ja/nein) bei metabolisch gesunden Kontrollen mit stabiler koronarer Herzerkrankung ($p < 0,05^*$).

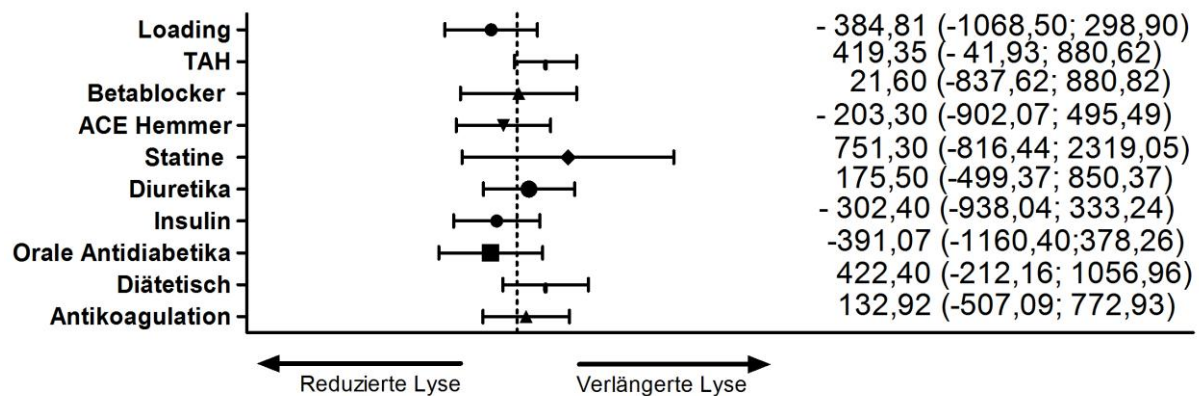


Abbildung 24: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für die medikamentöse Behandlung Loading (ja/nein), Thrombozytenaggregationshemmung (TAH) (ja/nein), Betablocker (ja/nein), Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Hemmer (ja/nein), Statine (ja/nein), Diuretika (ja/nein) und Antikoagulation (ja/nein) bei Diabetespatienten mit stabiler koronarer Herzerkrankung.

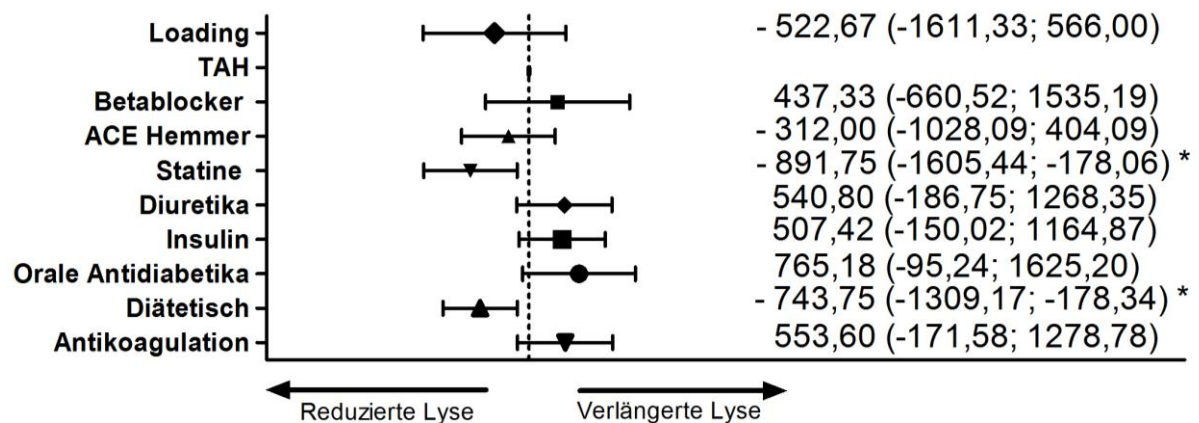


Abbildung 25: Linearer Regressionskoeffizient und 95% Konfidenzintervall für die medikamentöse Behandlung Loading (ja/nein), Thrombozytenaggregationshemmung (TAH) (ja/nein), Betablocker (ja/nein), Angiotensin Converting Enzyme (ACE) Hemmer (ja/nein), Statine (ja/nein), Diuretika (ja/nein) und Antikoagulation (ja/nein) bei Diabetespatienten mit instabiler koronarer Herzerkrankung ($p < 0,05^*$).

5. Diskussion

Die vorliegende Studie zeigt, dass metabolisch gesunde Individuen im akuten Myokardinfarkt eine signifikant verlängerte Fibrinolyse-Dauer aufweisen. Des Weiteren demonstriert die Studie, dass die Fibrinolyse-Dauer von Patienten mit Diabetes, bereits in der stabilen KHK, der von metabolisch gesunden Individuen im akuten Myokardinfarkt entspricht. Der akute Myokardinfarkt hat bei Patienten mit Diabetes keinen Einfluss auf die Fibrinolyse-Dauer.

5.1. Fibringerinnsel-Struktur und Fibrinolyse-Dauer bei Patienten mit Diabetes und metabolisch gesunden Patienten

Das Fibringerinnsel bildet den letzten Schritt in der Kaskade der arteriellen Thrombose. Eine dichtere Fibringerinnsel-Struktur und verlängerte -Lyse sind im akuten Myokardinfarkt mit mehr Komplikationen und komplexeren Infarkten assoziiert (Zalewski et al. 2007). Es ist bekannt, dass Patienten mit Diabetes eine signifikant dichtere Fibringerinnsel Struktur mit kleineren Poren aufweisen, die ebenfalls eine verlängerte Fibrinolyse bedingen (Jörneskog et al. 1996). In der vorliegenden Studie zeigt sich zwar im Trend, im Kollektiv der Patienten mit Diabetes, eine dichtere Fibringerinnsel Struktur, allerdings ohne statistisch signifikanten Unterschied (vgl. Abbildung 4). Eine mögliche Ursache für diesen Effekt ist die geringe Anzahl an Patienten in den verschiedenen Gruppen, sodass die Power der Stichprobe nicht ausgereicht haben könnte um einen signifikanten Effekt anzuzeigen. Patienten mit Diabetes bilden ein sehr heterogenes Kollektiv, sodass es möglich ist, dass signifikante Effekte verschleiert werden. Weiterhin haben Fibrinspiegel einen entscheidenden Effekt auf die Fibringerinnsel Dichte. Dunn et al. konnten beispielsweise zeigen, dass Fibringerinnsel, die aus aufgereinigtem Fibrinogen von Patienten mit Diabetes Typ 2 gebildet wurden, eine signifikant dichtere Struktur mit kleineren Poren aufwiesen als die von metabolisch gesunden Kontrollen (Dunn et al. 2005). Pieters et al. konnten zeigen, dass insbesondere die vermehrte Glycosylierung des Fibrinogen durch erhöhte Serum Glukose Spiegel zu einer dichteren Fibringerinnsel Struktur beiträgt (Pieters et al. 2007). Daher scheint insbesondere die diabetische Einstellung der Patienten ein relevanter Faktor. Auffallend zeigt sich in diesem Kontext die insgesamt sehr gute diabetische Einstellung der Patienten im vorliegenden Kollektiv mit einem durchschnittlichen

HbA_{1c} von 6,81% ± 1,16%. Dieser Wert ist insbesondere auffallend, da in vergleichbaren Kollektiven in denen die Fibringerinnsel Struktur in Patienten untersucht wurde, der Glukose Langzeitwert wesentlich höher ist (Gugliucci et al. 1994, Dunn et al. 2005).

Neben der Fibringerinnsel Dichte ist auch die Dauer der Fibrinolyse ein entscheidender Prädiktor für das kardiovaskuläre Risiko. Guimaraes et al. demonstrierten in einem Kollektiv junger Patienten mit Zustand nach Myokardinfarkt, ischämischem Schlaganfall oder peripherer arterieller Verschlusskrankheit, dass die Dauer der Fibrinolyse einen Risikofaktor für die arterielle Thrombose darstellt (Guimarães et al. 2009). Weiterhin errechneten Siegerink et al. in einer Kohorte aus 383 Patienten mit einer arteriellen Thrombose, dass die verlängerte Fibrinolyse das Risiko auf einen Myokardinfarkt verdreifacht (Siegerink et al. 2012). Bei Patienten mit Diabetes wird eine verlängerte Fibrinolyse unter anderem durch erhöhte PAI-1 und Fibrinogen Plasmaspiegel sowie erhöhte Konzentrationen von Gerinnungsfaktoren verursacht (Schneider and Burton 2012). Im Hinblick auf das erhöhte kardiovaskuläre Risiko von Patienten mit Diabetes ist es wahrscheinlich, dass die verlängerte Fibrinolyse bei Patienten mit Diabetes ein Surrogatparameter für das erhöhte kardiovaskuläre Risiko ist. Interessanterweise zeigt sich hinsichtlich der Fibrinolyse Dauer kein signifikanter Unterschied im gesamt Kollektiv der Patienten mit Diabetes und Kontrollen (vgl. Abbildung 6). Ursächlich hierfür ist wahrscheinlich die studienbedingte Heterogenität des Kollektivs. In der Gruppe der Patienten mit Diabetes und metabolischen Kontrollen, sind Patienten der stabilen und instabilen Situation zusammengefasst, sodass sich hierdurch eine ausgeprägte Variabilität des Kollektivs ergibt. Diese These stützend, zeigt sich in der weiteren Aufschlüsselung hinsichtlich stabiler und instabiler koronarer Herzerkrankungen daher auch im Konsens mit der Literatur, dass Patienten mit einem Diabetes mellitus eine signifikant verlängerte Fibrinolyse-Dauer im Vergleich zu metabolisch gesunden Patienten in der stabilen koronaren Herzerkrankung aufweisen (vgl. Abbildung 7). Dieser Effekt ist in der vorliegenden Studie mit erhöhten Fibrinogen- und PAI-1-Spiegel assoziiert. Erhöhte Fibrinogen-Spiegel sind, wie eingangs berichtet, mit dichteren, kompakteren Fibringerinnseln bei Patienten mit Diabetes verbunden, die wiederum zu einer verlängerten Fibrinolyse führen (Dunn et al. 2005). Unterstützend zeigt sich neben den signifikant erhöhten Fibrinogen-Spiegeln in der Kohorte der stabilen Patienten

mit Diabetes ein signifikanter prädiktiver Wert der Fibringerinnsel-Dichte auf die Fibrinolyse. PAI-1 hingegen kann die Fibrinolyse direkt über die Hemmung von tPA inhibieren und stellt somit einen unabhängigen Faktor in der verlängerten Dauer der Fibrinolyse dar (Hess and Grant 2011). Neben den erhöhten PAI-1 Spiegeln in der Gruppe der Patienten mit Diabetes zeigt sich hier entsprechend auch eine signifikante Korrelation im Kollektiv der Patienten mit Diabetes.

Der Effekt eines akuten Myokardinfarkts auf die Fibrinolyse wurde von Undas et al. in einem Kollektiv von 40 Patienten mit STEMI und NSTEMI ohne Diabetes beschrieben (Undas et al. 2008). In der Studie konnte belegt werden, dass der akute Infarkt mit einer Verlängerung der Fibrinolyse assoziiert ist. Entsprechend findet sich in der vorliegenden Studie ein verlängernder Effekt des akut Ereignisses auf die Fibringerinnsel Lyse Dauer, der sich allerdings in der Gruppe der Patienten mit Diabetes nicht bestätigen lässt. Als Prädiktoren für den verlängerten Effekt auf die Fibrinolyse wurden von Undas et al. neben klassischen Parametern der Koagulation auch inflammatorische Parameter wie der Marker für metabolischen Stress 8-iso-PGF₂α, CRP und IL-6 identifiziert (Undas et al. 2008). Es wird vermutet, dass ein akutes Koronarsyndrom mit einer pro-thrombotischen Neigung der Patienten einhergeht. Palmerini et al. konnten beispielsweise demonstrieren, dass in Fibringerinnseln von Patienten im akuten Myokardinfarkt vermehrt Areale mit aktiviertem Tissue Faktor nachweisbar sind, die die Koagulation der Patienten beeinflussen könnten (Palmerini et al. 2013). Weiterhin konnte von Moyssakis et al. bei 35 Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt zeigen, dass Patienten im akuten Infarkt erniedrigte Antithrombin III- und Protein C-Spiegel haben, sodass ein hypofibrinolytisches Milieu entsteht (Moyssakis et al. 2010). Die von Undas et al. aufgezeigte Beziehung zwischen Inflammation, oxidativem Stress und Koagulation im akuten Myokardinfarkt ist hingegen unzureichend untersucht. Becatti et al. konnten allerdings kürzlich nachweisen, dass im Rahmen eines akuten Myokardinfarkts die Fibrinogen-Struktur durch erhöhte Carbonylierung im Rahmen von erhöhtem oxidativem Stress zu einer kompakteren Struktur und verlängerten Fibrinolyse führt (Becatti et al. 2014). Für eine Überprüfung dieser Hypothese in unserem Kollektiv wären massenspektroskopische Untersuchungen des Fibrinogens notwendig, die im Rahmen der Studie nicht durchgeführt wurden. In der vorliegenden Studie findet sich dennoch ein hochsignifikanter Einfluss von CRP und PAI-1 auf die

Fibrinolyse in der ANCOVA für metabolisch gesunde Patienten in der instabilen Situation. Da CRP und PAI-1 etablierte Akut-Phase Proteine sind, könnte somit hierdurch der oxidative Stress indirekt widerspiegelt werden. Im Modell erklärt das CRP die gefundene Varianz der Fibrinolyse zu 19,5%, während PAI-1 die Varianz zu 16% erklärt. Diese Ergebnisse werden auch in der linearen Regressionsanalyse widerspiegelt, in der beide Plasmaspiegel als einzige laborchemische Parameter einen signifikanten prädiktiven Wert in Bezug auf die Fibrinolyse-Dauer haben. Diese Ergebnisse werden durch die aktuelle Studienlage gestützt. Habib et al. konnten beispielsweise in einer Case-Control Studie zeigen, dass PAI-1 Level bei metabolisch gesunden Patienten mit ACS gegenüber Angina Pectoris Patienten erhöht sind (Habib et al. 2012). Weiterhin konnten Rott et al. in einer prospektiven Studie mit 67 metabolisch gesunden Patienten mit akutem Myokardinfarkt nachweisen, dass Patienten mit einem STEMI signifikant höhere PAI-1-Spiegel aufweisen als Patienten mit einem NSTEMI (Rott et al. 2009). Interessanterweise ist das isolierte Infarktereignis, korrigiert für CRP, PAI-1 und die Fibringerinnsel-Dichte, in der Gruppe der instabilen, metabolisch gesunden Kontrollen mit 24,3 % die Variable in der ANCOVA, die den Zusammenhang am besten erklärt. Es ist denkbar, dass das isolierte Infarktereignis in diesem Modell ein Confounder für oxidativen Stress oder Inflammation ist, der nicht erfasst wurde. Somit ist es im Kontext Studien von Undas et al. und Becatti et al. wahrscheinlich, dass die verlängerte Fibrinolyse in der Gruppe der metabolisch gesunden Patienten durch erhöhten oxidativen Stress und die Inflammation zu erklären ist. Diese Hypothese ist darüber hinaus interessant, da gezeigt werden konnte, dass die Reperfusion nach Myokardinfarkt den oxidativen Stress und die Inflammation im Tiermodell noch verstärkt, sodass die Patienten nach erfolgter Intervention einer besonders hohen Belastung ausgesetzt sein könnten (Frangogiannis et al. 2002). Darüber hinaus könnte auch eine akute Hyperglykämie im Rahmen des Myokardinfarkts eine Rolle spielen. Es wird vermutet, dass es durch den erhöhten oxidativen Stress im Myokardinfarkt zu einer akuten Hyperglykämie kommt (Ceriello 2005). Der Zusammenhang zwischen der akuten Hyperglykämie und dem Myokardinfarkt ist etabliert und assoziiert mit einer schlechteren Prognose der Patienten (Gokhroo and Mittal 1989). Iwakura et al. wiesen nach, dass die akute Hyperglykämie bei Patienten mit Myokardinfarkt mit schwereren Infarkten durch ein vermehrtes Auftreten von no-reflow-Phänomenen assoziiert ist (Ceriello 2005). Im Tiermodell konnte weiterhin von Kersten et al.

demonstriert werden, dass die akute Hyperglykämie im Hundemodell die ischämische Präkonditionierung des Myokards unterbricht und somit in der Lage ist, die Sensitivität des Myokards auf ein ischämisches Ereignis zu modulieren (Kersten et al. 1998). Auch in humanen Clamp Studien konnten Stegenga et al. demonstrieren, dass eine kontinuierliche Infusion von Glukose bei metabolisch gesunden Probanden zu einer Zunahme des löslichen Thrombin-Antithrombin-Komplexes und TF-Spiegeln führt (Stegenga et al. 2006), so dass die akute Hyperglykämie ein möglicher additionaler Mechanismus ist, der die verlängerte Fibrinolyse bei metabolisch gesunden Patienten erklärt. Leider wurden durch den retrospektiven Charakter der Studie die Glukosewerte der Patienten nicht einheitlich dokumentiert, so dass diese als Variable nicht auswertbar ist. Die Glukosewerte aus den Blutentnahmen sind, aufgrund der Latenz zum Indexereignis, ebenfalls nicht auswertbar.

In der Gruppe der instabilen Patienten mit Diabetes zeigen die Parameter der Koagulation und das CRP keinen signifikanten Effekt auf die Fibrinolyse-Dauer. Lediglich die PAI-1-Plasmaspiegel sind im Trend in der linearen Regressionsanalyse mit einer verlängerten Fibrinolyse assoziiert. Das ist insbesondere bemerkenswert, da PAI-1 ein etabliertes antifibrinolytisches Protein ist, dessen Effekt auf die Fibrinolyse gut untersucht ist (Bochenek et al. 2013). Eine mögliche Ursache, die den Effekt des PAI-1 auf die Lyse moduliert haben könnte, ist die zeitliche Latenz der Blutentnahme zum Indexereignis, so dass ein möglicher akuter Effekt durch das PAI-1 nicht mehr nachweisbar ist. In der diabetischen Gruppe wurden die Proben durchschnittlich $3,4 \text{ Tage} \pm 2,94$ nach dem Indexereignis abgenommen. PAI-1 ist mit einer durchschnittlichen Halbwertszeit von 2 Stunden sehr kurzlebig, sodass nicht auszuschließen ist, dass die PAI-1-Spiegel im Akutereignis verändert sind. Gegen diese Annahme spricht allerdings, dass die Blutentnahmezeit keinen signifikanten Einfluss oder Trend auf die Fibringerinnsel-Zeit ausübt und in der Gruppe der metabolisch gesunden Patienten mit vergleichbarer Blutentnahmelatenz ein signifikanter PAI-1-Effekt dokumentiert werden kann. Ein weiterer Faktor ist die Gruppengröße. Die Gruppe der instabilen Patienten mit Diabetes besteht aus lediglich 20 Patienten, so dass durch die geringe Gruppengröße der prädiktive Wert des PAI-1 unterschätzt worden sein könnte. Patienten mit Diabetes sind ein extrem heterogenes Kollektiv, so dass die geringe Gruppengröße nicht ausgereicht haben

könnte um ein signifikantes Effekt zu demonstrieren. Hierfür spricht auch die Tatsache, dass das PAI-1 in der ANCOVA für das gesamte Kollektiv der Patienten mit Diabetes einen signifikanten, prädiktiven Wert aufweist.

Insgesamt zeigt sich in der ANCOVA für das diabetische Kollektiv, dass das für PAI-1, CRP und die Fibringerinnsel-Dichte korrigierte Infarktereignis die gefundene Varianz lediglich zu 0,1% erklärt. Es zeigt sich somit, dass der akute Myokardinfarkt im scharfen Kontrast zu den metabolisch gesunden Patienten keinen additiven Effekt auf die Fibrinolyse-Dauer der Patienten mit Diabetes hat. Ferner zeigt sich, dass es keinen signifikanten Unterschied zwischen der Dauer der Fibrinolyse von Patienten mit Diabetes und Kontrollen im akuten Infarkt gibt. Somit ist die Verlängerung der Fibrinolyse-Dauer von diabetischen Patienten vergleichbar mit der Fibrinolyse-Dauer von metabolisch gesunden Kontrollen in der instabilen Situation. Haffner et al. konnten bereits 1998 in einer prospektiven Kohortenstudie nachweisen, dass Patienten mit Diabetes ohne kardiovaskuläres Ereignis ein vergleichbares Risiko auf einen Myokardinfarkt haben wie metabolisch gesunde Patienten nach Myokardinfarkt (Haffner et al. 1998). Allerdings konnte die von Haffner et al. beschriebene Risikoäquivalenz in anderen Studien nicht zweifelsfrei reproduziert werden. In einer Metaanalyse aus 13 Kohortenstudien konkludierten Bulughapitiya et al., dass das Risiko eines Patienten mit Diabetes einen Myokardinfarkt zu erleiden tatsächlich 43% geringer ist als bei metabolisch gesunden Patienten mit Zustand nach Myokardinfarkt (Bulughapitiya et al. 2009). Dennoch illustriert das von Haffner beschriebene akzentuierte Risiko, dass Patienten mit Diabetes ein Hoch-Risiko Kollektiv im Hinblick auf eine koronare Herzerkrankung darstellen. Eine Einschätzung, die so auch Einzug in die ESC-Richtlinien als II a Empfehlung gefunden hat (European Society of Cardiology - Guidelines 2013). Im Hinblick auf das durch Siegerink et al. errechnete dreifach erhöhte Risiko der verlängerten Fibrinolyse auf einen Myokardinfarkt ist es denkbar, dass die Fibrinolyse-Dauer eine Komponente in der von Haffner et al. beschriebenen Risikoäquivalenz darstellt (Siegerink et al. 2012). Insbesondere unsere Daten, die zeigen, dass die Fibrinolyse bei Patienten mit Diabetes mellitus bereits in der stabilen Situation derjenigen von metabolisch gesunden Individuen im akuten Ereignis entspricht, untermauern diese Hypothese. Das Vorliegen eines Diabetes mellitus scheint daher in Bezug auf die Fibrinolyse-Dauer ein Risikoäquivalent zum Myokardinfarkt bei metabolisch gesunden Patienten darzustellen und erhöht das kardiovaskuläre Risiko. Interessanterweise kommt es

bei Diabetespatienten im akuten Infarkt zu keiner weiteren Verlängerung der Fibrinolyse. Es scheint ein Plateau hinsichtlich der Fibrinolyse-Dauer erreicht zu sein. Es ist bekannt, dass Diabetespatienten im akuten Myokardinfarkt eine extrem vulnerable Population bilden. Donahoe et al. untersuchten diabetische Kollektive aus elf unabhängigen klinischen Studien und fanden, dass die 30-Tage-Mortalität für Patienten mit Diabetes nach NSTEMI bei 2,1% vs. 1,1% bei metabolisch gesunden Patienten lag. Noch ausgeprägter war der Effekt bei STEMI Patienten. Hier lag der Unterschied in der 30-Tage-Mortalität bei 8,5% im Vergleich zu metabolisch gesunden Patienten mit 5,4% (Donahoe et al. 2007). Patienten mit Diabetes weisen bereits in der stabilen Situation eine erhöhte inflammatorische und oxidative Stressbelastung auf (Hess and Grant 2011). Ursächlich hierfür sind unter anderem eine erhöhte Proteinkinase C-Aktivität und eine erhöhte 8-iso-prostaglandin F_{2α}-Aktivität (Praticò et al. 1996, Ferretti et al. 2002). Es wird angenommen, dass Patienten mit einem Diabetes durch die erhöhte oxidative Belastung eine erhöhte Vulnerabilität in der Ischämie und Reperfusion aufweisen. Der oxidative Schaden in Ischämie- und Reperfusionsmodellen wird unter anderem durch eine erhöhte Produktion von Superoxid-Anion und OH• verursacht (Ansley and Wang 2013). Diese Sauerstoffradikale sind bereits im Rahmen des Diabetes in erhöhter Konzentration vorhanden, so dass angenommen werden kann, dass die antioxidative Kapazität der Patienten mit Diabetes bereits ausgereizt ist und somit keine Adaption in der Reperfusion möglich ist. In der Tat konnten Ceriello et al. in einem Kollektiv aus 47 Typ II-Patienten mit Diabetes zeigen, dass die antioxidative Kapazität der Diabetespatienten, ausgedrückt in Vitamin A -Spiegel, SH-Gruppen und Harnsäure, sowie in einem Assay zur Evaluation der gesamten antioxidativen Kapazität signifikant reduziert waren (Ceriello et al. 1997). Es wäre somit denkbar, dass die oxidative Belastung der Patienten mit Diabetes mellitus, die bereits in der stabilen Situation vorhanden ist, dazu beiträgt dass die erhöhte oxidative Belastung im akuten Infarkt keinen weiteren Einfluss auf die verlängerte Fibrinolyse hat. Die bereits ausgereizte oxidative Belastung würde auch erklären, dass die CRP-Spiegel in der Diabetesgruppe, im Gegensatz zu den metabolisch Gesunden Patienten, keinen prädiktiven Wert haben, da durch eine bereits in der stabilen Situation bestehende low-grade Inflammation kein zusätzlicher Einfluss im akuten Infarkt vorhanden ist. Im Hinblick auf die akute Hyperglykämie konnte in einer Clamp-Studie von Stegenga et al. demonstriert werden, dass eine akute Hyperglykämie in Kombination mit einer

induzierten Hyperinsulinämie bei gesunden Probanden zu einer erhöhten Gen-Expression pro-inflammatorischer Gene IL-1 α , IL-1 β und CCL3 führt, sodass die akute Hyperglykämie ein Substrat für den oxidativen Stress bei Patienten mit Diabetes darstellen könnte (Stegenga et al. 2008). Da der oxidative Stress in dieser Studie nicht direkt bestimmt wurde, ist diese Hypothese in der vorliegenden Arbeit allerdings nicht überprüfbar.

5.2 Der medikamentöse Einfluss auf die Fibrinolyse-Dauer

Im vorherigen Abschnitt konnte gezeigt werden, dass die Fibrinolyse-Dauer von Patienten mit Diabetes, der von metabolisch gesunden Kontrollen im akuten Myokardinfarkt entspricht. Dieser Effekt ist insbesondere bemerkenswert, da die Patienten mit Diabetes in der vorliegenden Studie vergleichsweise gut eingestellte Glukose-Langzeitwerte aufweisen. In der gesamten Diabetespopulation beträgt der Wert 6,8% $\pm$ 1,2%. Somit liegt der durchschnittliche Langzeitwert der Diabetespopulation dieser Studie sogar im unteren Bereich des Korridors der Empfehlungen der nationalen Diabetes-Versorgungsleitlinien von 6,5 – 7,5% (Bundesärztekammer (BÄK) 2013). Da 45,5 % der diabetischen Population mit koronarer Herzerkrankung diätetisch eingestellt sind, ist davon auszugehen, dass keine intensive Behandlung, sondern insgesamt die milde Form des Diabetes im vorliegenden Kollektiv ursächlich für diesen Effekt ist. Die verlängerte Fibrinolyse-Dauer trotz milder Form des Diabetes stützt daher die These des ‚Glykämischen Kontinuums‘, die davon ausgeht, dass bereits dezentale Veränderungen in der Glukosehomöostase mit einer Erhöhung des kardiovaskulären Risikos einhergehen (Coutinho et al. 1999). Im Hinblick auf das kardiovaskuläre Risiko dieser Patienten werden diese Daten durch die Framingham-Kohorte gestützt, in der Singer et al. demonstrieren konnten, dass bereits die Erhöhung des HbA_{1c} von 5% auf 6% mit einem 1,39 fach (95% KI 1,06 – 1,83) erhöhtem Risiko auf eine kardiovaskuläre Erkrankung assoziiert ist (Singer et al. 1992). Vor dem Hintergrund einer verlängerten Fibrinolyse ist daher eine Schlussfolgerung, dass Patienten mit einem Diabetes mellitus bereits bei einer vermeintlich guten Einstellung eine intensivere Behandlung zur Reduktion des kardiovaskulären Risikos verdienen. Die Effekte einer intensivierten antidiabetischen Therapie sind in der Literatur allerdings umstritten und konnten bisher nicht zweifelsfrei belegt werden. Die Fragestellung ob eine isolierte intensivere Diabetestherapie die Prognose verbessert, wurde 2012 in der ACCORD

Studie untersucht. Hier zeigte sich, dass eine intensivisierte, isolierte, antidiabetische Therapie mit einem Ziel HbA_{1c} -Wert von unter 6,0% zwar mit einer reduzierten Inzidenz nicht-fataler myokardialer Infarkte assoziiert war, allerdings auch das Mortalitätsrisiko deutlich erhöhte. Insbesondere das Risiko an kardiovaskulären Ursachen zu versterben war paradoxerweise in dieser Gruppe signifikant erhöht (Group et al. 2011). Im Gegensatz hierzu konnte die STENO-2 Studie zeigen, dass unter anderem eine intensivere Therapie der Patienten mit Diabetes mit einem HbA_{1c} -Zielwert unter 6,5% mit einer reduzierten Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse assoziiert war. Bemerkenswert ist hier, dass man in der STENO-2 Studie einen multimodalen Ansatz gewählt hatte und Patienten ebenfalls intensiver hinsichtlich anderer Risikofaktoren wie LDL-Cholesterin und arterieller Hypertonie behandelt hatte, sodass die positiven Effekte nicht isoliert auf die intensivisierte Diabetestherapie zurückzuführen sind (Gaede et al. 2008). Demnach scheint, auch im Kontext des metabolischen Syndroms, eine kombinierte Therapie, die auf alle Risikofaktoren abzielt, eine effektivere Therapiestrategie zu sein. Pieters et al. demonstrierten beispielsweise, dass eine intensivisierte diabetische Therapie in 20 Typ II Diabetes-Patienten zwar einen Effekt auf die Fibrinogen-Glykosylierung hatte. Dies hatte jedoch keinen Einfluss auf die Fibringerinnsel-Struktur (Pieters et al. 2006). In einem Model mit aufgereinigtem Fibrinogen der gleichen Probanden zeigte sich hingegen eine signifikant verbesserte Fibringerinnsel-Struktur und eine verkürzte Fibrinolyse-Dauer (Pieters et al. 2008). Diese Studie demonstriert, dass die Effekte der Fibrinolyse durch vielfältige Faktoren bestimmt werden und daher eine isolierte Diabetestherapie nicht zwangsläufig zu einer Verbesserung des kardiovaskulären Risikos beiträgt.

Interessanterweise zeigt sich in der vorliegenden Studie bei den stabilen Diabetespatienten und metabolisch gesunden Kontrollen kein signifikanter Einfluss der medikamentösen Therapie auf die Fibrinolyse. Lediglich im Trend zeigt sich in der linearen Regression die Thrombozytenaggregationshemmung in der Gruppe der Patienten mit Diabetes mit einer verlängerten Fibrinolyse assoziiert. Da die Thrombozytenaggregationshemmung keinen direkten Einfluss auf die Koagulation hat, ist dieser Trend auf den ersten Blick unerwartet. Neben der klassischen Inhibition der Cyclo-oxygenase-1-Aktivität mit konsekutiv verringerter Thromboxane A₂-Produktion und verminderter Plättchenaggregation konnte allerdings von Undas

et al. gezeigt werden, dass Aspirin auch einen Effekt auf die Thrombinproduktion und Faktor XIII-Aktivität hat (Undas et al. 2003). Darüber hinaus demonstrierten Ajjan et al., dass die Acetylierung durch Aspirin die Fibringerinnsel-Dichte verringert, so dass Fibringerinnsel schneller lysieren (Ajjan et al. 2009b). Zu beachten ist hier, dass dieser positive Effekt ausgerechnet bei Patienten mit Diabetes nicht vorhanden zu sein scheint. Der genaue Mechanismus ist nicht klar, aber es wird davon ausgegangen, dass ein kompetitiver Mechanismus zwischen Acetylierung und Glycosylierung des Fibrinogens im Rahmen des Diabetes besteht, der den Effekt Aspirins auf das Fibringerinnsel verringert (Ajjan et al. 2009a). Der Trend bezüglich der antithrombozytären Therapie ist in der vorliegenden Studie dennoch zurückhaltend zu interpretieren, da im gesamten Kollektiv der Patienten mit Diabetes mit einer koronaren Herzerkrankung 95,5% (vgl. Tabelle 10) mit einer TAH behandelt wurden. Somit stellen die Patienten ohne Thrombozytenaggregationshemmung lediglich 4,5% der Patienten mit Diabetes dar, und die kleine Zahl gestaltet die statistische Auswertung schwierig.

Im Kollektiv der instabilen Patienten zeigt sich in der Gruppe der metabolisch gesunden Patienten, dass die Einnahme eines Betablockers mit einer signifikanten Reduktion der Fibrinolyse assoziiert ist. In Studien konnte gezeigt werden, dass eine beta-adrenerge Blockade im Sepsismodell und in der koronaren Herzerkrankung tatsächlich mit einer reduzierten pro-inflammatorischen Antwort und verkürzter Fibrinolyse-Dauer assoziiert ist (Teger-Nilsson et al. 1991, Montmollin de et al. 2009), sodass ein direkter Effekt denkbar wäre. Allerdings fällt ebenfalls in dieser Gruppe auf, dass der Effekt in der Gruppe wahrscheinlich künstlich durch ein Ungleichgewicht in der Gruppenverteilung verursacht wurde. Die Betablocker-Therapie im ACS ist ein fester Bestandteil der internationalen Leitlinien und wird lediglich bei einer akuten Herzinsuffizienz im Stadium größerer Killip III oder klinisch relevanter Bradykardie nicht empfohlen (Hamm et al. 2011). Da 91,3% der Patienten mit einem Betablocker behandelt wurden, ist keine genaue Aussage über den Effekt der Therapie in der Gruppe der metabolisch Gesunden möglich. Interessant wäre daher die Untersuchung einer Dosis-Beziehung der Beta-Blocker Therapie. Da die Medikation der Patienten allerdings binär dokumentiert wurde ist diese Analyse nicht möglich. Somit muss der Effekt der beta-adrenergen Blockade in diesem Kollektiv, aufgrund der Gruppengröße, zurückhaltend beurteilt werden. Diese Annahme

stützend zeigt sich in der Gruppe der instabilen Patienten mit Diabetes kein Effekt der Beta-Blockade. Im Gegensatz zeigt sich bei den Patienten mit Diabetes die Statintherapie im akuten Infarkt mit einer verkürzten Fibrinolyse-Dauer assoziiert. Bereits die Scandinavian Simvastatin Survival Study hat gezeigt, dass die Statintherapie bei Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung mit einer signifikant reduzierten Rate an kardiovaskulären Ereignissen assoziiert ist, mit einem relativen Risiko von 0,45 (95% CI 0,27 – 0,74). (Pyörälä et al. 1997). Es ist bekannt, dass Statine pleiotrope Effekte auf die Koagulation haben, die zu einer verringerten Tissue Faktor-Expression sowie Thrombinsynthese führen (Undas et al. 2005). Da es im Rahmen der Plaqueruptur im akuten Infarkt zu einer Freisetzung von Tissue Faktor kommt, wäre dieser Effekt insbesondere günstig, um eine vermehrte Aktivierung der Koagulationskaskade zu dämpfen (Moons et al. 2002). Gegen diese Annahme spricht, dass in der Gruppe der instabilen Kontrollen kein signifikanter Effekt der Statintherapie festgestellt wird. Darüber hinaus sind die Blutentnahmen nicht unmittelbar im Rahmen des akuten Geschehens entnommen wurden sondern mit einer Latenz von durchschnittlich 2,89 Tagen, sodass hier keine Aussage über den akuten Effekt möglich sind. Erneut fällt auf, dass in der Gruppenverteilung 91,3% der Kontrollen und 80% der Diabetespatienten mit einer Statintherapie behandelt wurden (vgl. Tabelle 10), so dass eine statistische Analyse bei einem Ungleichgewicht der Gruppenverteilung schwierig ist und daher in dieser Studie nicht zweifelsfrei geklärt werden kann.

Interessanterweise zeigt sich weiterhin, dass insbesondere die medikamentöse antidiabetische Therapie mit einer verlängerten Fibrinolyse assoziiert ist. Darüber hinaus ist die diätetische Therapie signifikant mit einer verkürzten Fibrinolyse-Dauer assoziiert. Es ist wahrscheinlich, dass hier die medikamentöse antidiabetische Therapie mit einer längeren Diabetes Dauer bzw. mit einem schlechter eingestellten Diabetes assoziiert ist und somit die im Trend verlängerte Fibrinolyse unter Therapie zu erklären ist. Somit wäre die diätetische Therapie ein Confounder für eine mildere Form des Diabetes und daher mit einer verringerten Fibrinolyse-Dauer assoziiert. Hierfür spricht auch die Tatsache, dass die Patienten mit einer diätetischen Einstellung einen durchschnittlichen HbA_{1c} von 6,2 % aufweisen, während die Patienten mit einer oralen Therapie einen durchschnittlichen HbA_{1c} von 7,2% und die mit einer oralen und Insulin Therapie sogar einen HbA_{1c} Wert von 8,2% aufweisen.

5.3 Limitationen:

Die wichtigste Einschränkung in der vorliegenden Studie ist das Studiendesign. Es handelt sich um eine Kohortenstudie, die durch den retrospektiven Charakter als sehr sensibel für eine mögliche Beeinflussung durch Confounder gilt. Daher sollten die Daten zurückhaltend interpretiert werden. Um den Einfluss eines Confoundings zu verringern wurde versucht, mittels Kovarianzanalyse für Störfaktoren zu korrigieren. Da allerdings nur für dokumentierte Störfaktoren korrigiert werden kann, lässt sich ein Confounder-Effekt nicht vollständig ausschließen. Insbesondere die Analyse der medikamentösen Therapie ist daher zurückhaltend zu interpretieren. Darüber hinaus gestaltet die geringe Gruppengröße eine statistische Auswertung schwierig. Somit ist es möglich, dass externe Faktoren den eigentlichen Effekt der Fibrinolyse-Dauer erklären. Es wurde daher versucht diese Faktoren in der Diskussion zu benennen (Vgl. 5.4 Der medikamentöse Einfluss auf die Fibrinolyse).

Die Blutentnahmen der Patienten in der instabilen Situation wurden nicht auf der Intensivstation oder Zwischenintensivstation durchgeführt, sondern erst nach der Verlegung der Patienten auf die Normalstation. Daher ist es möglich, dass die akuten laborchemischen Veränderungen des Myokardinfarkts nicht mehr adäquat erfasst werden konnten. Es zeigt sich allerdings, dass die Zeit zwischen Indexereignis und Blutentnahme in der Gruppe der metabolischen Kontrollen und der Patienten mit Diabetes keinen signifikanten Unterschied aufweist, so dass ein möglicher Effekt der Latenz in beiden Gruppen ausgeglichen vertreten sein sollte.

Es mussten Patienten ausgeschlossen werden, da die ELISA Assays oder die Turbidimetrie keine plausiblen Daten geliefert haben (ELISA N = 7 u. Turbidimetrie N = 14). Ursächlich hierfür wurde angenommen, dass die Blutproben bereits in den Monovetten geronnen waren und somit die Assays nicht mehr auswertbar waren. Weiterhin wurden Patienten ausgeschlossen, wenn die Dokumentation der Medikation nicht im Archiv vorhanden war oder die Plasmaproben nicht verfügbar waren (N = 70). Ein möglicher Bias-Effekt kann daher nicht ausgeschlossen werden. (vgl. 3.8 Patientenselektion und Exklusion)

Insgesamt ist die Zahl der eingeschlossenen Patienten in dieser Studie gering. Insbesondere in den Gruppen der instabilen Patienten befanden sich lediglich 23

instabile Kontrollen und 20 instabile Patienten mit Diabetes. Daher ist es möglich, dass relevante Faktoren nicht als signifikant detektiert worden sind, da bei entsprechender Gruppengröße keine ausreichende Analyse möglich war. Daher wurden in der Diskussion auch nicht-signifikante Unterschiede benannt.

Die multiplen Testungen in dieser Studie, sowie die Vielzahl an verwendeten Parametern wurde nicht Bonferroni-korrigiert, so dass nicht auszuschließen ist, dass die gefundenen Effekte nicht valide sind und auf Zufall beruhen.

5.4 Fazit

Die Fibrinolyse-Dauer von Patienten mit Diabetes mit stabiler KHK entspricht der von Patienten ohne Diabetes im akuten Infarkt. Somit ist der Diabetes hinsichtlich der Fibrinolyse-Dauer ein Risikoäquivalent zum Myokardinfarkt bei Patienten ohne Diabetes. Des Weiteren ist die verlängerte Fibrinolyse-Dauer eine Komponente, die zum erhöhten kardiovaskulären Risiko von Patienten mit Diabetes beitragen könnte. Der Effekt erklärt sich durch erhöhte PAI-1 und Fibrinogen-Spiegel sowie die Fibringerinnsel-Dichte. Im akuten Infarkt zeigen metabolisch gesunde Patienten eine Verlängerung der Fibrinolyse. Im Kontext der Literatur sind Effekte des ‚oxidativen Stress‘ und der Inflammation wahrscheinlich, können in dieser Studie jedoch nicht belegt werden. Im Gegensatz zu metabolisch gesunden Individuen kommt es bei Patienten mit Diabetes mellitus im akuten Infarkt zu keiner weiteren Verlängerung der Fibrinolyse. Diese Daten legen nahe, dass im Rahmen des Diabetes mellitus bereits in der stabilen Situation eine ausgereizte inflammatorische und antifibrinolytische Situation vorliegt. Insgesamt ist durch die retrospektive Analyse das Risiko für ein Confounding jedoch hoch, so dass eine Bestätigung durch eine prospektive Studie wünschenswert ist.

5.5 Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie kann in einem Kollektiv aus Patienten mit Diabetes und Patienten ohne Diabetes folgendes gezeigt werden:

- Die Fibrinolyse-Dauer ist bei Patienten ohne Diabetes nach einem Myokardinfarkt signifikant verlängert.

- Die Fibrinolyse-Dauer von Patienten mit Diabetes entspricht bereits in der stabilen koronaren Herzerkrankung der von Patienten ohne Diabetes und instabilere koronarer Herzerkrankung .
- Die Fibrinolyse-Dauer von Diabetes Patienten wird nicht durch den akuten Myokardinfarkt beeinflusst.
- Die verlängerte Fibrinolyse-Dauer ist bei Patienten mit Diabetes mit erhöhten PAI-1 Plasmaspiegeln und einer erhöhten Fibringerinnsel Dichte assoziiert.
- Eine Statintherapie und diätetische Einstellung scheint die Fibrinolyse-Dauer günstig zu beeinflussen. Die Antikoagulation und Thrombozytenaggreagationshemmung haben keinen Einfluss.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie beleuchten somit einen neuen Aspekt hinsichtlich des kardiovaskulären Risikos von Patienten mit Diabetes, der bei der Entwicklung zukünftiger Therapiestrategien zur Reduktion des kardiovaskulären Risikos berücksichtigt werden sollte.

Literaturverzeichnis:

Ajjan, R A. , F, Standeven K, S, Mughal, F, Phoenix, S, Ariens R A and J, Grant P (2009a). "An interaction between glycation and acetylation may be one mechanism for the reduced clinical efficacy of aspirin in individuals with diabetes." Eur J Cardiol(30: 885).

Ajjan, R. A., Standeven, K. F., Khanbhai, M., Phoenix, F., Gersh, K. C., Weisel, J. W., Kearney, M. T., Ariëns, R. A. and Grant, P. J. (2009b). "Effects of aspirin on clot structure and fibrinolysis using a novel in vitro cellular system." Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology **29**(5): 712-717.

Alberti, K. G., Eckel, Robert H., Grundy, Scott M., Zimmet, Paul Z., Cleeman, James I., Donato, Karen A., Fruchart, Jean-Charles C., James, W. P., Loria, Catherine M., Smith, Sidney C., International Diabetes Federation Task Force on, Epidemiology, Prevention, National Heart, Lung, Blood, Institute, American Heart, Association, World Heart, Federation, International Atherosclerosis, Society and International Association for the Study of, Obesity (2009). "Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity." Circulation **120**(16): 1640-1645.

Alzahrani, S H. and Ajjan, R A. (2010). "Coagulation and fibrinolysis in diabetes." Diabetes & vascular disease research : official journal of the International Society of Diabetes and Vascular Disease **7**(4): 260-273.

Ansley, D M. and Wang, B. (2013). "Oxidative stress and myocardial injury in the diabetic heart." The Journal of pathology **229**(2): 232-241.

Aronson, D. and Edelman, E. R. (2010). "Revascularization for coronary artery disease in diabetes mellitus: angioplasty, stents and coronary artery bypass grafting." Rev Endocr Metab Disord **11**(1): 75-86.

Association, American Diabetes (2009). "Diagnosis and classification of diabetes mellitus." Diabetes Care **32 Suppl 1**: S62-67.

Atkinson, M. and Maclaren, N. (1994). "The pathogenesis of insulin-dependent diabetes mellitus." The New England journal of medicine **331**(21): 1428-1436.

Auwerx, J., Bouillon, R., Collen, D. and Geboers, J. (1988). "Tissue-type plasminogen activator antigen and plasminogen activator inhibitor in diabetes mellitus." Arteriosclerosis (Dallas, Tex.) **8**(1): 68-72.

Becatti, M., Marcucci, R., Bruschi, G., Taddei, N., Bani, D., Gori, A M., Giusti, B., Gensini, G F., Abbate, R. and Fiorillo, C. (2014). "Oxidative Modification of Fibrinogen Is Associated With Altered Function and Structure in the Subacute Phase of Myocardial Infarction." Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology.

Bochenek, M, Zalewski, J., Sadowski, M. and Undas, A. (2013). "Type 2 diabetes as a modifier of fibrin clot properties in patients with coronary artery disease." Journal of thrombosis and thrombolysis **35**(2): 264-270.

Boden, G and Rao, A. K. (2007). "Effects of hyperglycemia and hyperinsulinemia on the tissue factor pathway of blood coagulation." Current diabetes reports **7**(3): 223-227.

Boden, G, Vaidyula, V R., Homko, C, Cheung, P and Rao, A. K. (2007). "Circulating tissue factor procoagulant activity and thrombin generation in patients with type 2 diabetes: effects of insulin and glucose." The Journal of clinical endocrinology and metabolism **92**(11): 4352-4358.

Boyko, E J. and Meigs, J B. (2011). "Does diabetes always confer coronary heart disease risk equivalent to a prior myocardial infarction?: implications for prevention." Diabetes care **34**(3): 782-784.

Brazionis, L, Rowley, K, Jenkins, A, Itsiopoulos, C and O'Dea, K (2008). "Plasminogen activator inhibitor-1 activity in type 2 diabetes: a different relationship with coronary heart disease and diabetic retinopathy." Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology **28**(4): 786-791.

Bulugahapitiya, U., Siyambalapitiya, S., Sithole, J. and Idris, I. (2009). "Is diabetes a coronary risk equivalent? Systematic review and meta-analysis." Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association **26**(2): 142-148.

Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften (AWMF). (2013). Nationale VersorgungsLeitlinie Therapie des Typ-2-Diabetes – Langfassung.

Cardiology, European Society of (2013). "ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD)." European heart journal **34**(39): 3035-3087.

Carr, M E. (2001). "Diabetes mellitus: a hypercoagulable state." Journal of diabetes and its complications **15**(1): 44-54.

Ceriello, A. (2005). "Acute hyperglycaemia: a 'new' risk factor during myocardial infarction." European Heart Journal **26**(4): 328-331.

Ceriello, A., Bortolotti, N., Pirisi, M., Crescentini, A., Tonutti, L., Motz, E., Russo, A., Giacomello, R., Stel, G. and Taboga, C. (1997). "Total plasma antioxidant capacity predicts thrombosis-prone status in NIDDM patients." Diabetes care **20**(10): 1589-1593.

Ceriello, A., Esposito, K., Ihnat, M., Zhang, J. and Giugliano, D. (2009). "Simultaneous control of hyperglycemia and oxidative stress normalizes enhanced thrombin generation in type 1 diabetes." Journal of thrombosis and haemostasis : JTH **7**(7): 1228-1230.

Collet, J P., Allali, Y., Lesty, C., Tanguy, M L., Ankri, A., Blanchet, B., Dumaine, R., Gianetti, J., Payot, L., Weisel, J W. and Montalescot, G. (2006). "Altered Fibrin Architecture Is Associated With Hypofibrinolysis and Premature Coronary Atherothrombosis." Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology **26**(11): 2567-2573.

Corrado, E, Rizzo, M, Coppola, G, Fattouch, K, Novo, G, Marturana, I, Ferrara, F and Novo, S (2010). "An update on the role of markers of inflammation in atherosclerosis." Journal of atherosclerosis and thrombosis **17**(1): 1-11.

Coutinho, M., Gerstein, H. C., Wang, Y. and Yusuf, S. (1999). "The relationship between glucose and incident cardiovascular events. A metaregression analysis of published data from 20 studies of 95,783 individuals followed for 12.4 years." Diabetes Care.

Creager, M. A. (2003). "Diabetes and Vascular Disease: Pathophysiology, Clinical Consequences, and Medical Therapy: Part I." Circulation.

Danaei, G, Finucane, M, Lu, Y, Singh, G, Cowan, M, Paciorek, C, Lin, J, Farzadfar, F, Khang, Y, Stevens, G, Rao, M, Ali, M, Riley, L, Robinson, C, Ezzati, M and Global Burden of Metabolic Risk Factors of Chronic Diseases Collaborating, Group (2011). "National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2.7 million participants." Lancet **378**(9785): 31-40.

Devereux, R. B., Roman, M. J., Paranicas, M., O'Grady, M. J., Lee, E. T., Welty, T. K., Fabsitz, R. R., Robbins, D., Rhoades, E. R. and Howard, B. V. (2000). "Impact of diabetes on cardiac structure and function: the strong heart study." Circulation **101**(19): 2271-2276.

Donahoe, S M., Stewart, G C., McCabe, C H., Mohanavelu, S., Murphy, S. A., Cannon, C. P. and Antman, E. M. (2007). "Diabetes and mortality following acute coronary syndromes." JAMA : the journal of the American Medical Association **298**(7): 765-775.

Donaldson, C., Taatjes, D. J., Zile, M., Palmer, B., VanBuren, P., Spinale, F., Maughan, D., Von Turkovich, M., Bishop, N. and LeWinter, M M. (2010). "Combined immunoelectron microscopic and computer-assisted image analyses to detect advanced glycation end-products in human myocardium." Histochemistry and cell biology **134**(1): 23-30.

Dunn, E. J., Ariëns, R. A. and Grant, P. J. (2005). "The influence of type 2 diabetes on fibrin structure and function." Diabetologia **48**(6): 1198-1206.

Fain, J N. and Madan, A K. (2005). "Insulin enhances vascular endothelial growth factor, interleukin-8, and plasminogen activator inhibitor 1 but not interleukin-6 release by human adipocytes." Metabolism: clinical and experimental **54**(2): 220-226.

Federation, International Diabetes. (2011). "Global Burden: Prevalence and Projections, 2011 and 2030." Retrieved 4.3.2014.

Ferretti, G., Rabini, R. A., Bacchetti, T., Vignini, A., Salvolini, E., Ravaglia, F., Curatola, G. and Mazzanti, L. (2002). "Glycated low density lipoproteins modify platelet properties: a compositional and functional study." The Journal of clinical endocrinology and metabolism **87**(5): 2180-2184.

Fox, C. S., Coady, S., Sorlie, P. D., Levy, D., Meigs, J. B., D'Agostino, R. B., Wilson, P. W. and Savage, P. J. (2004). "Trends in cardiovascular complications of diabetes." JAMA : the journal of the American Medical Association **292**(20): 2495-2499.

Frangogiannis, N G., C., Smith W and Entman, M L. (2002). "The inflammatory response in myocardial infarction." Cardiovascular research **53**(1): 31-47.

Gaede, P, Lund-Andersen, H, Parving, H. H. and Pedersen, O (2008). "Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes." The New England journal of medicine **358**(6): 580-591.

Gawaz, M., Ott, I., Reininger, A. J. and Neumann, F. J. (1994). "Effects of magnesium on platelet aggregation and adhesion. Magnesium modulates surface expression of glycoproteins on platelets in vitro and ex vivo." Thrombosis and haemostasis **72**(6): 912-918.

Gokhroo, R. and Mittal, S. R. (1989). "Electrocardiographic correlates of hyperglycemia in acute myocardial infarction." International journal of cardiology **22**(2): 267-269.

Group, Accord Study, Gerstein, H C., Miller, M E., Genuth, S, Ismail-Beigi, F, Buse, J B., Goff, D C., Probstfield, J L., Cushman, W C., Ginsberg, H N., Bigger, J. T., Grimm, R H., Byington, R P., Rosenberg, Y D. and Friedewald, W T. (2011). "Long-term effects of intensive glucose lowering on cardiovascular outcomes." The New England journal of medicine **364**(9): 818-828.

Gugliucci, A. , Meinini, T. and Stahl, A. J. C. (1994). "Glycation of fibrinogen in diabetic patients: a practical colorimetric assay." Glycosylation & Disease **1**(3): 177-183.

Guidelines, ESC (2013). "ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases developed in collaboration with the EASD: the Task Force on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases of the European Society of Cardiology (ESC) and developed in collaboration with the European Association for the Study of Diabetes (EASD)." European heart journal **34**(39): 3035-3087.

Guimarães, J A., de Bruijn, M F., Lisman, T., Dippel, D.W.J., Deckers, J W., D., Poldermans, Rijken, D C. and Leebeek, F W G. (2009). "Hypofibrinolysis is a risk factor for arterial thrombosis at young age." British journal of haematology **145**(1): 115-120.

Habib, S S., Abdel Gader, A G., Kurdi, M I., Suriya, M O. and Al Aseri, Z (2012). "Tissue plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 levels in patients with acute myocardial infarction and unstable angina." JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association **62**(7): 681-685.

Haffner, S. M., Lehto, S., Rönnekaa, T., Pyörälä, K. and Laakso, M. (1998). "Mortality from coronary heart disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction." The New England journal of medicine **339**(4): 229-234.

Halushka, P. V., Rogers, R. C., Loadholt, C. B. and Colwell, J. A. (1981). "Increased platelet thromboxane synthesis in diabetes mellitus." The Journal of laboratory and clinical medicine **97**(1): 87-96.

Hamm, C. W., Bassand, J P., Agewall, S, Bax, J, Boersma, E, Bueno, H, Caso, P, Dudek, D, Gielen, S, Huber, K, Ohman, M, Petrie, M C., Sonntag, F, Uva, M S., Storey, R F., Wijns, W, Zahger, D and Guidelines, E. S. C. Committee for Practice (2011). "ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)." European heart journal **32**(23): 2999-3054.

Hess, K. and Grant, P.J. (2011). "Inflammation and thrombosis in diabetes." Thrombosis and haemostasis.

Hess, K., Lehrke, M. and Marx, N. (2012). "Cardiovascular disease and diabetes: the vulnerable patient." European Heart Journal Supplements **14**(suppl B).

Hink, U., Li, H., Mollnau, H., Oelze, M., Matheis, E., Hartmann, M., Skatchkov, M., Thaiss, F., Stahl, R. A., Warnholtz, A., Meinertz, T., Griendling, K., Harrison, D. G., Forstermann, U. and Munzel, T. (2001). "Mechanisms underlying endothelial dysfunction in diabetes mellitus." Circ Res **88**(2): E14-22.

Hong, Y J., Jeong, M H., Choi, Y H., Ko, J S., Lee, M G., Kang, W Y., Lee, S E., Kim, S H., Park, K H., Sim, D S., Yoon, N S., Yoon, H J., Kim, K H., Park, H W., Kim, J H., Ahn, Y, Cho, J G., Park, J C. and Kang, J C. (2009). "Plaque characteristics in culprit lesions and inflammatory status in diabetic acute coronary syndrome patients." JACC. Cardiovascular imaging **2**(3): 339-349.

Hu, F. B., Manson, J. E., Stampfer, M. J., Colditz, G., Liu, S., Solomon, C. G. and Willett, W. C. (2001). "Diet, lifestyle, and the risk of type 2 diabetes mellitus in women." The New England journal of medicine **345**(11): 790-797.

Hu, F. B., Stampfer, M. J., Manson, J. E., Grodstein, F., Colditz, G. A., Speizer, F. E. and Willett, W. C. (2000). "Trends in the incidence of coronary heart disease and changes in diet and lifestyle in women." The New England journal of medicine **343**(8): 530-537.

Jason, B. L, John, A. H, Kevin, F. K and Steven, P. M (2009). "Diabetes duration is associated with increased thin-cap fibroatheroma detected by intravascular ultrasound with virtual histology." Circulation. Cardiovascular interventions.

Jian, X and Ming H, Z (2009). "Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction." Circulation.

Jian, X and Ming-H, Z (2009). "Molecular insights and therapeutic targets for diabetic endothelial dysfunction." Circulation.

Jörneskog, G., Egberg, N., Fagrell, B., Fatah, K., Hessel, B., Johnsson, H., Brismar, K. and Blombäck, M. (1996). "Altered properties of the fibrin gel structure in patients with IDDM." Diabetologia **39**(12): 1519-1523.

Juhan-Vague, I., Roul, C., Alessi, M. C., Ardisson, J. P., Heim, M. and Vague, P. (1989). "Increased plasminogen activator inhibitor activity in non insulin dependent diabetic patients--relationship with plasma insulin." Thrombosis and haemostasis **61**(3): 370-373.

Kannel, W. B., Hjortland, M. and Castelli, W. P. (1974). "Role of diabetes in congestive heart failure: the Framingham study." The American journal of cardiology **34**(1): 29-34.

Kannel, W. and McGee, D. (1979). "Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study." JAMA : the journal of the American Medical Association **241**(19): 2035-2038.

Karin, L, Margareta, B, Håkan, W and Shu, H (2012). "Impaired fibrinolytic capacity and increased fibrin formation associate with myocardial infarction." Thrombosis and haemostasis.

Kersten, J. R., Schmeling, T. J., Orth, K. G., Pagel, P. S. and Warltier, D. C. (1998). "Acute hyperglycemia abolishes ischemic preconditioning in vivo." The American journal of physiology **275**(2 Pt 2): 5.

Klein, R L., Hunter, S J., Jenkins, A J., Zheng, D, Semler, A J., Clore, J, Garvey, W. T. and Dcct/Ecic Study, Group (2003). "Fibrinogen is a marker for nephropathy and peripheral vascular disease in type 1 diabetes: studies of plasma fibrinogen and fibrinogen gene polymorphism in the DCCT/EDIC cohort." Diabetes care **26**(5): 1439-1448.

Loskutoff, D. J. and Samad, F. (1998). "The adipocyte and hemostatic balance in obesity: studies of PAI-1." Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology **18**(1): 1-6.

Maile, L A., Capps, B E., Ling, Y, Xi, G and Clemmons, D R. (2007). "Hyperglycemia alters the responsiveness of smooth muscle cells to insulin-like growth factor-I." Endocrinology **148**(5): 2435-2443.

Malmberg, K., Rydén, L., Wedel, H., Birkeland, K., Bootsma, A., Dickstein, K., Efendic, S., Fisher, M., Hamsten, A., Herlitz, J., Hildebrandt, P., MacLeod, K., Laakso, M., Torp-Pedersen, C., Waldenström, A. and Investigators, Digami (2005). "Intense metabolic control by means of insulin in patients with diabetes mellitus and acute myocardial infarction (DIGAMI 2): effects on mortality and morbidity." European heart journal **26**(7): 650-661.

Martina, V., Bruno, G. A., Trucco, F., Zumpano, E., Tagliabue, M., Di Bisceglie, C. and Pescarmona, G. (1998). "Platelet cNOS activity is reduced in patients with IDDM and NIDDM." Thrombosis and haemostasis **79**(3): 520-522.

Meade, T. W., Mellows, S., Brozovic, M., Miller, G. J., Chakrabarti, R. R., North, W. R., Haines, A. P., Stirling, Y., Imeson, J. D. and Thompson, S. G. (1986). "Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study." Lancet **2**(8506): 533-537.

Meigs, J B. (2010). "Epidemiology of type 2 diabetes and cardiovascular disease: translation from population to prevention: the Kelly West award lecture 2009." Diabetes care **33**(8): 1865-1871.

Meltzer, M E., Doggen, C J., de Groot, P G., Rosendaal, F R. and Lisman, T. (2009). "Reduced plasma fibrinolytic capacity as a potential risk factor for a first myocardial infarction in young men." British journal of haematology **145**(1): 121-127.

Min, C., Kang, E., Yu, S. H., Shinn, S. H. and Kim, Y. S. (1999). "Advanced glycation end products induce apoptosis and procoagulant activity in cultured human umbilical vein endothelial cells." Diabetes research and clinical practice **46**(3): 197-202.

Montmollin de, E., Aboab, J., Mansart, A. and Annane, D. (2009). "Bench-to-bedside review: Beta-adrenergic modulation in sepsis." Crit Care **13**(5): 230.

Moons, A. H., Levi, M. and Peters, R. J. (2002). "Tissue factor and coronary artery disease." Cardiovasc Res **53**(2): 313-325.

Moreno, P. R., Murcia, A. M., Palacios, I. F., Leon, M. N., Bernardi, V. H., Fuster, V. and Fallon, J. T. (2000). "Coronary composition and macrophage infiltration in atherectomy specimens from patients with diabetes mellitus." Circulation **102**(18): 2180-2184.

Morigi, M., Angioletti, S., Imberti, B., Donadelli, R., Micheletti, G., Figliuzzi, M., Remuzzi, A., Zoja, C. and Remuzzi, G. (1998). "Leukocyte-endothelial interaction is augmented by high glucose concentrations and hyperglycemia in a NF- κ B-dependent fashion." The Journal of clinical investigation **101**(9): 1905-1915.

Moyssakis, I., Vlahodimitris, I. E., Kanakis, M. A., Kapsimali, V., Tsoucala, C. and Vaiopoulos, G. A. (2010). "Behavior of coagulation factors and normal inhibitors of coagulation during the acute phase of myocardial infarction." Blood Coagul Fibrinolysis **21**(7): 670-673.

Naghavi, M., Libby, P., Falk, E., Casscells, S. W., Litovsky, S., Rumberger, J., Badimon, J. J., Stefanadis, C., Moreno, P., Pasterkamp, G., Fayad, Z., Stone, P. H., Waxman, S., Raggi, P., Madjid, M., Zarrabi, A., Burke, A., Yuan, C., Fitzgerald, P. J., Siscovick, D. S., de Korte, C. L., Aikawa, M., Juhani Airaksinen, K. E., Assmann, G., Becker, C. R., Chesebro, J. H., Farb, A., Galis, Z. S., Jackson, C., Jang, I. K., Koenig, W., Lodder, R. A., March, K., Demirovic, J., Navab, M., Priori, S. G., Reikhter, M. D., Bahr, R., Grundy, S. M., Mehran, R., Colombo, A., Boerwinkle, E., Ballantyne, C., Insull, W., Jr., Schwartz, R. S., Vogel, R., Serruys, P. W., Hansson, G. K., Faxon, D. P., Kaul, S., Drexler, H., Greenland, P., Muller, J. E., Virmani, R., Ridker, P. M., Zipes, D. P., Shah, P. K. and Willerson, J. T. (2003). "From vulnerable plaque to vulnerable patient: a call for new definitions and risk assessment strategies: Part I." Circulation **108**(14): 1664-1672.

Ni, Heyu (2012). "The platelet "sugar high" in diabetes." Blood **119**(25): 5949-5951.

Owens, A. P. and Mackman, N (2010). "Tissue factor and thrombosis: The clot starts here." Thrombosis and haemostasis **104**(3): 432-439.

Palmerini, T., Tomasi, L., Barozzi, C., Della Riva, D., Mariani, A., Taglieri, N., Leone, O., Ceccarelli, C., De Servi, S., Branzi, A., Genereux, P., Stone, G. W. and Ahamed, J. (2013). "Detection of tissue factor antigen and coagulation activity in coronary artery thrombi isolated from patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction." PLoS One **8**(12): e81501.

Paulson, D. J. (1997). "The diabetic heart is more sensitive to ischemic injury." Cardiovascular research **34**(1): 104-112.

Pieters, M, Covic, N, Loots, Du Toit u T., van der Westhuizen, F H., van Zyl, D G., Rheeder, P, Jerling, J C. and Weisel, J W. (2006). "The effect of glycaemic control on fibrin network structure of type 2 diabetic subjects." Thrombosis and haemostasis **96**(5): 623-629.

Pieters, M, Covic, N, van der Westhuizen, F H., Nagaswami, C, Baras, Y, Toit Loots, D, Jerling, J C., Elgar, D, Edmondson, K S., van Zyl, D G., Rheeder, P and Weisel, J W. (2008). "Glycaemic control improves fibrin network characteristics in type 2 diabetes - a purified fibrinogen model." Thrombosis and haemostasis **99**(4): 691-700.

Pieters, Marlien, van Zyl, Danie G., Rheeder, Paul, Jerling, Johann C., Loots, Du Toit u T., van der Westhuizen, Francois H., Gottsche, Louise T. and Weisel, John W. (2007). "Glycation of fibrinogen in uncontrolled diabetic patients and the effects of glycaemic control on fibrinogen glycation." Thrombosis research **120**(3): 439-446.

Praticò, D., Smyth, E. M., Violi, F. and FitzGerald, G. A. (1996). "Local amplification of platelet function by 8-Epi prostaglandin F2alpha is not mediated by thromboxane receptor isoforms." The Journal of biological chemistry **271**(25): 14916-14924.

Pyörälä, K., Pedersen, T. R., Kjekshus, J., Faergeman, O., Olsson, A. G. and Thorgeirsson, G. (1997). "Cholesterol lowering with simvastatin improves prognosis of diabetic patients with coronary heart disease. A subgroup analysis of the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S)." Diabetes care **20**(4): 614-620.

Rijzewijk, L J., van der Meer, R W., Lamb, H J., de Jong, H W., Lubberink, M, Romijn, J A., Bax, J J., de Roos, A, Twisk, J W., Heine, R J., Lammertsma, A A., Smit, J W. and Diamant, M (2009). "Altered myocardial substrate metabolism and decreased diastolic function in nonischemic human diabetic cardiomyopathy: studies with cardiac positron emission tomography and magnetic resonance imaging." Journal of the American College of Cardiology **54**(16): 1524-1532.

Ross, R. (1999). "Atherosclerosis--an inflammatory disease." The New England journal of medicine **340**(2): 115-126.

Rott, D., Leibowitz, D., Finci-Yeheskel, Z., Barak, V., Chajek-Shaul, T., Weiss, T., Levin, M. and Urieli-Shoval, S. (2009). "The relationship of plasminogen activator inhibitor-1 levels to the ST deviation pattern of acute myocardial infarction." Cardiology **112**(1): 56-59.

Samad, F., Pandey, M. and Loskutoff, D. J. (1998). "Tissue factor gene expression in the adipose tissues of obese mice." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America **95**(13): 7591-7596.

Sawdey, M. S. and Loskutoff, D. J. (1991). "Regulation of murine type 1 plasminogen activator inhibitor gene expression in vivo. Tissue specificity and induction by lipopolysaccharide, tumor necrosis factor-alpha, and transforming growth factor-beta." The Journal of clinical investigation **88**(4): 1346-1353.

Schneider, D J. and Burton, E S (2012). "PAI-1 and Diabetes: A Journey From the Bench to the Bedside." Diabetes Care **35**(10): 1961-1967.

Siegerink, B, Meltzer, M E., de Groot, P G., Algra, A, Lisman, T and Rosendaal, F R. (2012). "Clot lysis time and the risk of myocardial infarction and ischaemic stroke in young women; results from the RATIO case-control study." British journal of haematology **156**(2): 252-258.

Singer, D. E., Nathan, D. M., Anderson, K. M., Wilson, P. W. and Evans, J. C. (1992). "Association of HbA1c with prevalent cardiovascular disease in the original cohort of the Framingham Heart Study." Diabetes **41**(2): 202-208.

Stanley, W. C., Lopaschuk, G. D. and McCormack, J. G. (1997). "Regulation of energy substrate metabolism in the diabetic heart." Cardiovascular research **34**(1): 25-33.

Stegenga, M E., van der Crabben, S N., Levi, M, de Vos, A F., Tanck, M W., Sauerwein, H P. and van der Poll, T (2006). "Hyperglycemia stimulates coagulation, whereas hyperinsulinemia impairs fibrinolysis in healthy humans." Diabetes **55**(6): 1807-1812.

Stegenga, M. E., van der Crabben, S. N., Dessing, M. C., Pater, J. M., van den Pangaart, P. S., de Vos, A. F., Tanck, M. W., Roos, D., Sauerwein, H. P. and van der Poll, T. (2008). "Effect of acute hyperglycaemia and/or hyperinsulinaemia on proinflammatory gene expression, cytokine production and neutrophil function in humans." Diabetic medicine : a journal of the British Diabetic Association **25**(2): 157-164.

Stern, M. P. (1995). "Diabetes and cardiovascular disease. The "common soil" hypothesis." Diabetes **44**(4): 369-374.

Stratmann, B and Tschoepe, D (2009). "Atherogenesis and atherothrombosis--focus on diabetes mellitus." Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism **23**(3): 291-303.

T., Zhou Y., P., Grayburn, A., Karim, M., Shimabukuro, M., Higa, D., Baetens, L., Orci and H., Unger R. (2000). "Lipotoxic heart disease in obese rats: implications for human obesity." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.

Teger-Nilsson, A. C., Larsson, P. T., Hjendahl, P. and Olsson, G. (1991). "Fibrinogen and plasminogen activator inhibitor-1 levels in hypertension and coronary heart disease. Potential effects of beta-blockade." Circulation **84**(6 Suppl): VI72-77.

Tschoepe, D., Rauch, U. and Schwippert, B. (1997). "Platelet-leukocyte-cross-talk in diabetes mellitus." Hormone and metabolic research = Hormon- und Stoffwechselforschung = Hormones et métabolisme **29**(12): 631-635.

Tsimmerman, G, Roguin, A, Bachar, A, Melamed, E, Brenner, B and Aharon, A (2011). "Involvement of microparticles in diabetic vascular complications." Thrombosis and haemostasis **106**(2): 310-321.

Undas, A, Brummel-Ziedins, K E. and Mann, K G. (2005). "Statins and blood coagulation." Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology **25**(2): 287-294.

Undas, A, Sydor, W J., Brummel, K, Musial, J, Mann, K G. and Szczeklik, A (2003). "Aspirin alters the cardioprotective effects of the factor XIII Val34Leu polymorphism." Circulation **107**(1): 17-20.

Undas, A., Podolec, P., Zawilska, K., Pieculewicz, M., Jedliński, I., Stepień, E., Konarska-Kuszevska, E., Weglarz, P., Duszyńska, M., Hanschke, E. and Wiesława, T. (2009). "Altered fibrin clot structure/function in patients with cryptogenic ischemic stroke." Stroke; a journal of cerebral circulation **40**(4): 1499-1501.

Undas, A., Szuldrzynski, Konstanty, Stepień, E., Zalewski, J., Godlewski, Jacek, Tracz, W., Pasowicz, Mieczysław and Zmudka, K. (2008). "Reduced clot permeability and susceptibility to lysis in patients with acute coronary syndrome: Effects of inflammation and oxidative stress." Atherosclerosis **196**(2): 551-557.

Vambergue, A., Rugeri, L., Gaveriaux, V., Devos, P., Martin, A., Fermon, C., Fontaine, P. and Jude, B. (2001). "Factor VII, tissue factor pathway inhibitor, and monocyte tissue factor in diabetes mellitus: influence of type of diabetes, obesity index, and age." Thrombosis research **101**(5): 367-375.

Vasanji, Z, Dhalla, N S. and Netticadan, T (2004). "Increased inhibition of SERCA2 by phospholamban in the type I diabetic heart." Molecular and cellular biochemistry **261**(1-2): 245-249.

Watała, C., Boncer, M., Golański, J., Koziółkiewicz, W., Trojanowski, Z. and Walkowiak, B. (1998). "Platelet membrane lipid fluidity and intraplatelet calcium mobilization in type 2 diabetes mellitus." European journal of haematology **61**(5): 319-326.

Weber, C. and Noels, H. (2011). "Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options." Nat Med **17**(11): 1410-1422.

Zalewski, J, Undas, A, Godlewski, J, Stepień, E and Zmudka, K (2007). "No-reflow phenomenon after acute myocardial infarction is associated with reduced clot permeability and susceptibility to lysis." Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology **27**(10): 2258-2265.

Danksagung

An erster Stelle möchte ich mich bei Frau Dr. med. K. Heß und Herrn Univ. Prof. Dr. med N. Marx für die sehr gute Betreuung und Unterstützung während der Dissertation bedanken. Insbesondere gilt mein Dank Frau Dr. med. K. Heß, die wirklich jederzeit für Fragen und Rat erreichbar war. Ich hätte mir keine bessere Betreuung vorstellen können.

Mein weiterer Dank gilt Frau Katharina Lysaja, für die fachkundige Einarbeitung in die ELISA und Turbidimetrie und Lyse Assays. Insbesondere bedanke ich mich für die Fortführung der Assays während meiner Klinikwochen.

Des Weiteren möchte ich mich bei Frau Ann-Christina Foldenauer bedanken, die im Rahmen der statistischen Beratung der Dissertation viel Zeit investiert hat, um mir die statistische Analyse von linearen Regressionen zu erläutern.

Mein ganz besonderer Dank gilt meiner Freundin und meiner Familie die mir viel Verständnis für meine Arbeit entgegengebracht haben und ohne deren Unterstützung diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre. Danke.

Abschließend möchte ich dem Leser danken, der es bis hierhin geschafft hat. Vielen Dank für Ihr Interesse.

Erklärung § 5 Abs. 1 zur Datenaufbewahrung

Hiermit erkläre ich, dass die dieser Dissertation zu Grunde liegenden Originaldaten

in der Klinik für Klinik für Kardiologie, Pneumologie, Angiologie und Internistische Intensivmedizin (Med. Klinik I) des Universitätsklinikums Aachen hinterlegt sind. Die Daten sind in digitaler Form auf dem Klinik internen V-Laufwerk unter dem Pfad:

„Arbeitsgruppen/AGProf.Marx/AGHeß/MartinBerger/Biobank_Dissertation“

hinterlegt.

Eidesstattliche Erklärung gemäß § 5 Abs. (1) und § 11 Abs. (3) 12. der Promotionsordnung

Hiermit erkläre ich, **Herr Martin Berger** an Eides statt, dass ich folgende in der von mir selbstständig erstellten Dissertation „**Das prothrombotische Risiko Typ 2 diabetischer Patienten in der stabilen und instabilen koronaren Herzerkrankung**“ dargestellten Ergebnisse erhoben habe:

Durchführung der Turbidimetrie und Lyse Experimente (20%), Durchführung der ELISA Assays für C3, Fibrinogen und PAI-1 (70%), Auswertung der stationären Patientenakten (100%) sowie die statistische Auswertung aller durchgeführten Experimente (100%).

Bei der Durchführung der Arbeit hatte ich folgende Hilfestellungen, die in der Danksagung angegeben sind:

- A. Koordinationszentrum für kardiologische Studien (KKS): Blutentnahme und Screening der Probanden
- B. Katharina Lysaja: Anleitung aller in der Dissertation genannten Techniken (Turbidimetrie und Lyse, Enzyme-linked Immunosorbent Assay), Durchführung der Turbidimetrie und Lyse Assays (80%), Durchführung der ELISA Assays für C3, Fibrinogen und PAI-1 (30%).
- C. Dr. med. Katharina Heß: Studiendesign und –überwachung, Korrektur der Dissertation
- D. Univ. Prof. Dr. med. Nikolaus Marx: Studiendesign und –überwachung, Korrektur der Dissertation
- E. Dipl.-Math. Ann Christina Foldenauer: Statistische Beratung über das Institut für medizinische Statistik.

Als Betreuer der obigen Dissertation bestätige ich die Angaben von Herrn Martin Berger

Aachen den 20.11.2014

Univ.-Prof. Dr. med. N. Marx

M. Berger

