

AUS DER II MEDIZINISCHEN ABTEILUNG  
-KARDIOLOGIE-  
DER ASKLEPIOS KLINIK ST. GEORG, HAMBURG

LEITENDER ARZT  
PROFESSOR DR. KARL-HEINZ KUCK

**Erythropoetin-Serumspiegel bei Patienten  
mit akutem Myokardinfarkt und instabiler Angina pectoris**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg vorgelegt von

**KONSTANTINOS KYRIAZIS**

aus Offenbach

HAMBURG 2008

Angenommen von der Medizinischen Fakultät

der Universität Hamburg am: 10.12.2008

Veröffentlicht mit Genehmigung der Medizinischen

Fakultät der Universität Hamburg

Prüfungsausschluss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. K.-H. Kuck

Prüfungsausschluss, 2. Gutachter/in: Prof. Dr. U. Wenzel

Prüfungsausschluss, 3. Gutachter/in: PD Dr. J. Kähler

Inhaltverzeichnis	Seite
<b>1 ARBEITSHYPOTHESE UND FRAGESTELLUNG</b>	<b>4</b>
<b>2 EINLEITUNG</b>	<b>5</b>
2.1 Das Hormon Erythropoetin	5
2.1.1 Nicht-hämatopoetische Effekte von Erythropoetin	6
2.1.2 Hämatopoetische Effekte von Erythropoetin	9
2.1.3 Erythropoetin-Bildungsort	9
2.1.4 Faktoren der Erythropoetin-Synthese	10
2.1.5 Der Erythropoetin-Rezeptor	10
2.2 Koronare Herzerkrankung	12
2.2.1 Risikofaktoren der koronaren Herzerkrankung	13
2.2.2 Instabile Angina pectoris und akuter Myokardinfarkt	13
2.2.3 Komplikationen des Myokardinfarktes	16
2.2.4 Therapie des Myokardinfarktes	16
<b>3 PATIENTEN UND METHODEN</b>	<b>20</b>
3.1 Einschlusskriterien	20
3.2 Ausschlusskriterien	20
3.3 Patientenkollektive	21
3.3.1 Gruppenverteilung	21
3.4 Diagnostische Methodik	24
3.4.1 Elektrokardiographie	24
3.4.2 Laborchemische Untersuchungen	24
3.4.3 Koronarangiographie/-plastie	24
3.4.4 ELISA zur Bestimmung des Erythropoetin-Serumspiegels	25
<b>4 ERGEBNISSE</b>	<b>27</b>
4.1 AMI-Gruppe	27
4.2 AP-Gruppe	30
4.3 Kontroll-Gruppen	32
4.4 Statistischer Vergleich zwischen den Gruppen	33
4.5 Korrelation von Risikofaktoren und EPO-Serumspiegel	35

<b>5</b>	<b>DISKUSSION</b>	<b>39</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMMENFASSUNG</b>	<b>45</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>46</b>
<b>8</b>	<b>DANKSAGUNG</b>	<b>58</b>
<b>9</b>	<b>LEBENS LAUF</b>	<b>59</b>
<b>10</b>	<b>ERKLÄRUNG</b>	<b>60</b>
<b>11</b>	<b>ADDENDUM - Statistische Auswertung</b>	<b>61</b>

## 1 ARBEITSHYPOTHESE UND FRAGESTELLUNG

Die Bildung neuer Blutgefäße (Angiogenese) ist bei einer Vielzahl von physiologischen Vorgängen, wie zum Beispiel der Embryogenese und dem weiblichen Reproduktionszyklus, sowie bei pathologischen Prozessen, wie zum Beispiel dem Tumorwachstum, der Wundheilung und der Neovaskularisation ischämischer Gewebe, von Bedeutung. Es ist bereits eine Vielzahl von angiogenetisch wirksamen Zytokinen beschrieben worden, wie zum Beispiel der „vascular endothelial growth factor“ (VEGF), der „fibroblast growth factor“ (FGF), der „hepatocyte growth factor“ (HGF) und das Erythropoetin (EPO), die bei diesen Neovaskularisations-Prozessen beteiligt sind und im Rahmen neuer Therapie-Strategien bei akuter Gewebsischämie von großem Interesse sind.

Wir stellten uns die Frage ob unser menschlicher Organismus im Rahmen möglicher Regenerationsprozesse auch bei ischämischem Myokardinfarkt vermehrt angiogenetisch wirksame Faktoren, wie zum Beispiel Erythropoetin, ausschüttet um eine Neoangiogenese im Herzmuskel zu unterstützen beziehungsweise zu induzieren. Die Beobachtung, dass erhöhte VEGF-Serumkonzentrationen bei Patienten 7-10 Tage nach einem akuten Myokardinfarkt nachgewiesen wurden (Kranz et al. 2000), legt nahe, dass ein enger Zusammenhang zwischen Myokardischämie und erhöhten Serumspiegeln an angiogenetisch wirksamen Faktoren besteht.

Basierend auf der Beobachtung, dass ein akutes Ischämieereignis, wie zum Beispiel ein akuter Myokardinfarkt, die Ausschüttung von angiogenetisch wirksamen Zytokinen in den Kreislauf induzieren kann, wurde der Serumspiegel von Erythropoetin (EPO) bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt (AMI) und instabiler Angina pectoris (AP) bestimmt.

## 2 EINLEITUNG

### 2.1 Das Hormon Erythropoetin

Das humane Erythropoetin (EPO) wurde erstmals 1977 von Miyake, Kung und Goldwasser (Miyake et al. 1977) aus dem Urin von Patienten mit aplastischer Anämie isoliert und dargestellt. Im Jahre 1985 gelang es der Arbeitsgruppe um Lin (Lin et al. 1985) das humane Erythropoetin-Gen zu identifizieren und zu sequenzieren. Es befindet sich als einfache Kopie auf dem Chromosom 7 in der Mitte des langen Arms q11-q22. Die genomische DNS ist in 5 Exons und 4 Introns unterteilt. Die Exons enthalten die kodierende Struktur für die 193 Aminosäuren des Propeptids (Watkins et al. 1986).

Das Hormon verlässt die Polyribosomen als Propeptid bestehend aus 193 Aminosäuren (Lai et al. 1986). Ein 27 Aminosäuren langes, N-terminales Signalpeptid wird abgespalten, nachdem das Peptid im endoplasmatischen Retikulum glykosyliert worden ist. Während der Ausschleusung in den Kreislauf wird das Glycopeptid noch durch eine Peptidase um die karboxyterminale Aminosäure Arginin verkürzt. Die Konformation der Peptidkette wird durch zwei Disulfid-Brücken (Position 7-161 und 29-33) stabilisiert (finale Molekül-Tertiärstruktur), die von 4 Cysteinresten ausgebildet werden (Lai et al. 1986). Die vier Oligosaccharid-Seitenketten sind über 3 N-glycosidische Bindungen (Positionen 24, 38, 83) und über eine O-glycosidische Bindung (Position 126) mit dem Protein verbunden.

Das saure, relativ hitze- und pH-stabile Glycoprotein Erythropoetin weist mehrere, unterschiedlich glycosylierte, natürlich vorkommende Isoformen auf. Der Kohlenhydratanteil des biologisch aktiven Erythropoetins beträgt ca. 40%. Dieser Anteil bestimmt das pharmakokinetische Profil von Erythropoetin (Dorbal et al. 1985).

Auf Basis seiner Aminosäurezusammensetzung beträgt das Molekulargewicht des Proteinanteils von Erythropoetin 18.398 D (Lin et al. 1985). Diskrepanzen

zwischen angegebenen unterschiedlichen Molekulargewichten sind durch die ausgeprägte Glycosylierung des Moleküls bedingt.

### **2.1.1 Nicht-hämatopoetische Effekte von Erythropoetin**

Neben seiner bekannten Rolle in der Erythropoese konnte in einer Vielzahl von Studien gezeigt werden, dass EPO *in vitro* sowie auch *in vivo* angiogenetisch (Brown et al. 1996, Carlini et al. 1995, Jaquet et al. 2002, Kalka et al. 1999, Kroll und Waltenberger 2000, Lazarous et al. 1996, Ribatti et al. 1999, Sengupta et al. 2003) und organprotektiv (Calvillo et al. 2003, Ehrenreich et al. 2002, Gorio et al. 2002, Grimm et al. 2002, Kawakami et al. 2001, Krause et al. 2006, Moon et al. 2003, Parsa et al. 2003, Tramontano et al. 2003) wirksam ist.

#### **Herz**

Im Herzmuskelgewebe hat das EPO nach den Untersuchungen von Jaquet et al. (2002), ein deutliches angiogenetisches Potential. Die Untersuchungen der Arbeitsgruppe zeigten, dass das rekombinante humane EPO (rHuEPO) im Herzgewebe *in vitro* eine 220%-ige Steigerung der Angiogenese bewirkt. Damit entfaltet es eine ähnliche angiogenetische Wirksamkeit wie VEGF (230%-ige Steigerung der Angiogenese), womit auch EPO eine Bedeutung bei angioproliferativen Prozessen zukommt.

Eine kardioprotektive Wirkung von EPO konnte in verschiedenen Tierexperimenten auch gezeigt werden. Bei kardialen Infarkt- und Ischämie-/Reperfusionen-Modellen im Nagetier (z. B. Maus, Ratte) kommt es durch Behandlung mit EPO zu einer Reduktion der Infarktgröße (Calvillo et al. 2003, Moon et al. 2003, Parsa et al. 2003), zu einer Abnahme des linksventrikulären end-diastolischen Drucks (Calvillo et al. 2003) und funktionell zu einer signifikant besseren Pumpfunktion. Die Ursache ist laut Tramontano vermutlich eine Abnahme der Zahl apoptotischer Kardiomyozyten (Tramontano et al. 2003). Darüber hinaus konnten Chong et al. (2002) zeigen, dass EPO neben der Apoptose der Kardiomyozyten auch die Apoptose von vaskulären Endothelzellen verhindert .

Der Begriff Apoptose wurde von Kerr et al. (1972) eingeführt und beschreibt charakteristische morphologische Veränderungen dieser Todesform der Zelle. Zu diesen Veränderungen zählen das Schrumpfen des Zytoplasmas, die Bläschenbildung („blebbing“) an der Zellmembran und die halbmondförmige, nukleäre Chromatin-Kondensation und auch Veränderungen der Zellmembranoberfläche, auf der Phosphatidyl-Serin exponiert wird, ein Molekül, das sonst im Zellinneren zu finden ist (Kerr et al. 1972, Fadok et al. 1992, Vanags et al. 1996). Durch enzymatische Spaltung wird die DNS zunächst in grosse Stücke und später auch kleine Fragmente von ca. 180 Basen Länge gespalten. Schließlich werden Zellkern und die Organellen in apoptotische Körper aufgeteilt und in Zellmembranen verpackt. Das sind runde Elemente, die Chromatin enthalten und der schnellen Phagozytose zugeführt werden (Walker et al. 1993, Oberhammer et al. 1993, Majno und Joris 1995, Wyllie 1980).

Nach den Untersuchungen von Krause et al. (2006), wurden kardioprotektive Effekte einer EPO-Therapie zum ersten mal im Jahre 2005 auch in einem Grosstiermodell bei chronischer Myokardischämie nachgewiesen. Bei den Tieren (Hausschweine) wurde ein Ameroid-Konstriktor um den proximalen Anteil des Ramus circumflexus (RCX) platziert. Die Hälfte der Tiere (randomisiert) erhielt in der zweiten Woche nach endokardialen Mapping perkutan-endokardial eine EPO-Injektion in die ischämische Myokardregion. In dem elektroanatomischen Myokard-Mapping betrug das ischämische Areal 41% der endokardialen Oberfläche in der Kontrollgruppe versus 21,4% in der EPO-Gruppe und die interstitielle myokardiale Fibrose war in der Kontrollgruppe 28% versus 8% in der EPO-Gruppe. Auch echokardiographisch konnte eine relevant höhere linksventrikuläre Auswurfsfraktion festgestellt werden (Krause et al. 2006).

Wichtig in diesem Zusammenhang ist die Beobachtung, dass es bei keiner derartigen experimentellen Untersuchungen zu einer relevanten Erhöhung des Hämatokrits kam, so dass eine Verbesserung des Sauerstofftransports als Ursache für den positiven EPO-Effekt ausgeschlossen sein dürfte (Wagner et al. 2001).

### **Endothelzellen**

An den Endothelzellen konnten durch EPO diverse Effekte nachgewiesen werden, wie Endothelin-1-Synthese und -Freisetzung, Angiogenese, mitogener Effekt und synergistische Wirkung mit VEGF (Juul 2000) sowie Proliferation, Migration und Anti-Apoptose von reifen Endothelzellen (Heeschen et al. 2003). EPO führt auch zu einer Induktion der Proliferation, Differenzierung und der Mobilisation der endothelialen Vorläuferzellen aus dem Knochenmark (Heeschen et al. 2003).

### **Hirn**

Das Gehirn war das erste nicht-hämatopoetische Organ, in welchem die Expression von Erythropoietin und des EPO-Rezeptors nachgewiesen wurde (Marti et al. 1996). Im Hirn existiert ein parakrines EPO-System. Astrozyten produzieren EPO, welches dann an Neuronen wirkt, die den EPO-Rezeptor tragen (Yasuda et al. 1998). In verschiedenen Studien, zum Beispiel im Tiermodell, konnte eine neuroprotektive Wirkung des EPO durch eine signifikante Reduktion der Hirninfarktgröße gezeigt werden (Ehrenreich et al. 2002, Gorio et al. 2002, Grimm et al. 2002, Kawakami et al. 2001).

Siren et al. (2001) konnten zeigen, dass EPO ein potenter direkter Inhibitor der Ischämie- und Hypoxie-bedingten neuronalen Apoptose ist. Indirekt führt EPO durch seine angiogenetische Wirkung zu Neuroprotektion.

### **Uterus**

Auch im Uterus spielt das EPO eine Schlüsselrolle bei der Gefäßneubildung während des Menstruationszyklus. Es ist bekannt, dass im Uterus EPO durch - bislang unbekannte Zellen - produziert wird und dass auch endometriale Endothelzellen den EPO-Rezeptor tragen (Yasuda et al. 1998). Der Stimulus für die EPO-Produktion im Uterus ist das Hormon 17 $\beta$ -Estradiol. Bemerkenswert ist, dass in diesem Fall hypoxische Stimuli keinen Effekt auf die EPO-Produktion haben (Yasuda et al. 1998).

### 2.1.2 Hämatoetische Effekte von Erythropoetin

Endogenes Erythropoetin (aber auch das rekombinate-HuEPO) entfaltet nach *de novo* Synthese in der Niere und Freisetzung in das Blut seine direkte Wirkung als blutbildendes Wachstumshormon im Knochenmark. Erythropoetin stimuliert die Proliferation von erythroiden Vorläuferzellen („committed erythroid progenitor cell“) und fördert dosisproportional ihre Differenzierung in reife Erythrozyten. Die Blutbildung besteht aus einer Kaskade von Entwicklungsschritten, die von zahlreichen regulatorischen Polypeptiden gesteuert wird. An der Regulation sind beteiligt: Stammzell-Faktor (SCF), zahlreiche Interleukine (IL-1, IL-3, IL-4, IL-6, IL-7, IL-11), kolonie-stimulierende Faktoren (CSF, G-CSF, GM-CSF, M-CSF), Erythropoetin und Thrombopoetin (Peters und Fandrey 1997).

Während die kolonie-stimulierende Faktoren (CSF) die Proliferation und Differenzierung der pluripotenten Stammzellen und der „committed“ Vorläuferzellen induzieren (Clark und Kamen 1987), entfaltet das Hormon Erythropoetin seine Aktivität auf spät determinierte Vorläuferzellen der Erythropoese und stimuliert dosisproportional die Proliferation und Differenzierung der Vorläuferzellen zu Normoblasten. Erythropoetin stimuliert die Vermehrung der reifen „burst forming units erythroide“ Zellen (BFU<sub>E</sub>-Zellen) in „colony forming units erythroide“ Zellen (CFU<sub>E</sub>-Zellen) und ist als Wachstums- und Differenzierungshormon für die CFU-Zellen essentiell. Letztere Zellen sind der wichtigste Angriffspunkt des Hormons (Peters und Fandrey 1997).

Zusätzlich wird in der Literatur auch eine Wirkung auf die Thrombozyten- und Monozytenbildung beschrieben (Nielsen und Thaysen 1989).

### 2.1.3 Erythropoetin-Bildungsort

Das humane Erythropoetin wird in der Fetalzeit vorzugsweise in der Leber und nach der Geburt hauptsächlich in den Nieren (85-90%) aber auch in der Leber (10-15%) gebildet. Neuere Daten zeigen, dass das Erythropoetin auch im

Gehirn, im Uterus und in den Ovarien gebildet wird (Masuda et al. 1994, Stack und Gorski 1984, Yasuda et al. 1998).

#### 2.1.4 Faktoren der Erythropoetinsynthese

Der wichtigste Stimulus für die Synthese des Hormons (Nieren, Leber, Hirn) wird durch Gewebshypoxie hervorgerufen. Durch einen Abfall des intrazellulären O<sub>2</sub>-Partialdrucks im Rahmen einer Hypoxie wird der Transkriptionsfaktor Hypoxie-induzierbarer-Faktor-1a (HIF-1a) aktiviert, der dann nach Translokation in den Zellkern und im Zusammenspiel mit verschiedenen Co-Faktoren zu einer Aktivierung einer Vielzahl von Genen führt, unter anderem auch des Erythropoetins (Wang et al. 1995, Wenger 2002). Im Uterus ist dieser Stimulus ein Hormon, das 17 $\beta$ -Estradiol (Yasuda et al. 1998).

**Tab. 1.** In der folgenden Tabelle werden zusammenfassend die wichtigsten Induktoren und Inhibitoren der Erythropoetin-Bildung (Egrie und Goldwasser 1992, Jelkmann et al. 1990).

INDUKTOREN	INHIBITOREN
Hypoxie / Anämie	Polyzythämie
Kobalt-, Mangan-, Nickelsalze	IL-1
Androgene, Estrogene	TNF-a
Zyklisches AMP (renal carcin. Cell line)	

#### 2.1.5 Der Erythropoetin-Rezeptor

Ursprünglich wurde angenommen, dass die Expression des Erythropoetinrezeptors ausschließlich auf erythrozytäre Vorläuferzellen beschränkt war. Jedoch haben Untersuchungen in den letzten Jahren ergeben, dass der Erythropoetinrezeptor auf einer Vielzahl von Zellen und Geweben vorhanden ist. Dazu gehören Gehirn, Leber, Niere, Pankreas, Darm, Sexualorgane, Endothelzellen von Herz, Lunge, Hirn, Nabelschnur und Haut

sowie die glatten Muskelzellen der Gefäße (Digicaylioglu et al. 1995, Juul et al. 1998, Maiese et al. 2005). Kürzlich konnte auch gezeigt werden, dass im humanen adulten Herzmuskelgewebe der EPO-Rezeptor sowohl im Ventrikel als auch in den Vorhöfen in größeren Mengen exprimiert wird (Depping et al. 2005). Auch Tumorzellen können den Erythropoetinrezeptor exprimieren, wie z.B. Lungentumore, Nierenzellkarzinome, Mammakarzinome, Leukämiezellen, Hepatoblastome und andere Tumore des Kindesalters (Westphal et al. 2002).

Der 1990 klonierte humane EPO-Rezeptor gehört zur Familie der Typ 1 Zytokinrezeptoren und ist 484 Aminosäuren groß (Stroud und Wells 2004). Er besteht aus einer extrazellulären Domäne (226 Aminosäuren, Position 25-250), einer transmembranären Domäne (23 Aminosäuren, Position 251-273) und einem zytoplasmatischen Anteil (235 Aminosäuren, Position 274-508). Der funktionelle, Erythropoetin-bindende Rezeptor ist ein homodimer. Der Rezeptor selbst hat keine Kinaseaktivität, jedoch ist die zytoplasmatische Domäne mit der Tyrosinkinase Januskinase-2 (JAK-2) assoziiert. Diese Domäne weist ein „Box-1-Motiv“ (Position 282-290) auf, welches für die Bindung und Aktivierung von JAK-2 erforderlich ist. Nach der Erythropoetinbindung und der Homodimerisation katalysiert die JAK-2 die weitere intrazelluläre Signalkaskade (Stroud und Wells 2004).

Dabei sind drei Signalwege von Bedeutung:

- 1) Die Bindung von SH2-Domäne-Proteinen und Adapterproteinen (PTPN6, SOCS3) an von JAK2 phosphorylierte C-terminale Tyrosinreste.
- 2) Die Aktivierung von STAT5 durch JAK2.
- 3) Die Aktivierung des PI3-Kinase /Akt /PKB-Weges.

Nach Phosphorylierung der acht Tyrosinreste durch die JAK-2 werden die Phosphotyrosinmotive mono- oder polyubiquitiniert (Interaktion mit der Ubiquitinligase NEMO). Diese Ubiquitinierung ist mitbeteiligt an Zellproliferation und gesteigertem Zellüberleben nach Erythropoetinbindung an den Rezeptor. Es kommt zu einer Stabilisierung des mitochondrialen Membranpotentials, einer Verminderung der Zytocrom C Freisetzung und einer Hemmung der proapoptotischen Caspasen 3 und 8. Diese Signalwege wirken letztendlich

antiapoptotisch, das heißt die Anzahl der apoptotischen Zellen wird reduziert (Stroud und Wells 2004).

## **2.2 Koronare Herzerkrankung**

Die koronare Herzkrankheit (KHK) ist die Manifestation einer Atherosklerose an den Koronararterien einhergehend mit Verhärtung, Verdickung, Elastizitätsverlust und Lumeneinengung (Mörl et al. 1998).

Die Pathogenese der Atherosklerose ist nur teilweise bekannt. Gefäßeinengungen entstehen in einer langsamen, über Jahre dauernden Phase und einer schnelleren, wohl wenige Tage dauernden Phase (Stierle und Niederstadt 1999).

Die langsame Plaquebildung als Reaktion auf Endothelläsionen ist vermutlich die pathologisch-anatomische Grundlage der jahrelang stabilen oder gering progredienten Angina pectoris. Bereits bei Kindern entstehen in den Koronararterien subintimale Fettablagerungen in Makrophagen und geringer in glatten Muskelzellen („fatty streaks“). Die Bindegewebs- und Myozytenproliferation wird so gefordert. Die Depots verhärten im Laufe von Jahren, es entstehen fibröse Plaques. Auf mechanische Reizung, z. B. erhöhten Blutdruck, reagiert das Endothel mit Ausschüttung von Wachstumsfaktoren, die Plaquebildung wird beschleunigt (Stierle und Niederstadt 1999).

Die schnelle Phase mit Thrombusbildung entspricht der instabilen Angina pectoris oder dem Myokardinfarkt. Das Gefäßendothel ist eine nicht-thrombogene Oberfläche. Durch verschiedene körpereigene Stoffe wird normalerweise die Haftung bzw. Aktivierung von Thrombozyten unterbunden. Wird das Endothel an einer Stelle aufgebrochen und das thrombogene subintimale Gewebe freigelegt, entsteht ein Thrombus. Dieser Thrombus wird meist in den Plaques integriert. Bei weiterer Thrombusapposition auf den Intimadefekt kann die Gefäßstenose zunehmen. Auch dieser größerer Thrombus kann durch das körpereigene Fibrinolysesystem (Plasmin) beseitigt

werden (über 20% spontane Rekanalisation von Infarktgefäßen binnen Stunden). Da der Plaque, auf dem der Thrombus entsteht, meistens klein ist, geht dem Myokardinfarkt in bis zu 50% keine Angina pectoris voraus (Stierle und Niederstadt 1999).

### **2.2.1 Risikofaktoren der Koronaren Herzerkrankung**

Die wichtigsten Risikofaktoren für die Entwicklung einer koronaren Herzerkrankung sind ein erhöhter Cholesterinspiegel, die arterielle Hypertonie, der Nikotinkonsum, der Diabetes mellitus, das Alter und eine familiäre Vorbelastung. Zusätzliche Faktoren sind eine erhöhte Lipoprotein-(a)-Konzentration, Adipositas, ein erhöhter Homocysteinspiegel, fehlende körperliche Aktivität, psychosoziale Faktoren und die Einnahme von Östrogenen (Stierle und Niederstadt 1999).

### **2.2.2 Instabile Angina pectoris und akuter Myokardinfarkt**

Die instabile Angina pectoris wird definiert als jede neu aufgetretene Angina oder Angina in körperlicher Ruhe oder mit zunehmender Häufigkeit oder Schwere bzw. abnehmende Belastbarkeit. Sie beruht auf hochgradigen oder zunehmenden Koronarstenosen bedingt durch Ruptur atheromatöser Plaques, Thrombozytenaggregation an der Wand der Koronararterien, Koronarthrombenbildung bei meist vorbestehender Koronarstenose oder erhöhtem Vasotonus der Koronargefäße, wie zum Beispiel bei der vasospastischen Angina (Stierle und Niederstadt 1999).

Die Einteilung und Risikoabschätzung der verschiedenen Patientengruppen mit instabiler Angina pectoris erfolgt durch die Klassifizierung nach Braunwald (Hamm und Braunwald 2000), die in der folgenden Tabelle (Tab. 2) dargestellt wird:

**Tab. 2.** Klassifizierung der instabilen Angina pectoris nach Braunwald.

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>
Anginaintensität	Extrakardiale Ursache (sekundäre instabile Angina)	Ohne extrakardiale Ursache (primäre instabile Angina)	Innerhalb von 2 Wochen nach Myokardinfarkt (postinfarkt Angina)
<b>I</b> Neu einsetzende oder zunehmende Angina; keine Ruheangina	IA	IB	IC
<b>II</b> (Subakut) Ruheangina im letzten Monat aber nicht in den letzten 48 Stunden	IIA	IIB	IIC
<b>III</b> Ruheangina in den letzten 48 Stunden	IIIA	IIIB-T <sub>neg.</sub> / IIIB-T <sub>pos.</sub>	IIIC

In der folgenden Tabelle (Tab. 3), wird eine weitere häufig verwendete Klassifizierung nach der „Canadian Cardiovascular Society“ (CCS) dargestellt (Campeau 1976):

**Tab. 3.** Klassifizierung der instabilen Angina pectoris nach der CCS.

<b>CCS I</b>	Keine Angina pectoris bei normaler körperlicher Belastung, allenfalls bei extremer körperlicher Anstrengung
<b>CCS II</b>	Angina pectoris nur bei stärkerer körperlicher Belastung
<b>CCS III</b>	Angina pectoris auch bei normaler bis geringer körperlicher Aktivität
<b>CCS IV</b>	Angina pectoris in Ruhe oder bei geringster körperlicher Anstrengung

Beim akuten Myokardinfarkt führt, in ca. 90% ein Koronararterienverschluss und in ca. 10% eine hochgradige Stenose zu sofortigem Verlust der Kontraktilität des nachgeschalteten Gewebes. Die meisten Infarkte sind durch eine

atherosklerotische Koronarstenose mit aufgelagertem Thrombus bedingt. In ca. 25% der Fälle findet eine spontane Wiedereröffnung des Infarktgefäßes binnen 24 Stunden durch körpereigenes Plasmin (spontane Fibrinolyse) statt. Nach kompletter Ischämie wird der endokardnahe Herzmuskel nach ca. 20 Min. irreversibel nekrotisch. Die Nekrose dehnt sich über Stunden zum Perikard hinaus. Nach Reperfusion einer verschlossenen Koronararterie ist das Myokard noch lange „gelähmt“ („stunning“), erst nach Tagen oder sogar Wochen ist die Pumpfunktion wieder normal (Stierle und Niederstadt 1999).

Nach dem Consensus der „European Society of Cardiology“ / „American College of Cardiology“ 2000 (Alpert et al. 2000), wird bereits beim Nachweis myokardialer Nekrosen, entdeckt durch die spezifischen Marker Troponin-T und Troponin-I von einem Myokardinfarkt gesprochen. Hierbei werden alle Akutmanifestationen einer koronaren Herzkrankheit als akute Koronarsyndrome („acute coronary syndrome“, ACS) zusammengefasst und initial eine Einteilung in ST-Hebungs- und Nicht-ST-Hebungs-ACS und erst nachfolgend in Q-Zacken- und Nicht-Q-Zacken-Infarkt durchgeführt. Mit dieser Nomenklatur ist eine bessere Triage der Akuttherapie gegeben.

In der klinischen Symptomatik besteht zwischen instabiler Angina pectoris, Nicht-ST-Hebungsinfarkt und ST-Hebungsinfarkt ein fließender Übergang. Leitsymptom ist der retrosternal betonte Brustschmerz, häufig mit Ausstrahlung in Nacken, Hals, Kiefer, Arme oder Oberbauch, oft verbunden mit Luftnot, Schweissausbruch, Übelkeit oder anderen vegetativen Zeichen, sowie dem Gefühl der Lebensbedrohung. Bei älteren Patienten, bei Frauen und bei Diabetikern kann die Symptomatik auch stark atypisch sein. Charakteristisch für den ST-Hebungsinfarkt ist eine länger als 20 Minuten und nitroglycerinrefraktäre Schmerzsymptomatik. Häufig sind dem eigentlichen Infarkt in den letzten Stunden oder Tagen kurze Schmerzattacken unter geringer Belastung oder sogar im Ruhezustand vorausgegangen (Hamm et al. 2004).

### **2.2.3 Komplikationen des Myokardinfarktes**

Nahezu die Hälfte (46,4%) der 853,946 Todesfälle in Deutschland waren zum Beispiel im Jahre 2003 auf die Folgen von Kardiovaskulären Erkrankungen zurückzuführen, knapp 65,000 der betroffenen waren einem akuten Myokardinfarkt erlegen (Statistisches Bundesamt 2003).

#### Frühe Komplikationen

Es können folgende Komplikationen auftreten: diverse Herzrhythmusstörungen, wie zum Beispiel Asystolie, ventrikuläre Tachykardien und insbesondere Kammerflimmern, welches die häufigste Todesursache nach einem akuten Myokardinfarkt ist. Darüber hinaus kann es zu einer akuten Linksherzinsuffizienz kommen mit einem Lungenödem oder einem kardiogenen Schock als Folge, einer Herzwandruptur oder einem Papillarmuskelabriss mit einer daraus resultierenden akuten Herzklappeninsuffizienz (Herold und Mitarbeiter 2000, Stierle und Niederstadt 1999).

#### Spätkomplikationen

Nach der akuten Phase des akuten Myokardinfarktes können im weiteren Verlauf verschiedene Komplikationen auftreten, wie zum Beispiel eine Perikarditis (Perikarditis epistenocardica und Dressler-Syndrom), die Entstehung eines Herzwandaneurysmas mit ventrikulären Tachykardien, plötzlichen Herztod, zunehmender Herzinsuffizienz oder arterieller Embolisation als Folge und eine chronische Herzinsuffizienz (Herold und Mitarbeiter 2000, Stierle und Niederstadt 1999).

### **2.2.4 Therapie des akuten Myokardinfarktes**

#### a) Reperfusionstherapie

Therapieziel bei einem akuten Myokardinfarkt ist die möglichst rasche Eröffnung des betroffenen beziehungsweise verschlossenen Koronargefäßes.

Diese Wiederherstellung der Durchblutung im Infarktgebiet wird Reperfusionstherapie genannt. Bei einer Durchführung innerhalb von 12 Stunden nach Symptombeginn wird die Prognose verbessert. Als Reperfusionstherapie sind zwei Behandlungsverfahren etabliert: die *medikamentöse Fibrinolyse* und die *perkutane Koronarintervention* (PCI). Wenn der erwartende Zeitverlust durch Transport und Vorbereitung für eine kathetergestützte Therapie kürzer als 90 Minuten beträgt, ist die primäre Koronarintervention anzustreben (Hamm et al. 2007). In den letzten Jahren konnte der Vorteil der primären PCI als routinemäßige Reperusionsstrategie im Vergleich zur Fibrinolyse durch eine Reihe von Studien belegt werden (Andersen et al. 2003, Bonnefoy et al. 2002, Gibbons et al. 1993). Die Metaanalyse der verfügbaren Daten aus randomisierten Studien zeigt eine Reduktion der Infarktsterblichkeit durch die PCI im Vergleich zur Fibrinolyse um 25%, die im Langzeitverlauf erhalten bleibt (Grines et al. 2003, Keeley et al. 2003). Technische Neuerungen wie Stentimplantation im Infarktgefäß und die Begleittherapie mit Glykoprotein-IIb/IIIa-Antagonisten haben zu einer weiteren Steigerung des Akuterfolges der direkten mechanischen Rekanalisationsverfahren geführt (Hamm et al. 2007). Die medikamentöse Fibrinolyse sollte bei jedem Patienten mit einem ST-Hebungsinfarkt (STEMI) durchgeführt werden, bei dem keine primäre Koronarintervention durchgeführt werden kann und bei dem keine Kontraindikationen für eine Fibrinolysetherapie bestehen. Dies gilt besonders für die ersten 3 Stunden. Der Gewinn durch eine Fibrinolysetherapie mehr als 6 Stunden nach Infarktbeginn ist nur noch sehr gering. Vier verschiedene Fibrinolysesubstanzen werden in Deutschland eingesetzt: Streptokinase, Alteplase, Reteplase und Tenecteplase (Hamm et al. 2007).

#### b) Operative Therapie

Ziel einer koronaren Bypass-Operation ist es, eine Verbindung zwischen Aorta und der stenosierten Koronararterie distal ihrer Einengung herzustellen. Hierbei wird in den meisten Fällen die Vena saphena magna frei transplantiert, oder es werden Anastomosen mit den Arteriae mammae hergestellt. Zusätzlich

können die Arteria gastroepiploica oder freie Transplantate der Arteria epigastrica oder der Arteria radialis verwendet werden.

Da die Prognose von Patienten mit einem akuten ST-Hebungsinfarkt nach erfolgreicher Fibrinolyse oder primärer Koronarintervention günstig ist, besitzt die akute Bypasschirurgie als routinemäßige Alternative zur frühen Reperfusionstherapie keinen Stellenwert. Die Gründe dafür sind die beträchtliche Zeitverzögerung bis zum Beginn einer Operation und die hohe Komplikationsrate von Akuteingriffen. Eine Herzoperation kann unter folgenden Umständen bei einem ST-Hebungsinfarkt in Betracht gezogen werden: erfolglose PCI wenn eine hämodynamische Instabilität vorliegt, Koronarmorphologie die ungeeignet für eine PCI ist, Komplikationen nach einer PCI (Koronargefäßperforation), schwere Infarktkomplikationen wie schwere Mitralinsuffizienz durch Papillarmuskeldysfunktion oder Ventrikelperforation und Ventrikelseptumdefekt (Hamm et al. 2004).

### c) Medikamentöse Begleittherapie

- Thrombozytenaggregationshemmer

Acetylsalicylsäure sollte allen Patienten mit einem Herzinfarkt unter Beachtung der absoluten Kontraindikationen so früh wie möglich gegeben werden. Eine deutliche Risikoreduktion kann durch die kombinierte Behandlung mit Acetylsalicylsäure und Clopidogrel bei Patienten mit instabiler Angina pectoris oder Nicht-ST-Hebungsinfarkt bei einer Therapiedauer von 3-12 Monaten erreicht werden. Ein Glykoprotein-IIb/IIIa-Antagonist sollte bei Patienten mit anhaltender Ischämie bei denen eine Koronarintervention geplant ist, eingesetzt werden (Meyer und Rupprecht 2007).

- Antithrombine

In der Regel wird unfraktioniertes Heparin als Bolusgabe und Folgeinfusion verwendet. Alternativ werden niedermolekulare Heparine, wie zum Beispiel Enoxaparin eingesetzt.

- Betarezeptor-Blocker

Neuere Analysen unterstützen weniger den routinemäßigen Gebrauch von Betablockern in der akuten Infarktphase (Freemantle et al. 1999, Pfisterer et al. 1998). Besonders in allen Fällen mit Tachykardie und Hypertonie sollten Betablocker großzügig und auch intravenös eingesetzt werden (Hamm et al. 2004).

- ACE-Hemmer

ACE-Hemmer sollten alle Infarktpatienten bereits in den ersten Tagen erhalten, bei denen eine reduzierte linksventrikuläre Ejektionsfraktion nachgewiesen wurde oder es zur Ausbildung einer manifesten Herzinsuffizienz kommt (Hamm et al. 2004).

- Nitrate

Der routinemäßige Langzeiteinsatz von Nitraten bei einem akuten Myokardinfarkt führte weder bei der GISSI-3- noch bei der ISIS-4-Studie zu einer signifikanten Sterblichkeitsreduktion (Studie GISSI-3 1994, Studie ISIS-4 1995).

#### d) Experimentelle Therapie der ischämischen Herzkrankheit

Neben diesen Ansätzen ist es wahrscheinlich möglich, die Gefäßneubildung (Neoangiogenese) und die Regeneration des ischämischen Myokards durch angiogenetische Zytokine und Progenitorzellen zu induzieren und somit eine Verbesserung der Perfusion und eine Funktionssteigerung des Herzmuskels zu erreichen. Möglicherweise könnte man in der nahen Zukunft die üblichen Therapie-Methoden, wie zum Beispiel eine CABG-Operation oder eine Gefäßrekanalisation mittels PTCA, mit einer unterstützenden Therapie im Sinne einer Injektion von Progenitorzellen und/oder Wachstumsfaktoren in das Ischämieareal kombinieren um noch bessere Ergebnisse zu erzielen.

### **3 PATIENTEN UND METHODEN**

#### **3.1 Einschlusskriterien**

Folgende Einschlusskriterien wurden definiert:

- Stationäre Aufnahme in der Asklepios Klinik St. Georg aufgrund akuter Angina pectoris Symptomatik.
- Nachweis eines akuten Myokardinfarktes oder instabiler Angina pectoris IIIB nach Braunwald.
- Unterschriebene Einwilligungserklärung.
- Alter über 18 Jahre.

#### **3.2 Ausschlusskriterien**

Unter bestimmten Umständen kann der Erythropoetinspiegel erhöht sein. Um falsch positive Ergebnisse zu vermeiden, wurden folgende Kriterien als Ausschlusskriterien definiert:

- Akute oder chronische Niereninsuffizienz.
- Hochgradige Anämie.
- Kardiogener Schock.
- Laufende Hormon-Therapie mit rHuEPO (Erythropoetin), Estrogenen oder Androgenen.
- Tumorleiden.
- Hyperthyreose.
- Hohes Fieber.
- Alter unter 18 Jahre.

### 3.3 Patientenkollektive

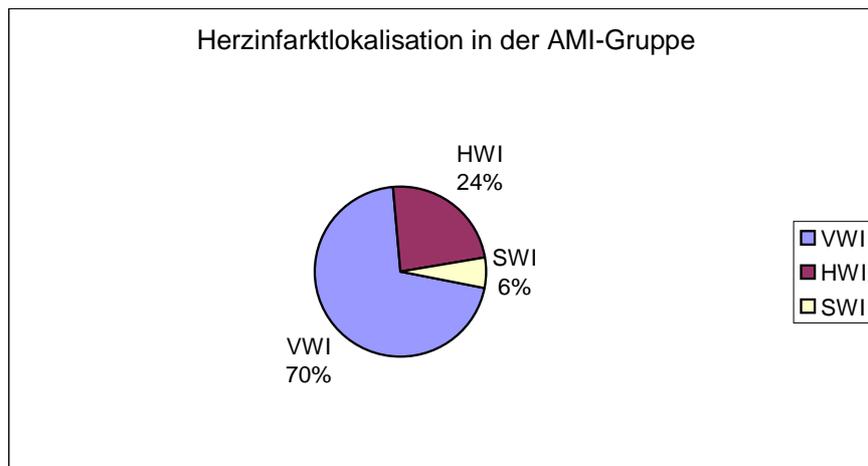
In der vorliegenden Studie wurden, den Einschluss- und Ausschlusskriterien entsprechend, 38 Patienten untersucht. Alle Patienten waren in der Asklepios Klinik St. Georg aufgrund einer akut aufgetretenen Angina pectoris Symptomatik stationär aufgenommen.

Von den 38 Patienten hatten 17 einen laborchemisch nachgewiesenen akuten Myokardinfarkt und 11 eine instabile Angina pectoris IIIB-Tneg nach Braunwald. Zusätzlich wurden in der Studie zwei Kontroll-Gruppen untersucht. In der einen Gruppe waren 10 Patienten mit instabiler Angina pectoris, bei denen eine koronare Herzkrankheit angiographisch ausgeschlossen werden konnte und in der anderen Gruppe wurden 18 gesunde Probanden ohne angiographischem Nachweis/Ausschluss einer KHK oder anderweitige Herzerkrankung eingeschlossen. Nach ausführlicher Aufklärung über die Studie erfolgte die Unterzeichnung der Einwilligungserklärung. Alle teilnehmenden Patienten erhielten eine Kopie dieser Erklärung. Im Anschluss wurden die Daten in anonymisierter Form im Datenerfassungsbogen eingetragen.

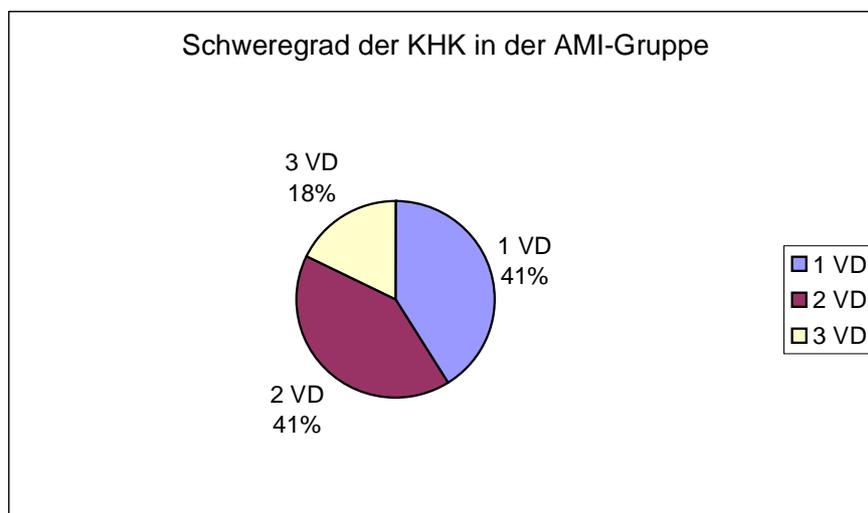
#### 3.3.1 Gruppenverteilung

- AMI-Gruppe (akuter Myokardinfarkt)

In dieser Gruppe wurden 17 Patienten mit typischer klinischer Symptomatik und erhöhten Myokardenzymen unabhängig vom Vorliegen einer ST-Streckenhebung im Elektrokardiogramm eingeschlossen. Davon waren 13 Patienten männlich und 4 weiblich mit einem Alter zwischen 27 und 78 Jahren, Median-Alter 61 Jahre. Koronarangiographisch wurde bei 7 Patienten eine 1-Gefäß-KHK, bei 7 Patienten eine 2-Gefäß-KHK und bei 3 Patienten eine 3-Gefäß-KHK festgestellt. Bezüglich der Herzinfarktlokalisierung, hatten 12 Patienten einen Vorderwandinfarkt, 4 Patienten einen Hinterwandinfarkt und 1 Patient einen Lateralwandinfarkt.



**Abb. 1.** In der obigen Abbildung wird die unterschiedliche Infarktlokalisierung bei den Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt (AMI-Gruppe) dargestellt. Die häufigste Lokalisation war mit 70% die Herz-Vorderwand. (VWI = Vorderwandinfarkt, HWI = Hinterwandinfarkt, SWI = Seitenwandinfarkt).



**Abb. 2.** In der obigen Abbildung wird die Zahl der großen epikardialen Koronararterien mit einer signifikanter Stenose bei den Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt (AMI-Gruppe) dargestellt. Jeweils 41% der Patienten hatten eine 1-Gefäß- beziehungsweise eine 2-Gefäß-KHK und nur 18% eine 3-Gefäß-KHK. (VD = vessel disease).

- AP-Gruppe (instabile Angina pectoris IIIB-Tneg)

In dieser Gruppe wurden 11 Patienten mit instabiler Angina pectoris IIIB nach Brauwald ohne ST-Streckenhebung im Elektrokardiogramm und mit einem negativem Testergebnis für das Troponin-T eingeschlossen. Davon waren 7 Patienten männlich und 4 Patienten weiblich mit einem Alter zwischen 61 und 77 Jahren, Median-Alter 72 Jahre. Koronarangiographisch zeigte sich bei allen Patienten dieser Gruppe eine operationspflichtige 3-Gefäß-KHK. Alle 11 Patienten blieben stationär im Krankenhaus und waren während des Aufenthaltes beschwerdefrei.

- Kontroll-Gruppen

Kontrolle-1

In der ersten Kontroll-Gruppe wurden 18 gesunde Probanden eingeschlossen. Davon waren 8 Probanden männlich und 10 Probanden weiblich mit einem Alter zwischen 19 und 70 Jahren, Median-Alter 41 Jahre.

Kontrolle-2

In der zweiten Kontroll-Gruppe wurden 10 Patienten mit instabiler Angina pectoris ohne pathologische EKG-Veränderungen und mit einem negativen Testergebnis für das Troponin-T eingeschlossen. Eine koronare Herzkrankheit als Ursache für die klinische Symptomatik wurde mittels Koronarangiographie ausgeschlossen. Davon waren 6 Patienten männlich und 4 Patienten weiblich mit einem Alter zwischen 55 und 74 Jahren, Median-Alter 65 Jahre.

Folgende kardiovaskuläre Risikofaktoren wurden bei den Patienten in der AMI- und in der AP-Gruppe dokumentiert:

- Diabetes mellitus
- Familiäre Vorbelastung
- Hyperlipidämie
- Arterielle Hypertonie
- Nikotinkonsum

### **3.4 Diagnostische Methoden**

Nach Aufnahme der Patienten und entsprechender Einwilligung wurden folgende Untersuchungen im Rahmen der Diagnostik durchgeführt: klinische Untersuchung, 12-Kanal-Elektrokardiogramm, laborchemische Untersuchungen, invasive Diagnostik mittels Koronarangiographie und eventuell Behandlung mittels Koronarangioplastie, Untersuchung von Serumproben mittels ELISA zur Bestimmung der Erythropoetin-Konzentration.

#### **3.4.1 Elektrokardiographie**

Es wurden bei allen Patienten 12-Kanal-Standard-EKG's abgeleitet, die sich aus den sechs Brustwandableitungen nach Wilson (V1-V6) und den sechs Extremitätenableitungen nach Einthoven und Goldberger (I, II, III, aVR, aVL, aVF) zusammensetzten. Der Papiervorschub bei der Registrierung der EKG's betrug 25 mm/sec. Die Elektrokardiogramme lieferten sehr wichtige Daten hinsichtlich der Diagnose eines akuten Myokardinfarktes (z.B. ST-Streckenhebungs- oder Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt).

#### **3.4.2 Laborchemische Untersuchungen**

Während des stationären Aufenthaltes wurden bei den eingeschlossenen Patienten routinemäßig Blutproben entnommen. Die durchgeführte Untersuchungen beinhalteten eine umfangreiche Labordiagnostik im Rahmen der Primärdiagnostik der akuten Myokardischämie: Blutbild, Gerinnungsdiagnostik, Nierenretentionsparameter, Enzyme, zahlreiche Substrate wie CK, CKMB, Troponin-T und Proteine wie zum Beispiel Albumin und CRP.

#### **3.4.3 Koronarangiographie/-plastie**

Zur invasiven Diagnostik wurde ein elastischer und strahlendichter Katheter unter röntgenologischer Lagekontrolle sowie laufendem EKG über eine peripherer Arterie in Seldinger-Technik durchgeführt. Zunächst wurden die

Koronararterien selektiv sondiert. Durch die Applikation kleiner Dosen von Kontrastmittel in die Mündungen der Koronararterien konnte die Kontrastmittelpassage durch den Koronarbaum unter Durchleuchtung untersucht werden und lieferte Befunde bezüglich der Durchgängigkeit und des Lumens der Koronararterien. Danach wurde ein sogenannter Pigtail-Katheter in die linke Herzkammer vorgeschoben und mittels Kontrastmittel-Applikation die enddiastolische und endsystolische Diameter des linken Ventrikels bestimmt. Bei allen teilnehmenden Patienten der AMI- und AP-Gruppen wurde eine koronare Herzkrankheit als Ursache der Angina pectoris Symptomatik festgestellt. Bei allen Patienten mit akutem Myokardinfarkt wurde anschließend eine Koronarangioplastie (Ballondilatation und Stentimplantation) durchgeführt.

#### **3.4.4 ELISA zur Bestimmung des Erythropoetin-Serumspiegels**

Bei allen Probanden wurden zusätzlich Blutproben von jeweils 9 ml an prä-definierten Zeitpunkten abgenommen. Diese waren:

- Probe-1 = 1 - 2 Tage nach dem akuten Ereignis
- Probe-2 = 3 - 5 Tage nach dem akuten Ereignis
- Probe-3 = 5 - 9 Tage nach dem akuten Ereignis

Direkt nach den Blutabnahmen erfolgte eine Teil-Anonymisierung der Blutproben.

Alle Proben wurden 10 Minuten lang bei 4,000 rpm zentrifugiert. Anschließend wurde das Serum abpipettiert, im flüssigen Stickstoff schock-eingefroren und danach bei einer Temperatur von  $-80^{\circ}\text{C}$  gelagert.

Die EPO-Konzentrationen im Serum der Probanden wurden mittels ELISA (enzyme labeled immunosorbent assay; EPO kit, Medac<sup>®</sup>, Germany) bestimmt. In dem EPO-ELISA-Kit wurden zwei monoklonale Antikörper zur Bestimmung der Erythropoetinspiegel im Serum eingesetzt. Ein Antikörper war auf der Mikrotiterplatte fixiert und bindete im ersten Reaktionsschritt das im Serum vorliegende Erythropoetin. Im zweiten Reaktionsschritt wurde der mit

alkalischer Phosphatase konjugierte Antikörper gebunden. Die Phosphataseaktivität des gebundenen Konjugats modifiziert das Substrat p-Nitrophenylphosphat zu einer intensiv gelb gefärbten p-Nitrophenol-Lösung. Die Extinktion folgte dem Lambert-Beer'schen-Gesetz. Die Standardkurve des verwendeten EPO-ELISA-Kits ist bis 80 mU/ml linear und ist substandardisiert gegen „3-rd International Standard for EPO, rDNA derived (41-st Meeting of the WHO ECBS, Okt. 1990)“. Etwaige im Patientenserum vorliegende Human-Anti-Maus-Antikörper (HAMA) führen in diesem ELISA-Kit nicht zu falsch positiven Resultaten. Nach Vorbereitung der notwendigen Reagenzien: Waschpuffer, Kontrollserum, Konjugatlösung und Substratlösung, wurden schließlich die Blutproben vorbereitet.

#### Arbeitsvorgang:

- 1) Auflösung des Kontrollserums.
- 2) Herstellung des Waschpuffers.
- 3) Öffnen der Mikrotiterplatte.
- 4) Pipettieren von je 50 µl der Standards mit Doppelbestimmung.
- 5) Pipettieren von je 25 µl Probenverdünnungspuffer und je 25 µl Probe pro Vertiefung der Mikrotiterplatte mit Doppelbestimmung.
- 6) Inkubieren der Mikrotiterplatte für 1 Stunde bei 37°C in einer feuchten Kammer.
- 7) Nach Inkubationsende 3 mal waschen der Mikrotiterplatte mit 300 µl Waschpuffer pro Vertiefung. Nach jedem Waschgang inkubieren der Mikrotiterplatte für 1 Minute und ausklopfen auf Fliesspapier.
- 8) Pipettieren von je 50 µl des bereits verdünnten Konjugats in jede Vertiefung.
- 9) Inkubieren der Mikrotiterplatte für 1 Stunde bei 37°C in einer feuchten Kammer.
- 10) Nach Inkubationsende 4 mal waschen der Mikrotiterplatte mit 300 µl Waschpuffer pro Vertiefung. Nach jedem Waschgang inkubieren der Mikrotiterplatte für 1 Minute und ausklopfen auf Fliesspapier.
- 11) Pipettieren von je 50 µl der Substratlösung in jede Vertiefung und Inkubieren der Mikrotiterplatte bei 37°C in einer feuchten Kammer.
- 12) Die enzymatische Reaktion wurde nach 30 Minuten mit 50 µl 3N NaOH-Lösung je Vertiefung gestoppt.

Als Ergebnis der Enzym-Substrat-Reaktion entsteht das gelbe Endprodukt Nitrophenol, dessen Extinktion photometrisch bestimmt wird. Nach 30 Minuten Substratinkubation erfaßt man in der Regel den EPO-Konzentrationsbereich 2,5-160 mIU/ml.

- 13) Photometrische Auswertung bei 405 nm (Referenzwellenlänge: 620 nm).
- 14) Ermittlung der Standardkurve: die Mittelwerte der einzelnen Extinktionen je Standard wurden berechnet und der unspezifische Hintergrund wurde subtrahiert.

Die Extinktionswerte der einzelnen Standards wurden gegen die EPO-Konzentration aufgetragen. Über eine lineare Regression wurde eine Gerade ermittelt. Die Extinktionswerte der Doppelbestimmungen wurden berechnet. Die EPO-Konzentration wurde von der Standardkurve abgelesen und mit dem Verdünnungsfaktor (Faktor 2) multipliziert. Die EPO-Konzentration wurde in mIU/ml angegeben.

## **4 ERGEBNISSE**

Die in der Literatur beschriebenen EPO-Konzentrationen im Serum bei Gesunden Probanden differieren in Abhängigkeit vom eingesetzten Testsystem. Für das verwendende Kitsystem (Medac®) wurde ein EPO-Serumspiegel mit einem Medianwert von 7,3 mIU/ml bestimmt.

### **4.1 AMI-Gruppe**

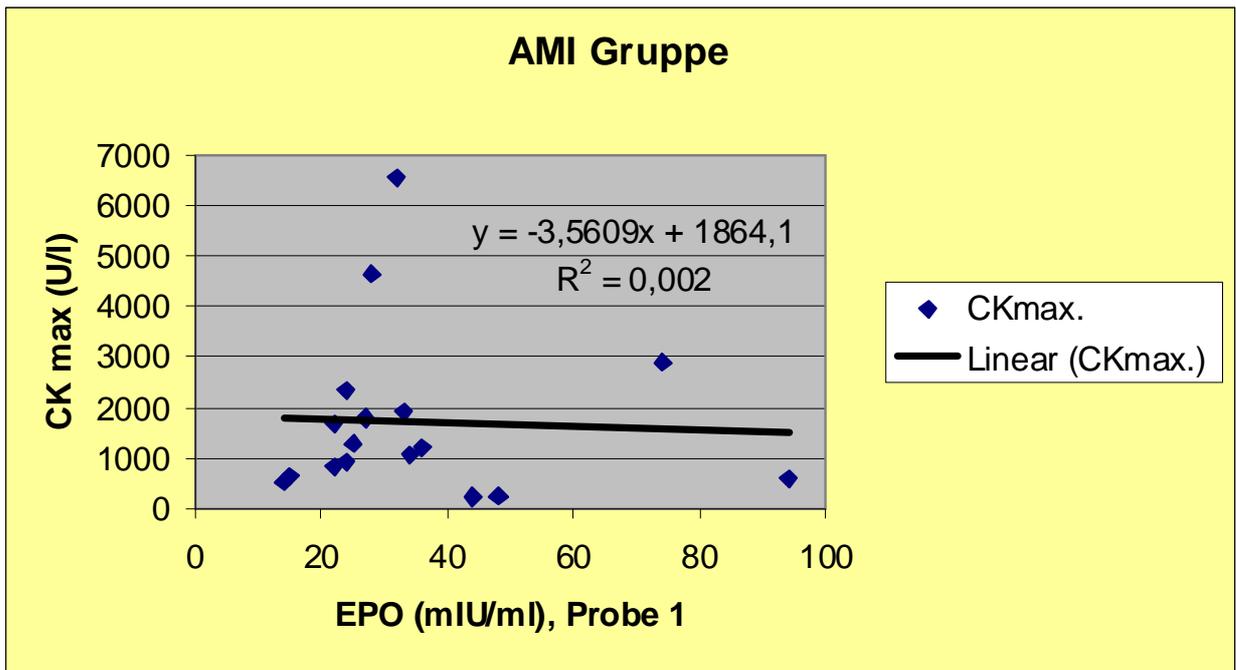
Bei der Bestimmung der EPO-Serumspiegel in der Gruppe mit dem akuten Myokardinfarkt (AMI-Gruppe) zeigte sich bei der Probe-1 ein EPO-Medianwert von 28,0 mIU/ml bei Werten zwischen 14 und 94 mIU/ml. Bei der Probe-2 wurde ein EPO-Medianwert von ebenfalls 28,0 mIU/ml bestimmt bei Werten zwischen 13 und 66 mIU/ml und bei der Probe-3 ein EPO-Medianwert von 24 mIU/ml bei Werten zwischen 12 und 66 mIU/ml. In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse der Bestimmung der EPO-Serumspiegel in der AMI-Gruppe an den drei prädefinierten Zeitpunkten gezeigt:

**Tab. 4.** EPO-Serumspiegel in der **AMI-Gruppe**.

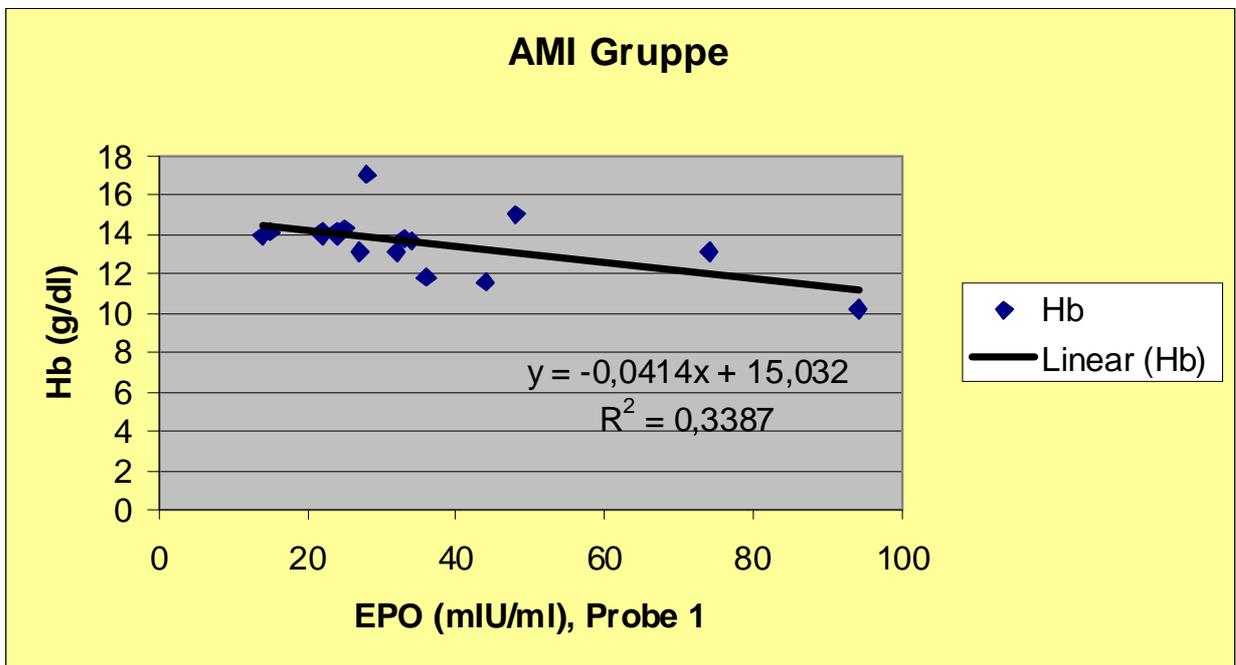
Patient	Alter	Geschlecht	EPO-Spiegel (mIU/ml)			Ckmax (U/l)	Hb (g/dl)
			Probe 1	Probe 2	Probe 3		
P-01	60	M	44	36	34	246	11,6
P-02	27	M	34	22	28	1088	13,7
P-03	61	M	36	42	18	1216	11,8
P-04	74	W	27	38	30	1797	13,1
P-05	51	M	14	13	12	540	13,9
P-06	63	W	24	25	22	2350	13,9
P-07	62	M	33	44	36	1929	13,8
P-08	57	M	28	28	29	4644	17,0
P-09	51	M	32	32	56	6549	13,1
P-10	68	M	48	31	22	254	15,0
P-11	34	M	74	66	66	2898	13,1
P-12	67	M	25	24	24	1303	14,3
P-13	77	W	24	18	18	944	14,2
P-14	78	W	94	48	50	605	10,2
P-15	65	M	22	18	14	1700	13,9
P-16	64	M	15	18	14	650	14,1
P-17	68	M	22	18	20	854	14,2
Medianwert			28,00	28,00	24,00		
Std. Deviation			20,76	13,81	15,41		

Bei den dokumentierten Creatinkinase-Maximumwerte (CKmax) und Hämoglobin-Werte (Hb) der Patienten in der AMI-Gruppe zeigte sich kein statistischer Zusammenhang zwischen der Höhe dieser Werte und des EPO-Spiegels bei der Probe-1.

In den folgenden Abbildungen, Abb. 3 und Abb. 4, werden diese Werte in Korrelation zum EPO-Spiegel dargestellt.



**Abb. 3:** CK-Werte in Korrelation zum EPO-Spiegel bei den Patienten der AMI-Gruppe in den ersten 2 Tagen nach dem akuten Ereignis (Probe 1). Es zeigte sich keine statistische Relevanz hinsichtlich Korrelation.



**Abb. 4:** Hb-Werte in Korrelation zum EPO-Spiegel bei den Patienten der AMI-Gruppe in den ersten 2 Tagen nach dem akuten Ereignis (Probe 1). Es zeigte sich keine statistische Relevanz hinsichtlich Korrelation.

## 4.2 AP-Gruppe

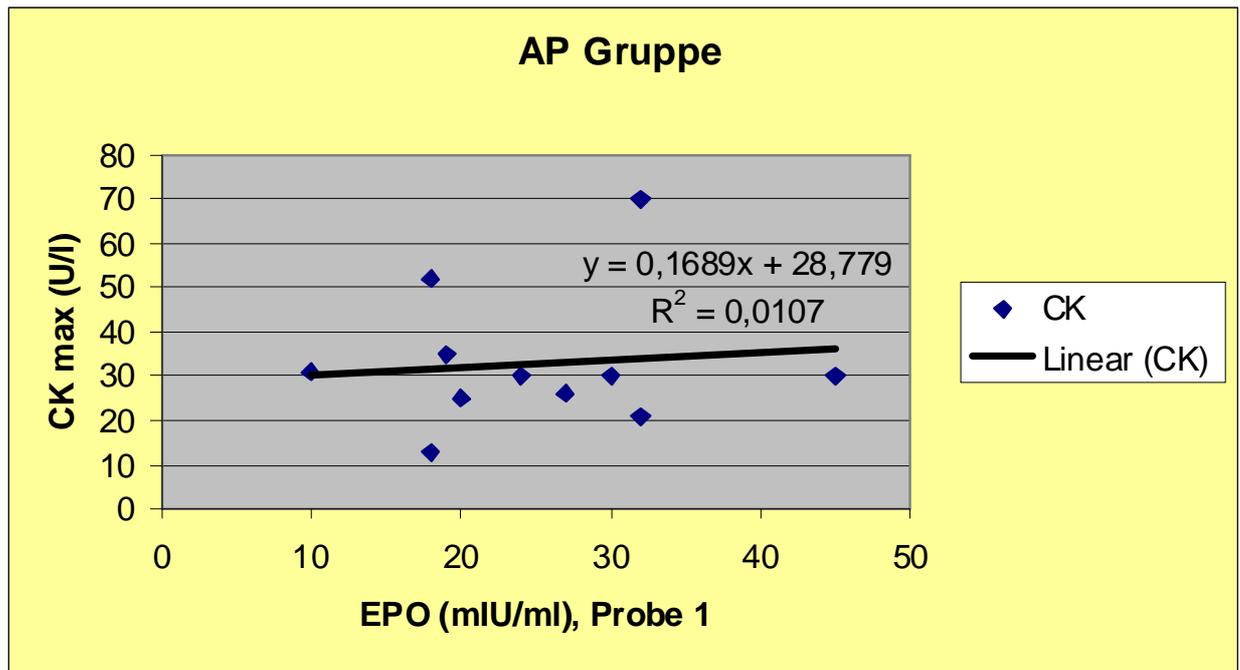
Bei der Bestimmung der EPO-Serumspiegel in der Gruppe mit instabiler Angina pectoris (AP-Gruppe) zeigte sich bei der Probe-1 ein EPO-Medianwert von 24,0 mIU/ml bei Werten zwischen 10 und 45 mIU/ml. Bei der Probe-2 wurde ein EPO-Medianwert von 23,0 mIU/ml bei Werten zwischen 12 und 32 mIU/ml bestimmt und bei der Probe-3 ein EPO-Medianwert von 22,0 mIU/ml bei Werten zwischen 15 und 52 mIU/ml. In der folgenden Tabelle werden die Ergebnisse der Bestimmung der EPO-Serumspiegel in der AP-Gruppe an den drei prädefinierten Zeitpunkten gezeigt:

**Tab. 5.** EPO-Serumspiegel in der **AP-Gruppe**.

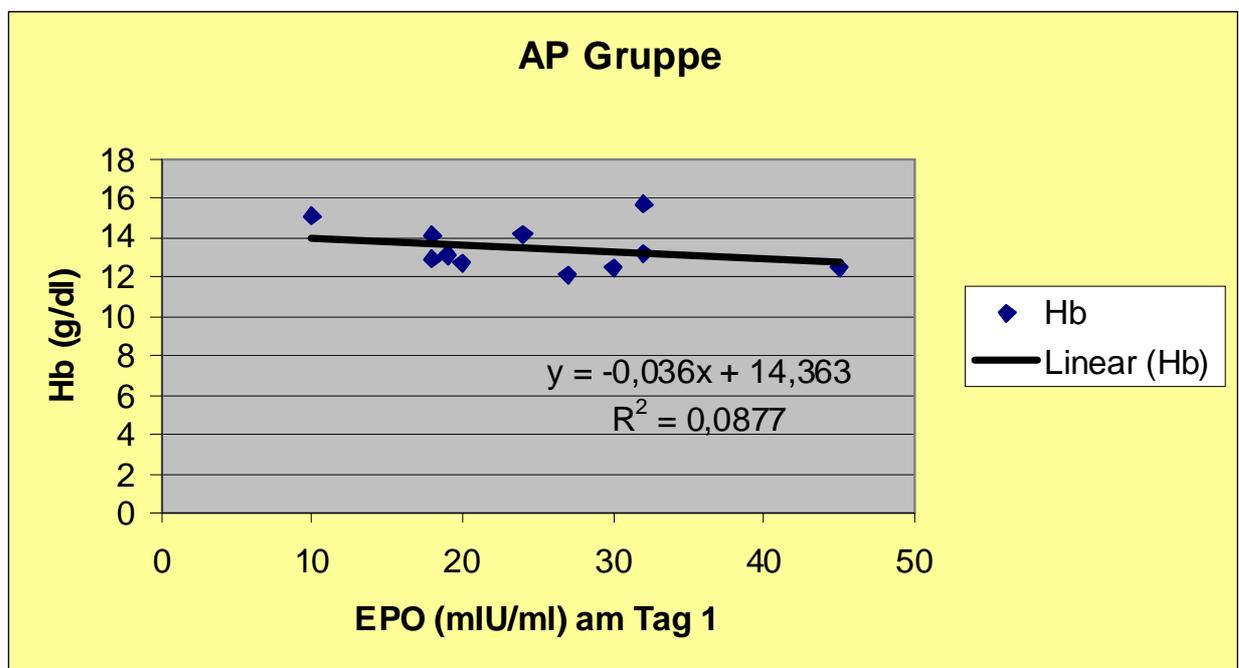
Patient	Alter	Geschlecht	EPO-Spiegel (mIU/ml)			CK (U/l)	Hb (g/dl)
			Probe 1	Probe 2	Probe 3		
P-01	76	M	18	15	15	52	12,9
P-02	74	W	19	18	20	35	13,1
P-03	69	M	45	22	22	30	12,5
P-04	72	W	10	12	16	31	15,1
P-05	72	M	20	23	18	25	12,7
P-06	61	M	32	30	28	70	15,7
P-07	73	M	18	19	16	13	14,1
P-08	77	W	30	31	35	30	12,5
P-09	64	M	32	32	28	21	13,2
P-10	71	M	24	27	52	30	14,2
P-11	68	W	27	28	27	26	12,1
Medianwert			24,00	23,00	22,00		
Std.Deviation			9,55	6,78	10,93		

Auch in der AP-Gruppe zeigte sich kein statistischer Zusammenhang zwischen der Höhe des EPO-Spiegels und der Höhe der Creatinkinase-Werte (CK) beziehungsweise der Hämoglobinwerte (Hb).

In den folgenden Abbildungen, Abb. 5 und Abb. 6, werden die CK-Werte, beziehungsweise Hb-Werte in Korrelation zum EPO-Spiegel dargestellt.



**Abb. 5:** CK-Werte in Korrelation zum EPO-Spiegel bei den Patienten der AP-Gruppe in den ersten 2 Tagen nach dem akuten Ereignis (Probe 1). Es zeigte sich keine statistische Relevanz hinsichtlich Korrelation.



**Abb. 6:** Hb-Werte in Korrelation zum EPO-Spiegel bei den Patienten der AP-Gruppe in den ersten 2 Tagen nach dem akuten Ereignis (Probe 1). Es zeigte sich keine statistische Relevanz hinsichtlich Korrelation.

### **4.3 Kontroll-Gruppen**

Da die EPO-Konzentration im Serum durch äußere regionale Bedingungen beeinflusst werden können, wurde diese bei 18 gesunden Probanden (Kontrolle-1) aus unserer Region auch untersucht, um einen regionspezifischen Referenzbereich zu ermitteln. Bei den gesunden Probanden wurde nur eine einmalige Bestimmung des EPO-Serumspiegels durchgeführt, da es angenommen wurde, dass dieser konstant bleibt oder eventuell nur geringfügige beziehungsweise nicht relevante Fluktuationen aufweist.

Um einen Einfluss der invasiven Diagnostikmethode (Koronarangiographie) auf die ermittelten EPO-Serumwerte auszuschliessen, wurde der EPO-Serumspiegel bei 10 Patienten (Kontrolle-2) mit instabiler Angina pectoris und angiographischem Ausschluss einer koronaren Herzkrankheit bestimmt.

#### **Kontrolle-1**

Bei der Bestimmung des EPO-Serumspiegels in dieser Kontroll-Gruppe zeigte sich ein EPO-Medianwert von 17,0 mIU/ml bei Werten zwischen 13 und 30 mIU/ml. In der Tabelle Tab. 6 werden die Ergebnisse der Bestimmung des EPO-Serumspiegels in der Gruppe Kontrolle-1 dargestellt.

#### **Kontrolle-2**

Bei der Bestimmung des EPO-Serumspiegels in dieser Kontroll-Gruppe zeigte sich ein EPO-Medianwert von 16,5 mIU/ml bei Werten zwischen 14 und 21 mIU/ml. In der Tabelle Tab. 7 werden die Ergebnisse der Bestimmung des EPO-Serumspiegels in der Gruppe Kontrolle-2 dargestellt.

**Tab. 6.** EPO-Serumspiegel in der **Gruppe Kontrolle-1** (gesunde Probanden).

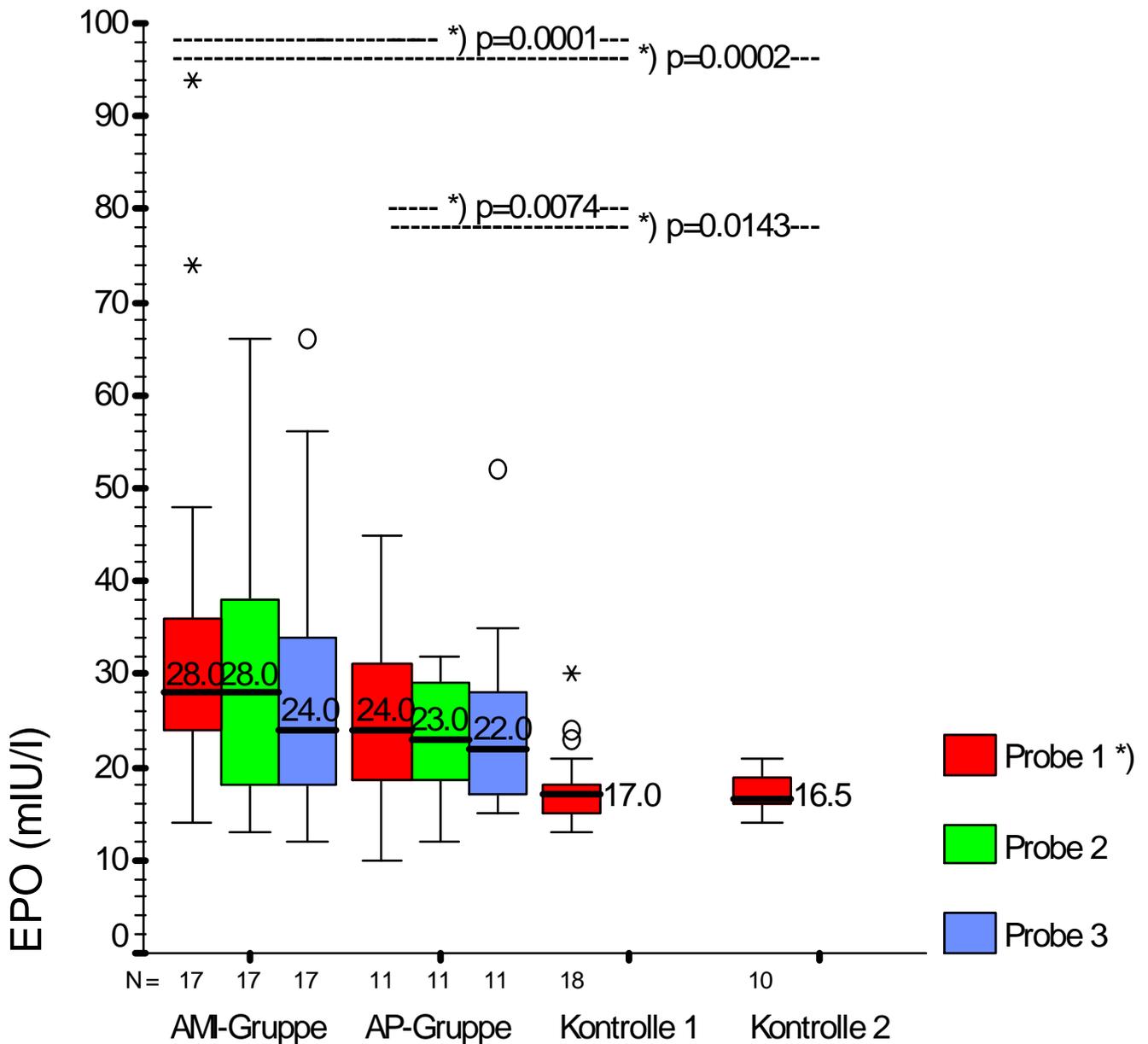
<b>Probanden</b>	<b>EPO-Spiegel (mIU/ml)</b>
P-01	15
P-02	15
P-03	17
P-04	13
P-05	18
P-06	18
P-07	21
P-08	16
P-09	18
P-10	14
P-11	18
P-12	14
P-13	24
P-14	13
P-15	23
P-16	30
P-17	17
P-18	17
Medianwert	17,00
Std. Deviation	4,34

**Tab. 7.** EPO-Serumspiegel in der **Gruppe Kontrolle-2** (instabile Angina pectoris mit angiographischem Ausschluss einer KHK).

<b>Patienten</b>	<b>EPO-Spiegel (mIU/ml)</b>
Pa.-01	16
Pa.-02	16
Pa.-03	20
Pa.-04	14
Pa.-05	18
Pa.-06	19
Pa.-07	16
Pa.-08	17
Pa.-09	21
Pa.-10	14
Medianwert	16,5
Std. Deviation	2,37

#### 4.4 Statistischer Vergleich zwischen den Gruppen

Die Ergebnisse der Bestimmung der EPO-Serumspiegel in den vier Gruppen werden in der folgenden Box-Plot-Grafik (Abb. 7) dargestellt:



**Abb. 7:** Box-Plot-Grafik mit dem EPO-Serumspiegel in der AMI-Gruppe und in der AP-Gruppe an den 3 prädefinierten Zeitpunkten (Probe-1 = Tag 1-2, Probe-2 = Tag 3-5, Probe-3 = Tag 5-9) nach dem akuten Ereignis. Bei den Kontrollgruppen, Kontrolle-1 und Kontrolle-2, erfolgte lediglich eine Bestimmung. Die Zahlen in den Balken repräsentieren den jeweiligen EPO-Medianwert.

Bei den Patienten in der AMI-Gruppe war der Medianwert des EPO-Serumspiegels bei der Probe 1 (Tag 1-2) gegenüber den gesunden Probanden (Kontrolle-1) um den Faktor 1,65 ( $p = 0,0001$ ) und gegenüber den Patienten mit instabiler Angina pectoris und angiographischem Ausschluss einer KHK (Kontrolle-2) um den Faktor 1,7 ( $p = 0,0002$ ) statistisch signifikant erhöht und nahm danach ab dem fünften Tag nach dem akuten Ereignis geringfügig ab. Dieser Abfall war statistisch nicht relevant.

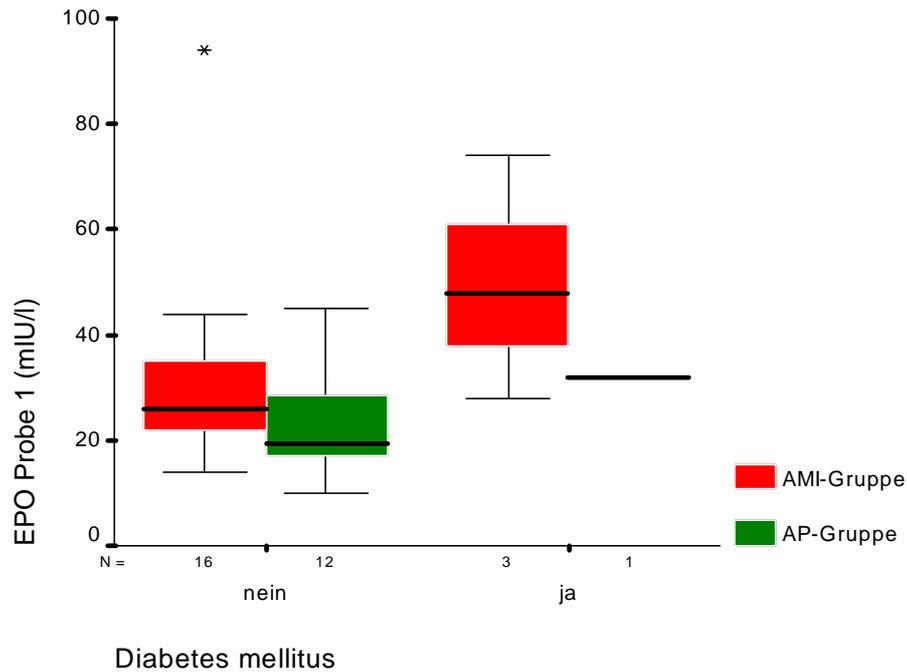
Bei den Patienten in der AP-Gruppe war der Medianwert des EPO-Serumspiegels bei der Probe 1 (Tag 1-2) gegenüber der ersten Kontrollgruppe (Kontrolle-1) um den Faktor 1,41 ( $p = 0,0074$ ) und gegenüber der zweiten Kontrollgruppe (Kontrolle-2) um den Faktor 1,45 ( $p = 0,0143$ ) ebenfalls statistisch signifikant erhöht. Im Verlauf blieb der EPO-Serumspiegel relativ konstant mit einer leicht abfallenden Tendenz.

Der EPO-Serumspiegel war in der AMI-Gruppe höher als in der AP-Gruppe, jedoch ohne statistische Relevanz (AMI-Probe-1 vs AP-Probe-1,  $p = 0,150$ ; AMI-Proben 1-3 vs AP-Proben 1-3,  $p = 0,357$ ).

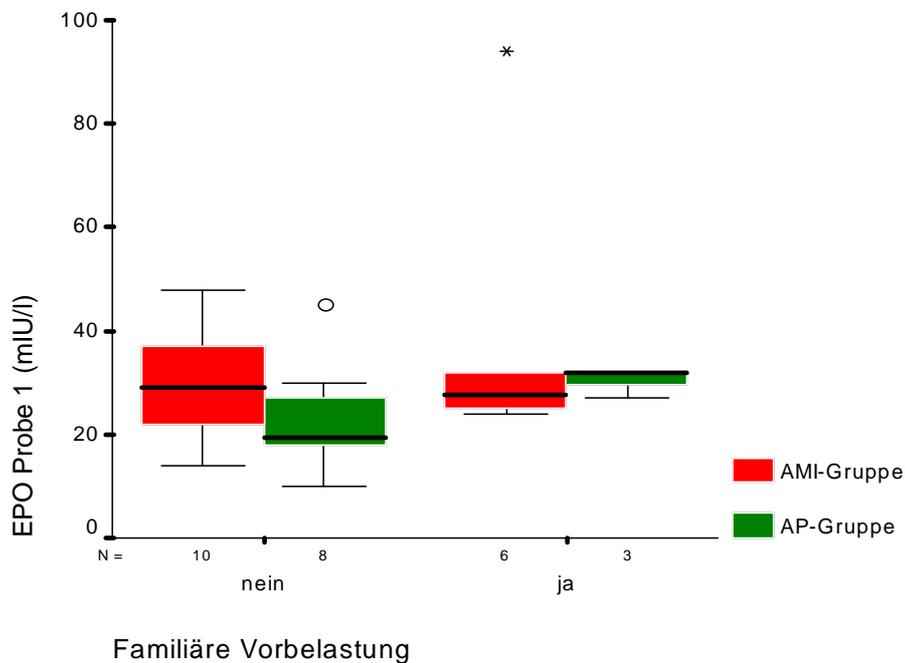
#### **4.5 Korrelation von Risikofaktoren und EPO-Serumspiegel**

Ein signifikanter Einfluss der dokumentierten kardiovaskulären Risikofaktoren: Diabetes mellitus, familiäre Vorbelastung, Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie und Nikotinkonsum auf den in dieser Arbeit bestimmten EPO-Serumspiegel in den AMI- und AP-Gruppen ergab sich nicht.

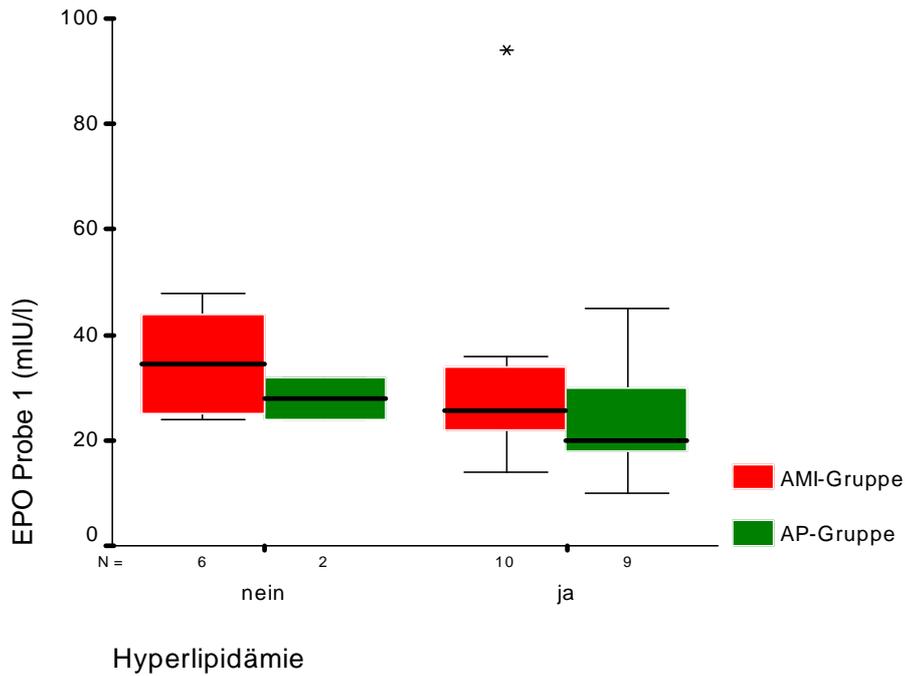
In den folgenden Box-Plot-Grafiken werden die Ergebnisse dargestellt:



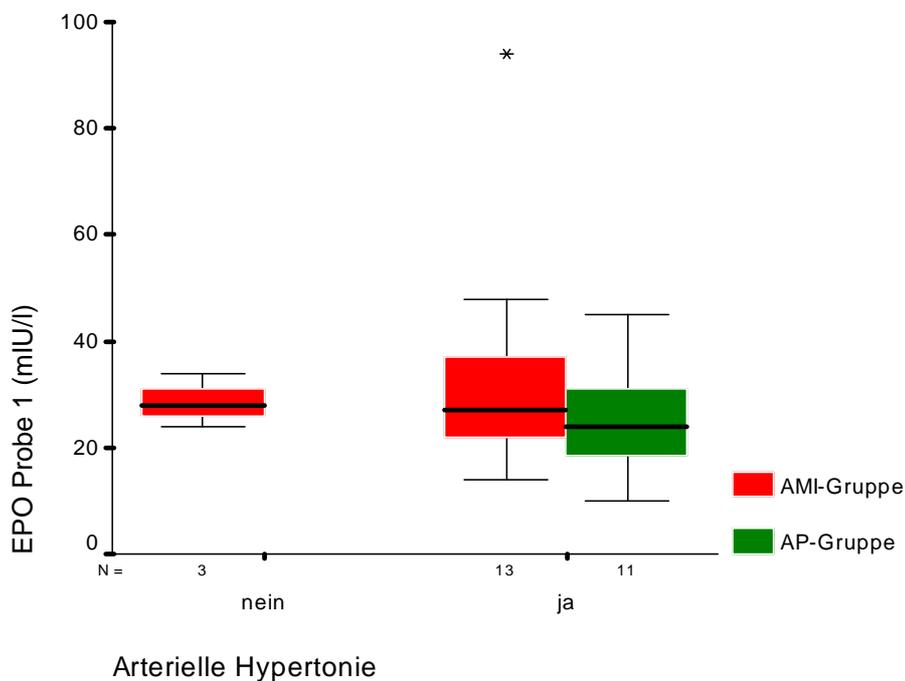
**Abb. 8:** Box-Plot-Grafik mit dem EPO-Spiegel bei der Probe 1 in der AMI- und in der AP-Gruppe in Korrelation zum *Diabetes mellitus*. Es zeigte sich keine statistische Relevanz.



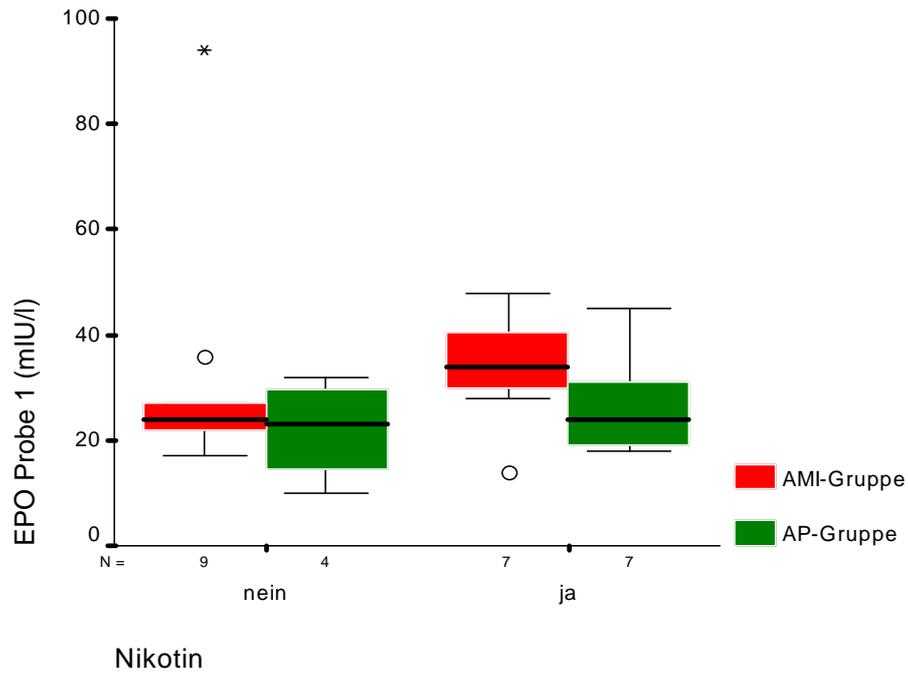
**Abb. 9:** Box-Plot-Grafik mit dem EPO-Spiegel bei der Probe 1 in der AMI- und in der AP-Gruppe in Korrelation zur *familiären Vorbelastung*. Es zeigte sich keine statistische Relevanz.



**Abb. 10:** Box-Plot-Grafik mit dem EPO-Spiegel bei der Probe 1 in der AMI- und in der AP-Gruppe in Korrelation zur **Hyperlipidämie**. Es zeigte sich keine statistische Relevanz.



**Abb. 11:** Box-Plot-Grafik mit dem EPO-Spiegel bei der Probe 1 in der AMI- und in der AP-Gruppe in Korrelation zur **art. Hypertonie**. Es zeigte sich keine statistische Relevanz.



**Abb. 12:** Box-Plot-Grafik mit dem EPO-Spiegel bei der Probe 1 in der AMI- und in der AP-Gruppe in Korrelation zum *Nikotinkonsum*. Es zeigte sich keine statistische Relevanz.

## 5 DISKUSSION

In dieser Studie konnte festgestellt werden, dass die Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt (AMI-Gruppe) und die Patienten mit instabiler Angina pectoris (AP-Gruppe) einen *signifikant erhöhten EPO-Serumspiegel* sowohl gegenüber den gesunden Probanden (AMI vs Kontrolle-1,  $p = 0,0001$ ; AP vs Kontrolle-1,  $p = 0,0074$ ) als auch gegenüber den Patienten mit instabiler Angina pectoris und angiographischem Ausschluss einer koronaren Herzkrankheit aufwiesen (AMI vs Kontrolle-2,  $p = 0,0002$ ; AP vs Kontrolle-2,  $p = 0,0143$ ). Der EPO-Serumspiegel bei den Patienten in der AMI-Gruppe war nicht signifikant erhöht gegenüber den Patienten in der AP-Gruppe (AMI vs AP,  $p = 0,150$ )

Bei den Patienten in den Kontroll-Gruppen wurde ein nahezu identischer EPO-Medianwert bestimmt (Kontrolle-1 = 17 mIU/ml, Kontrolle-2 = 16,5 mIU/ml;  $p = 0,953$ ), so dass eine Erhöhung des EPO-Serumspiegels sowohl aufgrund einer extrakardialen Angina pectoris Symptomatik als auch aufgrund der invasiven Untersuchungsmethode (Koronarangiographie) ausgeschlossen sein dürfte. Diese EPO-Medianwerte sind deutlich höher als der im verwendeten ELISA-Kit (Medac®) angegebene EPO-Medianwert von 7,3 mIU/ml. Faktoren die den EPO-Serumspiegel beeinflussen können, sind unter anderem die Region, aus der die Probanden stammen und der Zeitpunkt der Blutabnahme. Es sind zirkadiane Schwankungen der endogenen EPO-Konzentration mit einem nächtlichen Maximum und einem morgendlichen Minimum beschrieben worden (Cotes 1989, Wide et al. 1989). Um solche Schwankungen zu meiden, wurden die Blutproben bei allen Patienten und Probanden vormittags abgenommen. In der Literatur bewegen sich die immunologisch bestimmten Werte im allgemeinen von 6 bis 25 mIU/ml (Wide et al. 1989). Eine Geschlechtsabhängigkeit oder Altersabhängigkeit der EPO-Konzentration liegt laut verschiedenen Autoren nicht vor (Cotes 1989, Jelkmann und Wiedemann 1990, Miller et al. 1985).

Die in dieser Arbeit erhobenen Ergebnisse sprechen dafür, dass im Rahmen einer akuten Myokardischämie, sowohl bei einem akuten Myokardinfarkt als

auch bei einer instabilen Angina pectoris, eine erhöhte EPO-Produktion beziehungsweise -Ausschüttung hervorgerufen wird. Diese Beobachtung könnte man im Rahmen einer Aktivierung von körpereigenen Regenerationsmechanismen interpretieren. Diese Mechanismen beinhalten nach Schächinger et al. (2004), unter anderem die Freisetzung von Botenstoffen in die Blutbahn, wie zum Beispiel VEGF oder EPO, die dann im Knochenmark Progenitorzellen mobilisieren. Theoretisch werden diese Zellen dann im ischämischen Gewebe aus dem Blut extrahiert, um zur Neubildung von Blutgefäßen oder Regeneration des Parenchyms beizutragen. Das ischämische Gewebe, in diesem Fall das Myokard, exprimiert dabei Rezeptoren und bildet Botenstoffe, welche die Adhäsion, das Einwandern und das Differenzieren dieser Progenitorzellen steuern können. Die Differenzierung in bestimmte Parenchymzellen erfolgt dann vermutlich durch Zell-Zell-Kontakt mit den vor Ort vorhandenen bereits differenzierten Zellen, ein so genannter „homing effect“ (Schächinger et al. 2004).

In der AMI-Gruppe zeigte sich ein *Maximum des EPO-Medianwertes* (28,0 mIU/ml) bereits in den ersten 2 Tagen nach dem akuten Ischämieereignis. Dieser Wert blieb in den ersten 5 Tagen unverändert und fiel danach ab (24 mIU/ml). Sehr ähnlich war der Verlauf auch in der AP-Gruppe mit einem Maximum des EPO-Medianwertes in den ersten 2 Tagen (24 mIU/ml) und einem kontinuierlichen, jedoch nur geringfügigen Abfall auf 23 mIU/ml nach 3 bis 5 Tagen und schließlich auf 22 mIU/ml nach 5 bis 9 Tagen. In beiden Gruppen war der beobachtete Abfall des EPO-Serumspiegels statistisch nicht relevant ( $p = 0,357$ ). Da die Patientenzahl in den zwei untersuchten Gruppen relativ klein war, wäre es vorstellbar, dass die hier erkannte abfallende Tendenz des EPO-Serumspiegels sich bei grösseren Patienten-Gruppen als statistisch signifikant erweist. Das hier festgestellte Maximum des EPO-Serumpiegels in den AMI- und AP-Gruppen in den ersten 2 Tagen nach dem akuten Ereignis bestätigt frühere Beobachtungen bezüglich des zeitlichen Verlaufs der EPO-Bildung, wie zum Beispiel bei Sauerstoff-Mangel ( $O_2$ ). Bei einem akuten Blutverlust oder einem Abfall des partiellen arteriellen  $O_2$ -Druckes nimmt die EPO-Aktivität innerhalb weniger Stunden zu und erreicht nach 1 bis 3 Tagen ein

Maximum (Cotes 1989). Auch in der Arbeit von Ferrario et al. (2007) wurde bei 50 Patienten mit akutem Myokardinfarkt ein Maximum des EPO-Serumsspiegels 24 Stunden nach dem akuten Ereignis festgestellt.

Im Jahre 2000 wurde eine Arbeit von Kranz et al. (2000) veröffentlicht, in der gezeigt wurde, dass der Serumspiegel einer anderen angiogenetisch wirksamen Substanz, nämlich des VEGF-A, nach einem akuten Myokardinfarkt erhöht ist. Im Serum der Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt zeigte sich am Tag 1 ein VEGF-Medianwert von 105 pg/ml, am Tag 3 113 pg/ml, am Tag 7 189 pg/ml und am Tag 10 ein Maximum von 255 pg/ml. In der Gruppe mit instabiler Angina pectoris zeigte sich ein Medianwert von 116 pg/ml und in der Kontroll-Gruppe 98 pg/ml. Der Anstieg des VEGF-Spiegels im Serum wurde als statistisch signifikant bezeichnet.

In beiden Fällen, sowohl des VEGF-A als auch des EPO, konnte ein erhöhter Serumspiegel nach einem akuten Myokardinfarkt nachgewiesen werden. Im Gegensatz aber zu den Ergebnissen von Kranz et al., zeigte sich im Falle des EPO ein Maximum des Serumspiegels gleich in den ersten 2 Tagen mit einem verzögerten Abfall des Spiegels 5 bis 9 Tage nach dem akuten Ereignis. Der Grund für diesen Unterschied im zeitlichen Verlauf des Serumspiegels der beiden Substanzen ist unklar. Im Falle des EPO konnte in der vorliegenden Studie zusätzlich gezeigt werden, dass auch bei den Patienten mit einer instabilen Angina pectoris der EPO-Serumspiegel signifikant erhöht war gegenüber den Kontrollgruppen.

In der im Jahre 2007 publizierten Arbeit von Ferrario et al. (2007) wurden sowohl der EPO- als auch der VEGF-Serumspiegel bei 50 Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt am Zeitpunkt der Krankenhausaufnahme, nach 24 Stunden und nach 7 Tagen bestimmt. Der EPO-Spiegel war bereits bei der Aufnahme signifikant erhöht gegenüber den Kontroll-Patienten ( $p = 0,04$ ) und erreichte ein Maximum nach 24 Stunden ( $p = 0,00001$ ). Am 7. Tag zeigte sich ein Abfall des EPO-Spiegels bei weiterhin signifikant erhöhten Werten ( $p = 0,001$ ). Im Falle des VEGF-Spiegels konnte keine signifikante Erhöhung in den ersten 7 Tagen nach dem akuten Ereignis nachgewiesen werden.

Ein Einfluss der klassischen *kardiovaskulären Risikofaktoren* auf die EPO-Serumspiegel konnte in der vorliegenden Studie nicht festgestellt werden. Allerdings waren die Patientenkollektive dafür relativ klein.

Weder in der AMI-Gruppe noch in der AP-Gruppe konnte eine Korrelation zwischen den dokumentierten Werten für *Kreatinkinase (CK)* oder für *Hämoglobin (Hb)* und der Höhe des EPO-Serumspiegels in den ersten 2 Tagen nach dem akuten Ereignis festgestellt werden. Auch in der Arbeit von Ferrario et al. (2007) war der Anstieg des EPO-Serumspiegels in den ersten 24 Stunden unabhängig von den CK- beziehungsweise den Hb-Werten. Das deutet darauf hin, dass das Ausmass der Herzmuskelschädigung eine untergeordnete Rolle bei der Stimulation der EPO-Produktion beziehungsweise -Ausschüttung spielt. Es wären weitere Studien mit größeren Patientenzahlen notwendig um den Mechanismus und die entsprechenden stimulierenden Faktoren der EPO-Stimulation im Rahmen einer Myokardischämie erklären zu können.

Bezüglich des *therapeutischen Potentials des EPO* als zusätzliche Maßnahme bei Patienten mit einer akuten oder eventuell auch chronischen Myokardischämie gibt es diverse Hinweise aus dem Bereich der Tierexperimente. In verschiedenen Experimenten sowohl bei Kleintieren (Calvillo et al. 2003, Moon et al. 2003, Parsa et al. 2003) als auch bei Großtieren (Krause et al. 2006) wurde bereits ein kardioprotektiver Effekt von EPO nachgewiesen.

Im Falle des Herzmuskels, galt bis vor kurzem das Dogma, dass das Herz keine regenerative Kapazität besitzt, da adulte Kardiomyozyten terminal differenziert sind und ihre Erneuerungskapazität verloren haben. Als einzige Antwort des Myokards auf einen erhöhten Funktionsbedarf galt die Hypertrophie der Kardiomyozyten. Diese klassische Sichtweise trifft jedoch nicht zu, wie sich in den letzten Jahren herausgestellt hat. Hinweise darauf lieferten Befunde bei Patienten nach einer Herztransplantation – und zwar bei männlichen Empfängern, die ein weibliches Spenderherz erhielten (Quaini et al. 2002). Interessanterweise fanden sich hier in Myokardbiopsien Zellen, die ein Y-Chromosom enthielten. Demnach scheinen nicht kardiale (also nicht vom

Spenderherzen stammende) Zellen in das transplantierte Herz eingewandert zu sein. Y-Chromosomen fanden sich sowohl in Kardiomyozyten als auch in Endothelzellen der Gefäßstrukturen, somit scheinen diese eingewanderten Zellen an der Regeneration des Myokards und der Gefäßneubildung beteiligt zu sein. Als Quelle dieser regenerierenden Zellen kommt dabei das Knochenmark in Frage. Neuere experimentelle Untersuchungen weisen darauf hin, dass die Plastizität von Stammzellen aus dem Knochenmark wesentlich größer ist als bisher angenommen wurde. Bislang galt, dass adulte Stammzellen aus dem Knochenmark - im Gegensatz zu embryonalen Stammzellen - auf bestimmte Zelllinien fixiert sind, innerhalb derer sie sich lediglich weiter differenzieren können. Laut Korbiling und Estrov (2003) ist die Plastizität von adulten Stamm- / oder Progenitorzellen jedoch sehr viel größer. Sie können sich beispielsweise sowohl de-differenzieren (wieder eine unreifere Form annehmen) als auch trans-differenzieren (zwischen den Zelllinien wechseln). Tatsächlich findet sich ein ständiger Austausch von Progenitorzellen zwischen Knochenmark, Blut und den Organen. Zu den Fähigkeiten der adulten Progenitorzellen gehört es auch, dass sie zur Neubildung von Gefäßen beitragen können (Schächinger et al. 2004).

Mittlerweile sind eine Vielzahl von Wachstumsfaktoren bekannt wie z.B. der VEGF (vascular endothelial growth factor), der FGF (fibroblast growth factor), der HGF (hepatocyte growth factor) und das EPO (Erythropoietin) die eine Neoangiogenese fördern (Brown et al. 1996, Carlini et al. 1995, Kalka et al. 1999, Kroll und Waltenberger 2000, Lazarous et al. 1996, Ribatti et al. 1999, Sengupta et al. 2003). Die Beteiligung dieser Wachstumsfaktoren an funktionell bedeutsamen Regenerationsprozessen wurde in den vergangenen Jahren erkannt und systematisch charakterisiert. Wachstumsfaktoren sind im allgemeinen eine Gruppe von löslichen Proteinen, die als zelluläres Produkt sezerniert werden und nach spezifischer Bindung an zellständigen Wachstumsfaktor-Rezeptoren zur Induktion eines biologischen Signals führen. Derartige Signale können, je nach Wachstumsfaktor, Zielzelle und Kontext, die Proliferation und Migration, die Expressionsmuster anderer Gene oder die Differenzierung der Zielzelle beeinflussen.

Aus neueren Studien ist es bereits bekannt, dass die Endothelzellen der Herzkranzgefäße VEGF- (Kranz et al. 1999, Levy et al. 1995) und EPO-Rezeptoren (Anagnostou et al. 1994) tragen und durch diese Zytokine stimulierbar sind und dass diese Zytokine auch die Mobilisierung von endothelialen Progenitorzellen aus dem Knochenmark stimulieren (Asahara et al. 1998, Heeschen et al. 2003). Diese setzen sich möglicherweise im Bereich des ischämischen Areals fest und verwandeln sich dort in Herzmuskelzellen und Endothelzellen („homing effect“).

Inwiefern der bei den in der vorliegenden Studie untersuchten Patienten festgestellte Anstieg des Erythropoietin-Serumspiegels einen Effekt hat auf die Mobilisation von Progenitorzellen aus dem Knochenmark oder auf die Gefäßneubildung und die Verminderung der Fibrosierung im Bereich des Ischämieareals im Herzmuskel wurde in dieser Studie nicht untersucht. Es wäre jedoch sehr interessant die Serumspiegel auch anderer Wachstumsfaktoren sowie auch die Zahl der zirkulierenden Progenitorzellen bei Patienten mit einer akuten Myokardischämie zu dokumentieren, da es möglicherweise einen Zusammenhang geben könnte zwischen den Serumspiegel verschiedener Wachstumsfaktoren und der Zahl der mobilisierten Progenitorzellen, die bei den Regenerations-Prozessen freigesetzt werden. Somit könnten wir eine genauere Einsicht in diese sehr komplexe Prozessen gewinnen mit dem Ziel, diese im Rahmen einer Routine-Therapie unterstützen, steuern oder gar aktivieren zu können.

Eine *Limitation* dieser Studie ist, dass die Patienten-Gruppen relativ klein sind. Obwohl die festgestellte Erhöhung des Erythropoietin-Serumspiegles bei den Patienten mit einer akuten Myokardischämie (akuter Myokardinfarkt und instabile Angina pectoris) statistisch signifikant ist, wären größere Gruppen sicherlich besser geeignet, um den Einfluss der verschiedenen kardiovaskulären Risikofaktoren, des Patientengeschlechts oder des Patientenalters studieren zu können.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

**Ziel:** Ziel dieser Studie war es, den Erythropoietin-Serumspiegel (EPO) bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt und instabiler Angina pectoris zu bestimmen.

**Methoden:** Es wurden 17 Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt (AMI-Gruppe), 11 Patienten mit instabiler Angina pectoris IIIB (AP-Gruppe), 18 gesunde Probanden (Kontrolle-1) und 10 Patienten mit instabiler Angina pectoris und Ausschluss einer koronaren Herzerkrankung (Kontrolle-2) eingeschlossen. Es wurde bei allen Patienten (ausser bei den gesunden Probanden) eine Koronarangiographie durchgeführt. Bei allen Patienten in der AMI-Gruppe wurde anschliessend eine Koronarangioplastie und Stentimplantation durchgeführt. Der EPO-Serumspiegel wurde bei den Patienten der AMI- und AP-Gruppen an 3 prädefinierten Zeitpunkten bestimmt: Probe-1= 1-2, Probe-2= 3-5 und Probe-3= 5-9 Tage nach dem akuten Ereignis. In den Kontrollgruppen erfolgte nur eine EPO-Bestimmung. Die Bestimmung des EPO-Spiegels erfolgte mittels ELISA. Es erfolgte auch der Vergleich zwischen dem EPO-Serumspiegel und den folgenden Parametern: Kreatinkinase, Hämoglobin, Diabetes mellitus, familiäre Vorbelastung, Hyperlipidämie, arterielle Hypertonie und Nikotinkonsum.

**Ergebnisse:** Der EPO-Serumspiegel ist sowohl in der AMI-Gruppe als auch in der AP-Gruppe signifikant erhöht gegenüber den Kontrollgruppen (AMI vs Kontrolle1,  $p= 0,0001$ ; AMI vs Kontrolle-2,  $p= 0,0002$ ; AP vs Kontrolle-1,  $p= 0,0074$ ; AP vs Kontrolle-2,  $p= 0,014$ ). Der EPO-Spiegel ist in der AMI-Gruppe nicht signifikant erhöht ( $p= 0,150$ ) gegenüber der AP-Gruppe. Der EPO-Spiegel in den AMI- und AP-Gruppen weist ein Maximum in den ersten 2 Tagen nach dem akuten Ereignis auf und ist unabhängig von: Kreatinkinase, Hämoglobin und den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren.

**Conclusio:** Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt oder instabiler Angina pectoris weisen einen erhöhten EPO-Serumspiegel auf. Dieser Spiegel erreicht ein Maximum in den ersten 2 Tagen nach dem akuten klinischen Ereignis und ist unabhängig von den Kreatinkinase- und Hämoglobinwerten im Serum.

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

**Alpert J. S., Thygesen K., Antman E., Bassand J. P. (2000)**

Myocardial infarction redefined – a consensus document of The Joint European Society of Cardiology / American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J. Am Coll Cardiol* 2000; 36:959-69.

**Anagnostou A., Liu Z., Steiner M., Chin K., Lee E. S., Kessimian N., Noguchi C. T. (1994)**

Erythropoietin receptor mRNA expression in human endothelial cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, Vol. 1: 3974-3978.

**Andersen H. R., Nielsen T. T., Rasmussen K et al. (2003)**

The Danish multicenter randomised trial on thrombolytic therapy versus acute coronary angioplasty in acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2003; 8:349-56.

**Asahara, T., Takahashi, T., Kalka, C. et al. (1998)**

A novel function for VEGF: mobilisation of bone marrow-derived endothelial progenitor cells. *Circulation* 1998; 98: I-605.

**Bonnefoy E., Lapostolle F., Leizorovicz A., Steg G., McFadden E. P., Dubien P. Y., Cattan S., Boulenger E., Machecourt J. (2002)**

Primary angioplasty versus prehospital fibrinolysis in acute myocardial infarction: a randomised study, CAPTIM study group. *Lancet* 2002; 360:825-29.

**Brown K. J., Maynes S. F., Bezos A., Maguire D. J., Ford M. D., Parish C. R. (1996)**

A novel in vitro assay for human angiogenesis. *Lab. Invest.* 1996, 75: 539-555.

**Calvillo L., Latini R., Kajstura J., Annarosa L., Anversa P., Ghezzi P., Salio M., Cerami A., Brines M. (2003)**

Recombinant human erythropoietin protects the myocardium from ischemia-reperfusion injury and promotes beneficial remodeling. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2003; 100: 4802-4806.

**Campeau L. (1976)**

Letter: grading of angina pectoris. Circulation 1976; 54:522-23.

**Carlini R. G., Reyes A. A., Rothstein M. (1995)**

Recombinant human erythropoietin stimulates angiogenesis in vitro. Kidney Intern, 1995, 740-745.

**Chong Z. Z., Kang J. Q., Maiese K. (2002)**

Angiogenesis and plasticity: role of erythropoietin in vascular system. J. Hemother. Stem Cell Res. 2002; 11: 863-71.

**Clark S. C., Kamen R. (1987)**

The human haematopoietic colony-stimulating factors. Science 1987; 236: 1229-1237.

**Cotes P. M. (1989)**

Physiological studies of erythropoietin in plasma. Erythropoietin, Springer Verlag 1989; 57-79.

**Depping R., Kawakami K., Ocker H., Wagner J. M., Henninglake M., Noetzold A., Sievers H. H., Wagner K. F. (2005)**

Expression of the erythropoietin receptor in human heart. J. Throc. Cardio. Sur. 2005; 130: 877-878.

**Digicaylioglu M., Bichet S., Marti H. H., Wenger R. H., Rivas L. A., Bauer C., Gassmann M. (1995)**

Localisation of specific erythropoietin binding sites in defined areas of the mouse brain. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1995; 92 3717-3720.

**Dorbal M. S., Wang F. F., Goldwasser E. (1985)**

The role of carbohydrate in erythropoietin action. *Endocrinol.* 1985; 116: 2293-2299.

**Egrie J. C., Goldwasser E. (1992)**

Erythropoietin. *Human Cytokines – Handbook for Basic and Clinical Research*, Blackwell Scientific Publications, Boston 1992; 383-98.

**Ehrenreich H., Hasselblatt M., Dembowski C., Cepek L., Lewczuk P., Stiefel M., Rustenbeck H. H., Breiter N., Jacob S., Knerlich F., Bohn M., Poser W., Ruther E., Kochen M., Gefeller O., Gleiter C., Wessel T. C., De Ryck M., Itri L., Prange H., Cerami A., Brines M., Siren A. L. (2002)**

Mol. Erythropoietin therapy for acute stroke is both safe and beneficial. *Mol. Med.* 2002; 8: 495-505.

**Fadok V. A., Voelker D. R., Campbell P. A., Cohen J. J., Bratton D. L., Henson P. M. (1992)**

Exposure of phosphatidylserine on the surface of apoptotic lymphocytes triggers specific recognition and removal by macrophages. *J Immunol* 1992; 148:2207-16.

**Ferrario, M., Massa, M., Rosti, V., Campanelli, R., Ferlini, M., Marinoni, B., De Ferrari, G. M., Meli, V., De Amici, M., Repetto, A., Verri, A., Bramucci, E., Tavazzi, L. (2007)**

Early haemoglobin-independent increase of plasma erythropoietin levels in patients with acute myocardial infarction. *European Heart Journal* 2007; 28, 1805-1813.

**18. Freemantle N., Cleland J., Young P., Mason J., Harrison J. (1999)**

Beta blockade after myocardial infarction: systematic review and meta-regression-analysis. *BMJ* 1999; 318:1730-37.

**Gibbons R. J., Holmes D. R., Reeder C. S., Bailey K. R., Hopfenspringer M. R., Gersh B. J. (1993)**

Immediate angioplasty compared with the administration of a thrombolytic agent followed by conservative treatment for myocardial infarction. N Engl J Med 1993; 328:685-91.

**Gorio A., Gokmen N., Erbayraktat S., Yilmaz O., Madaschi L., Cichetti C., Di Giulio A. M., Vardar E., Cerami A., Brines M. (2002)**

Recombinant human erythropoietin counteracts secondary injury and markedly enhances neurological recovery from experimental spinal cord trauma. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2002; 99:9450-9455.

**Grimm C., Wenzel A., Groszer M., Mayser H., Seeliger M., Samardzija M., Bauer C., Gassmann M., Reme C. E. (2002)**

HIF-1 induced erythropoietin in the hypoxic retina protects against light-induced retinal degeneration. Nat. Med. 2002; 8: 718-724.

**Grines C. L., Patel A., Zijlstra F. et al. (2003)**

Primary coronary angioplasty compared with intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: six-month follow up and analysis of individual patient data from randomised trials. Am Heart J 2003; 145:47-57.

**Gruppo Italiano per lo Studio della Sopravvivenza nell'infarto Miocardico, GISSI-3. (1994)**

Effects of lisinopril and transdermal glyceryl trinitrate singly and together on 6-week mortality and ventricular function after acute myocardial infarction. Lancet 1994; 343:1115-22.

**Hamm C. W., Arntz H. R., Bode C et al. (2004)**

Leitlinien Akutes Koronarsyndrom Teil 1: Akutes Koronarsyndrom ohne ST-Hebung. Z. Kardiol. 2004; 93:72-90. Leitlinien: Akutes Koronarsyndrom Teil 2: Akutes Koronarsyndrom mit ST-Hebung. Z Kardiol 2004; 93:330.

**Hamm C. W., Braunwald E. (2000)**

A classification of unstable angina revisited. *Circulation* 2000; 102:118.

**Hamm C. W., Voigtländer T., Meyer J. (2007)**

Akuter Myokardinfarkt. Rationelle Diagnostik und Therapie in der Inneren Medizin 2007; 8D: 3.

**Heeschen C., Aicher A., Lehmann R., Fichtlscherer S., Vasa M., Urbich C., Mildner-Rihm C., Martin H., Zeiher A. M., Dimmeler S. (2003)**

Erythropoietin is a potent physiologic stimulus for endothelial progenitor cell mobilisation. *Blood* 2003; 102(4): 1340-1346.

**Herold G. und Mitarbeiter. (2000)**

Innere Medizin 2000, 196-197.

**ISIS-4. (1995)**

Collaborative Group ISIS-4: a randomised factorial trial assessing early oral captopril, oral mononitrate and intravenous magnesium in 58050 patients with suspected acute myocardial infarction. *Lancet* 1995; 345:669-85.

**Jaquet K., Krause K., Tawakol-Khodai M., Geidel S., Kuck K.-H. (2002)**

Erythropoietin and VEGF exhibit equal angiogenic potential. *Microvasc. Res.* 2002; 64: 326-33.

**Jelkmann W., Wiedemann G. (1990)**

Serum erythropoietin level. Relationships to blood hemoglobin concentration and erythrocytic activity of the bone marrow. *Klin. Wschr.* 1990; 68: 403-407.

**Jelkmann W., Wolff M., Fandrey J. (1990)**

Modulation of the production of erythropoietin by cytokines: in vitro studies and their clinical implications. *Contrib Nephrol* 1990; 87: 68-77.

**Juul S. E. (2000)**

Nonerythropoietic roles of erythropoietin in the fetus and neonate. *Neonat. Haematol.* 2000; 27: 527-41.

**Juul S. E., Yachnis A. T., Christensen R. D. (1998)**

Tissue distribution of erythropoietin and erythropoietin receptor in the developing human fetus. *Early Hum. Dev.* 1998; 52: 235-249.

**Kalka C., Takahashi T., Masuda H., Asahara T., Isner J. M. (1999)**

VEGF: Therapeutische Angiogenese und Vaskulogenese in der Behandlung kardiovaskulärer Erkrankungen. *Med Klin* 1999, 94: 193-201.

**Kawakami M., Sekiguchi M., Sato K., Kozaki S., Takahashi M. (2001)**

Erythropoietin receptor-mediated inhibition of exocytic glutamate release confers neuroprotection during chemical ischemia. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 39469-39475.

**Keeley E. C., Boura J. A., Grines C. L. (2003)**

Primary angioplasty versus intravenous thrombolytic therapy for acute myocardial infarction: a quantitative review of 23 randomised trials. *Lancet* 2003; 361:13-20.

**Kerr J. F. R., Wyllie A. H., Currie A. R. (1972)**

A basic biological phenomenon with wideranging implication in tissue kinetics. *Br J Cancer* 1972; 26: 239-57.

**Korbling M., Estrov Z. (2003)**

Adult stem cells for tissue repair – a new therapeutic concept? *N Engl J Med* 2003; 349: 570-82.

**Kranz A., Mayr U., Frank H., Waltenberg J. (1999)**

The coronary endothelium: a target for vascular endothelial growth factor. Human coronary artery endothelial cells express functional receptors for VEGF in vitro and in vivo. *Lab Invest*, 1999, 79: 985-991.

**Kranz A., Rau C., Kochs M., Waltenberger J. (2000)**

Elevation of vascular endothelial growth factor-A, serum levels following acute myocardial infarction. Evidence for its origin and functional significance. *J. Mol. Cell Cardiol.*, 2000; 32: 65-72.

**Krause K., Jaquet K., Geidel S., Schneider C., Mandel C., Schiele W., Nauertz M., Stoll H.-P., Schmeller M.-L., Lass M., Ostermeyer J., Kuck K.-H. (2006)**

Percutaneous endocardial injection of erythropoietin: Assessment of cardioprotection by electromechanical mapping. *Europ J Heart Fail* 2006; 8:443-450.

**Kroll J., Waltenberger J. (2000)**

Regulation der Endothelfunktion und der Angiogenese durch den Vaskulären Endothelialen Wachstumsfaktor-A. *Z. Kardiol* 2000, 89: 206-218.

**Lai P. H., Everett R., Wang F. F. et al. (1986)**

Structural characterisation of human erythropoietin. *J. Biol. Chem.* 1986; 261: 3116-3121.

**Lazarous D. F., Shou M., Scheinowitz M., Hodge E., Thirumurti V., Kitsiou A. N., Stiber J.A., Lobo A.D., Hunsberger S., Guetta E., Epstein S.E., Unger E.F. (1996)**

Comparative effects of basic fibroblast growth factor (FGF) and vascular endothelial factor (VEGF) on coronary collateral development and the arterial response to injury. *Circulation* 1996, 94: 1074-1082.

**Levy A. P., Levy N. S., Loscalzo J., Calderone A., Takahashi N., Yeo K. T., Koren G, Colucci W. S., Goldberg M. A. (1995)**

Regulation of vascular endothelial growth factor in cardiac myocytes. *Circ Res*, 1995, 76: 758-766.

**Lin F.-K., Suggs S., Lin C.-H. et al. (1985)**

Cloning of the human erythropoietin gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1985; 82: 7580-7584.

**Maiese K., Li F., Chong Z. Z. (2005)**

New avenues of exploration for erythropoietin. Jama 2005; 293: 90-95.

**Majno G., Joris I. (1995)**

Apoptosis, oncosis and necrosis. An Overview of cell death. Am J Pathol 1995; 146:3-15.

**Marti H. H., Wenger R. H. Rivas L. A., Straumann U., Digicaylioglu M., Henn V., Yonekawa Y., Bauer C., Gassmann M. (1996)**

Erythropoietin gene expression in human, monkey and murine brain. Eur. J. Neurosci. 1996; 8: 666-676.

**Masuda S., Okano M., Yamagishi K., Nagao M., Ueda M., Sasaki R. (1994)**

A novel site of erythropoietin production. J. Biol. Chem. 1994; 269: 19488-19493.

**Meyer J., Rupprecht H. J. (2007)**

Koronare Herzkrankheit. Rationelle Diagnostik und Therapie in der Innere Medizin 2007; 7D:5.

**Miller M. E., Chandra M., Garcia J. F. (1985)**

Clinical application of measurement of serum immunoreactive levels of erythropoietin. Ann. NY Acad. Sci. 1985; 459: 375-381.

**Miyake T., Kung C. K. H., Goldwasser E. (1977)**

Purification of human erythropoietin. J Biol Chem 1977; 252:5558-64.

**Moon C., Krawczyk M., Ahn D., Ahmet I., Paik D., Lakatta E. G., Talan M. I. (2003)**

Erythropoietin reduces myocardial infarction and left ventricular functional decline after coronary artery ligation in rats. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 2003; 100: 11612-11617.

**Mörl H., Haders P., Von Fallois J. (1998)**

Koronare Herzkrankheit. Walter de Gruyter Verlag, Berlin, New York 1998:1-2.

**Nielsen OJ, Thaysen JH. (1989)**

Response to erythropoietin in anaemic haemodialysis patients. J Intern Med 1989; 226: 89-94.

**Oberhammer F., Wilson J. W., Dive C., Morris I. D., Hickmann J. A., Wakeling A. F., Walker P. R., Sikorska M. (1993)**

Apoptotic death in epithelial cells: cleavage of DANN to 300 and/or 50 kb fragments prior to or in the absence of internucleosomal fragmentation. EMBO J 1993; 12: 3679-84.

**Parsa C. J., Matsumoto A., Kim J., Riel R. U., Pascal L.S., Walton G.B., Thompson R. B., Petrofski J. A., Annex B. H., Stamler J. S., Koch W. J. (2003)**

A novel protective effect of erythropoietin in the infarcted heart. J. Clin. Invest. 2003; 112: 999-1007.

**Peters H. D., Fandrey J. (1997)**

ERYPO, Erythropoietin human, rekombiniert. Janssen-Cilag, 3. Auflage, 1997; 23.

**Pfisterer M., Cox J. L., Granger C. B. et al. (1998)**

Atenolol use and clinical outcomes after thrombolysis for acute myocardial infarction: the GUSTO-I experience. J Am Coll Cardiol 1998; 32:634-40.

**Quaini F., Urbanek K., Beltrami A. P., Finato N., Beltrami C. A., Nadal-Ginard B., Kajstura J., Leri A., Anversa P. (2002)**

Chimerism of the Transplanted Heart. *N Engl J Med* 2002; 346:5-15.

**Ribatti D., Presta P, Vacca A., Ria R., Guiliani R. et al. (1999)**

Human erythropoietin induces a proangiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularisation in vivo. *Blood* 1999: 2627-2636.

**Schächinger V., Assmus B., Zeiher A. M. (2004)**

Stammzelltherapie bei ischämischer Herzkrankheit. *Kliniker* 2004; 33: 68-73.

**Sengupta S., Gherardi E., Sellers L. A., Wood J. M., Sasisekharan R., Fan T-P D. (2003)**

Hepatocyte growth factor (HGF)/ scatter factor can induce angiogenesis independently of VEGF. *Art., Thomb. and Vasc. Biol.* 2003, 23:69.

**Siren A. L., Knerlich F., Poser W., Gleiter C. H., Bruck W., Ehrenreich H. (2001)**

Erythropoietin and erythropoietin receptor in human ischemic/hypoxic brain. *Acta Neuropathol.* 2001; 101: 271-6.

**Stack G., Gorski J. (1984)**

*Endocrinology* 1984; 115: 1141-1150.

**Statistisches Bundesamt. (2003)**

Todesursachenstatistik 2003; *Deutsches Ärzteblatt*, Heft 20, 2006, A 1378.

**Stierle U., Niederstadt C. (1999)**

*Klinikleitfaden Kardiologie* 1999, 200-208, 246- 253.

**Stroud R. M., Wells J. A. (2004)**

Mechanistic diversity of cytokine receptor signaling across cell membranes. *Sci. STKE* 2004; 2004: re. 7.

**Tramontano A. F., Muniyappa R., Black A. D., Blendea M. C., Cohen I., Deng L., Sowers J. R., Cutaia M. V., El-Sherif N. (2003)**

Erythropoietin protects cardiac myocytes from hypoxia-induced apoptosis through an Akt-dependent pathway. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003; 308: 990-994.

**Vanags D. M., Porn-Ares M. I., Coppola S., Burgess D. H., Orrenius S.(1996)**

Protease involvement in fodrin cleavage and phosphatidylserine exposure in apoptosis. *J Biol Chem* 1996; 271:31075-85.

**Wagner K. F., Katschinski K. M., Hasegawa J., Schumacher D., Meller B., Gembruch U., Schramm U., Jelkmann W., Gassmann M., Fandrey J. (2001)**

Chronic inborn erythrocytosis leads to cardiac dysfunction and premature death in mice overexpressing erythropoietin. *Blood* 2001; 97: 536-542.

**Walker P. R., Kokileva L., Le Blanc J., Sikorska M. (1993)**

Detection of the initial stages of DNA-fragmentation in apoptosis. *Biotechniques* 1993; 15: 1032-40.

**Wang G. L., Jiang B. H., Rue E. A., Semenza G. L. (1995)**

Hypoxia-inducible-factor-1(HIF 1) is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O<sub>2</sub> tension. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1995; 92: 5510-5514.

**Watkins P.C., Eddy R., Hoffman H. et al. (1986)**

Regional assignment of the erythropoietin gene to human chromosome region 7qter-q22. *Cytogenet Cell Genet.* 1986; 42: 214-218.

**Wenger R.H. (2002)**

Cellular adaptation to hypoxia: O<sub>2</sub>-sensing protein hydroxylases. Hypoxia-inducible transcription factors, and O<sub>2</sub>-regulated gene expression. *FASB J.* 2002 16: 1151-1162.

**Westphal G., Niederberger E., Blum C., Wollman Y., Knoch T. A., Rebel W., Debus J., Friedrich E. (2002)**

Erythropoietin and G-CSF receptors in human tumor cells: expressions and aspects regarding functionality. *Tumori*. 2002;88:150-9.

**Wide L., Bengtsson C., Birkegard G. (1989)**

Circadian rhythm of erythropoietin in human serum. *Br. J. Hematol.* 1989; 72: 85-90.

**Wyllie A. H. (1980)**

Glucocorticoid-induced thymocyte apoptosis is associated with endogenous endonuclease activation. *Nature* 1980; 284: 555-6.

**Yasuda Y., Masuda S., Chikuma M., Inoue K., Nagao M., Sasaki R. (1998)**

Estrogen-dependent production of erythropoietin in uterus and its implications in uterine angiogenesis. *J. Biol. Chem.* 1998, Vol. 273: 25381-25387.

## **8 DANKSAGUNG**

Diese Arbeit entstand in der Abteilung für Kardiologie der Asklepios Klinik St. Georg in Hamburg.

Besonders möchte ich mich bei Herrn Prof. K. H. Kuck für seine Anregungen und seine ständige Unterstützung bedanken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Korff Krause und Herrn Dr. Kai Jaquet, die diese Arbeit stets unterstützt und sehr hilfreich betreut haben.

Diese Arbeit wurde außerdem unterstützt durch das Genlabor der kardiologischen Abteilung der Asklepios Klinik St. Georg Hamburg.

Bei meinen Eltern bedanke ich mich für die Unterstützung für mein Studium der Humanmedizin und das Interesse bei der Entstehung dieser Arbeit.

Schließlich bedanke ich mich bei meiner Frau für die ununterbrochene und liebevolle Unterstützung während dieser Arbeit.

## 9 LEBENSLAUF

Name : Konstantinos Kyriazis

Anschrift : Hauptstraße 47, 25469 Halstenbek

Geboren am : 20.01.1975

Geboren in : Offenbach

Familienstand: Verheiratet, zwei Kinder

Ausbildung:

1980-1986 Grundschule Nea Chalkidona, Athen, Griechenland

1986-1989 Allgemeines Gymnasium Nea Chalkidona, Athen, Griechenland

1989-1992 Allgemeines Lyzeum Nea Chalkidona, Athen, Griechenland

1993-1999 3-te Medizinische Fakultät der Charles Universität, Prag,  
Tschechische Republik (Studium mit englischem Curriculum)

2000 Staatliche Prüfung in den Fächern 1) Allgemeine Chirurgie und 2)  
Innere Medizin, interuniversitäres Zentralamt für die Anerkennung  
ausländischer Studienabschlüsse - DIKATSA -, Griechenland  
(Ergebnis : ausgezeichnet)

Seit 2001 Assistenzarzt, Kardiologie, Asklepios Klinik St. Georg in Hamburg

## **10 ERKLÄRUNG**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Hamburg,

Konstantinos Kyriazis

## 11 ADDENDUM - Statistische Auswertung

Kontinuierlich gemessene Werte, z. B. EPO, wurden mit dem Median beschrieben und die Streuung graphisch mit Box-Plots dargestellt (Median, 25%- und 75%-Perzentil, Minimum und Maximum sowie gegebenenfalls Ausreisser und/oder Extremwerte). Dabei wurden sowohl die Hauptgruppen gegenübergestellt als auch Box-Plots von Untergruppen, z. B. der EPO-Serumspiegel bei Vorliegen beziehungsweise Nicht-Vorliegen einzelner Risikofaktoren. Tests zwischen den Gruppen wurden mit dem Kruskal-Wallis-Test (bei mehr als 2 verglichenen Gruppen) oder dem Mann-Whitney-Test (bei 2 Gruppen) durchgeführt. Wiederholte EPO-Messungen pro Patient (Tag 1-2 versus Tag 3-5 versus Tag 5-9) wurden jeweils innerhalb einer Gruppe mit Hilfe des Friedman-Tests verglichen. Für Korrelationen des EPO-Serumspiegels mit anderen Messwerten, z. B. Hämoglobin, Kreatinkinase innerhalb der Patientengruppen, wurde der Spearman'sche Korrelationskoeffizient ( $r$ ) und die Signifikanz berechnet. Die Diagramme enthalten als Gütemaß für die Anpassung der Geraden an die Messwerte noch das sogenannte Bestimmtheitsmaß  $r^2$ .

Die Häufigkeit kategorialer Daten, insbesondere das Auftreten von Risikofaktoren in den Patientengruppen (akuter Myokardinfarkt und instabiler Angina pectoris), wurde zwischen den Gruppen mit dem Pearson-Chi-Quadrat-Test verglichen.

Es wurde eine explorative Datenanalyse durchgeführt. Alle p-Werte wurden zweiseitig berechnet und wenn  $< 0,05$  als signifikantes Ergebnis interpretiert. Eine Anpassung dieser Signifikanzgrenze anhand der Anzahl der insgesamt durchgeführten Tests (des multiplen Testens) wurde nicht vorgenommen. Die Analyse wurde mit der Software SPSS für Windows, Version 11.5.2.1, SPSS Inc. Durchgeführt.