

Aus dem
Deutschen Herzzentrum der Charité (DHZC)
Klinik für Kardiologie, Angiologie und Intensivmedizin
am Campus Benjamin Franklin (CBF)
Direktor: Prof Dr. Ulf Landmesser

HABILITATIONSSCHRIFT

Die Darm-Herz-Achse – Vermittler von kardiovaskulärer Morbidity im Zusammenspiel mit Protease-aktivierten Rezeptoren

zur Erlangung der Lehrbefähigung
für das Fach Innere Medizin

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Julian Friebe

Eingereicht:	September 2022
Dekan:	Prof. Dr. med. Axel R. Pries
1. Gutachter:	Prof. Dr. Steffen Massberg, München
2. Gutachter:	Prof. Dr. Stavros Konstantinides, Mainz

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen.....	4
1. Einleitung.....	5
1.1 Einführung.....	5
1.2 Die intestinale mukosale Barriere	5
1.3 Inflammation als Folge einer gestörten Darmbarriere	6
1.4 Eine akut gestörte Darmbarriere ist mit einer vermehrten mikrobiellen Translokation verbunden	6
1.5 Chronische Immunaktivierung – Folge einer anhaltenden Barrierestörung und mikrobiellen Translokation?.....	7
1.6 Gestörte Darmbarriere und kardiovaskuläre Erkrankungen – Das Konzept der chronischen Immunaktivierung	7
1.7 Protease-aktivierte Rezeptoren – Mediatoren der Darm-Herz-Achse?.....	9
1.7.1 Protease-aktivierte Rezeptoren.....	9
1.7.2 Protease-aktivierte Rezeptoren und Darmbarriere	10
1.7.3 Protease-aktivierte Rezeptoren und Atherosklerose/Koronare Herzkrankheit	12
1.7.4 Protease-aktivierte Rezeptoren und Herzinsuffizienz	12
1.8 Zielsetzung	13
1.9 Fragestellungen.....	14
2. Eigene Arbeiten	15
2.1 Das Ausmaß der intestinalen Barrierestörung und mikrobiellen Translokation ist mit einer chronischen Immunaktivierung assoziiert	15
2.2 Die Analyse des Argininstoffwechsels gibt Aufschluss über die funktionelle Makrophagendifferenzierung in humanen Probenmaterial.....	30
2.3 Die Überexprimierung des ANT1 im Herzen verschiebt die Immunaktivierung im ischämischen Herzen hin zu alternativ aktivierten Makrophagen.....	37
2.4 Der Protease-aktivierte Rezeptor 1 beeinflusst die TLR2/4-Expression und reguliert dadurch Prozesse der vaskulären Inflammation und Atherogenese – PAR1 Inhibition ist ein therapeutisches Ziel	55

Inhaltsverzeichnis

2.5 PAR1 und PAR2 regulieren die kardiale Inflammation und Fibrose in der HFpEF-Pathogenese und sind ein therapeutisches Ziel.....	77
3. Diskussion.....	94
3.1 Inflammation als Therapieziel bei kardiovaskulären Erkrankungen.....	94
3.1.1 Anti-inflammatorische Therapie und Atherosklerose.....	94
3.1.2 Anti-inflammatorische Therapie und Herzinsuffizienz.....	96
3.2 Dysbiose, Barrierestörung, MT als Therapieziel(e) bei kardiovaskulären Erkrankungen .	97
3.3 Stellenwert von auf PARs-gerichteten Therapeutika in der kardiovaskulären Medizin	98
3.3.1 PAR-gerichtete Therapeutika reduzieren die kardiovaskuläre Inflammation.....	98
3.3.2 PAR-gerichtete Therapeutika reduzieren die Barrierestörung und MT	100
4. Zusammenfassung.....	102
5. Literaturangaben	103
Danksagung	108
Erklärung.....	109

Abkürzungen

ACS	acute coronary syndrome
ANT1	Adenin-Nukleotid-Translokase 1
HFpEF	Herzinsuffizienz mit einer erhaltenen Pumpfunktion (heart failure with preserved ejection fraction)
HFrEF	Herzinsuffizienz mit einer reduzierter Pumpfunktion (heart failure with reduced ejection fraction)
KHK	Koronare Herzkrankheit
LPS	Lipopolysaccharid
MACE	major adverse cardiac and cerebrovascular events
MT	mikrobielle Translokation
PAR	Protease-aktivierter Rezeptor
TLR	Toll-like Rezeptor

1. Einleitung

1.1 Einführung

Die vorliegende Habilitationsschrift beschreibt das Konzept der gestörten Darmbarriere und dessen Einfluss auf inflammatorische Prozesse im Kontext Protease-aktivierter Rezeptoren. Im Anschluss werden dann therapeutische Implikationen diskutiert.

Chronisch kardiovaskuläre Erkrankungen und deren akute Komplikationen sind eine der bedeutendsten Morbiditäts- und Mortalitätsursachen.⁽¹⁾ Aufgrund des sich schärfenden Risikoprofils und dem demografischen Wandel, wird deren Anteil weiter steigen.⁽¹⁾

Ein pathologisch verändertes Mikrobiom (Dysbiose) geht mit einer gestörten Darmbarriere und einer fehlregulierten Immunantwort einher.⁽²⁾ Dies nimmt Einfluss auf die Entstehung und Progression zahlreicher kardiovaskulärer Erkrankungen.⁽³⁻⁵⁾

In der kardiovaskulären Medizin sind derzeitige Therapiekonzepte bislang nicht ausreichend selektiv. Die Interaktion der Darm-Herz-Achse stellt einen potenziellen Angriffspunkt zielgerichteter und individualisierter Therapieverfahren dar.⁽³⁻⁶⁾

1.2 Die intestinale mukosale Barriere

Der Aufrechterhaltung der intestinalen mukosalen Barrierefunktion wird in diesem Kontext eine besondere Bedeutung zugemessen. Aufgrund der großen Oberfläche (30-40m² vs. 2m² der Haut) kommt es zu einer intensiven Exposition gegenüber körperfremden, obligat oder fakultativ pathogenen Stoffen und Mikroorganismen (= permanenter Antigenkontakt). Gleichzeitig muss eine Toleranz gegenüber nicht-schädlichen Antigenen (z. B. Nahrungsmittelbestandteile, kommensale Bakterien) aufrechterhalten werden.^(7, 8)

Die intestinale mukosale Barriere setzt sich aus biochemischen (u.a. Muzinschicht), physikalischen (u.a. einschichtiges Epithel) und immunologischen Komponenten (v.a. in der Lamina propria) zusammen.⁽⁷⁾

Das Immunsystem des Darmes erfüllt hierbei eine wichtige Barrierefunktion. Das darmassoziierte lymphatische Gewebe (gut-associated lymphoid tissue, GALT) als Untereinheit des Mukosa-assoziierten lymphatischen Gewebes (mucosa-associated lymphoid tissue, MALT) bildet ein komplexes Netzwerk organisierter Immunzellen.⁽⁹⁾ Neben Zellen des adaptiven Immunsystems (T- und B-Lymphozyten), gehören hierzu u.a. auch die Antigen-präsentierenden Makrophagen und dendritischen Zellen. Ein Großteil aller Immunzellen des Körpers befindet sich im Darm.⁽¹⁰⁾ Kommensale verschiedener mikrobieller Spezies sind in der Lage intestinale Immunantworten zu induzieren.⁽¹¹⁾

Die Integrität der sich kontinuierlich regenerierende einschichtige Epithelbarriere ist gemeinsam mit den geschlossenen Zell-Zell-Kontakten (tight junctions) verantwortlich für die unmittelbare trans- und parazelluläre Permeabilität.^(7, 12) Ebenfalls nicht hämatopoetischen Ursprungs sind die Paneth- und Becherzellen, welche durch die Sekretion von Defensinen, Lysozym und Muzinen die Passage von Pathogenen verhindern.⁽⁷⁾

1.3 Inflammation als Folge einer gestörten Darmbarriere

Das *leaky-gut* Konzept besagt, dass eine Störung der intestinalen Barriere zu einer vermehrten Translokation mikrobieller Bestandteile führt.^(3, 5, 13) Klassischerweise wird hierdurch unmittelbar oder über Zwischenschritte eine pro-inflammatorische Immunantwort generiert.^(14, 15) Diese pro-inflammatorische Antwort ist in der Regel nicht nur auf den Darm beschränkt, sondern zeigt sich auch systemisch.^(14, 15) Dies liegt zum einen darin begründet dass immunogene Bestandteile in die Blutstrombahn gelangen aber auch an der lokalen Aktivierung (= im Darm) von zirkulierenden Immunzellen durch Antigene.⁽⁴⁾

Drei wesentliche Mechanismen können für die gestörte Barrierefunktion verantwortlich sein:

- Dysbalance des epithelialen Turnovers (d.h. gesteigerter Verlust durch vermehrte Apoptose und verminderte Regenerationsfähigkeit)⁽⁷⁾
- Alteration der Tight-Junction-Zusammensetzung erhöht die makromolekulare parazelluläre Permeabilität⁽⁷⁾
- verminderte Clearancefähigkeit der Immunabwehr⁽⁷⁾

1.4 Eine akut gestörte Darmbarriere ist mit einer vermehrten mikrobiellen Translokation verbunden

Der klassische Morbus Whipple (M. Whipple) ist eine sich primär im Dünndarm manifestierende Erkrankung, bei der es durch den Verlust des differenzierten Oberflächenepithels zu einer erhöhten Permeabilität für Makromoleküle und somit auch für mikrobielle Bestandteile kommt.⁽¹⁶⁾ Kennzeichnend ist eine massive Makrophagenakkumulation in der Lamina propria welche das Bakterium *Tropheryma whipplei* (*T. whipplei*) enthalten.⁽¹⁷⁾ Paradoxerweise ist die lokale mukosale Immunreaktion durch ein regulatorisches Milieu charakterisiert.⁽¹⁸⁻²⁰⁾ Dies lässt sich durch verschiedene (kumulative) immunologische Defizite der Patienten sowie anti-inflammatorische Effekte von *T. whipplei* selbst erklären.⁽¹⁸⁾ Im Gegensatz dazu kann systemisch eine akute pro-inflammatorische Immunantwort nachgewiesen werden (u.a. CRP- und BSG-Erhöhung, Fieber, Leukozytose, Thrombozytose, verminderte CD4/CD8-Ratio, Aktivierung und Zytotoxizität CD8⁺ T-Zellen).^(17, 18)

Über die gestörte Darmbarriere kommt es zu einer verstärkten mikrobiellen Translokation (MT). Die anti-inflammatorische geprägte mukosale Immunantwort begünstigt dann durch die verminderte Eliminationskapazität eine systemische Ausbreitung und letztlich pro-inflammatorische Reaktion. Die Barrierestörung und MT sind beim klassischen M. Whipple transient und bereits nach antibiotischer Initialtherapie rückläufig.^(16, 18) Somit kann der klassische M. Whipple als Modellerkrankung einer akut gestörten Darmbarriere betrachtet werden, die mit einer vermehrten MT verbunden ist.

1.5 Chronische Immunaktivierung – Folge einer anhaltenden Barrierestörung und mikrobiellen Translokation?

Nach Beginn der antibiotischen Therapie beim klassischen M. Whipple kommt es im Verlauf in bis zu 10% der Fälle zu einem inflammatorischen Immunrekonstitutionssyndrom (IRIS).^(21, 22) Gekennzeichnet ist dies durch eine numerische und funktionelle Rekonstitution von inflammatorischen T-Zellen. Diese unspezifische Aktivierung und Expansion wird durch eine verminderte regulatorische Immunantwort insuffizient gebremst. Dieses geht in der Folge dann mit einer unkontrollierten und anhaltenden Entzündungsreaktion einher.⁽²¹⁾ Welche Rolle die intestinale Barrierestörung in der Pathogenese der überschießenden Immunantwort spielt, war bislang nicht untersucht worden. Die zu beobachtende Hyperinflammation könnte Folge einer Reaktion auf residuelle Antigene sein, die aufgrund einer erhöhten kontinuierlichen MT infolge einer anhaltend gestörten Darmbarriere akkumulieren.⁽²³⁾

1.6 Gestörte Darmbarriere und kardiovaskuläre Erkrankungen – Das Konzept der chronischen Immunaktivierung

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind durch eine chronische Inflammation gekennzeichnet.^(24, 25) Die Auslöser der systemischen Immunaktivierung sind aber nicht vollständig aufgeklärt. Eine intestinale Barrierestörung und konsekutive Translokation viabler Pathogene, mikrobieller Bestandteile (u.a. Lipopolysaccharid, LPS) als auch bakterielle Metaboliten (u.a. Trimethylamin, TMA), können diese Reaktion vermitteln.^(3, 5) Die Barrierefunktion selbst wiederum kann durch ein pathologisch verändertes Mikrobiom (Dysbiose) negativ beeinflusst werden. Das Mikrobiom kann dabei numerisch oder in seiner Diversität verändert sein.⁽⁵⁾ Veränderungen des Mikrobioms können auch mit einer erhöhten Belastung durch LPS selbst einhergehen (das dann wiederum vermehrt transloziert).⁽³⁾ Bezogen auf die Dysbiose, spielen neben genetischen Faktoren vor allem modifizierbare Risikofaktoren (Nikotinabusus, Ernährung etc.) hierbei eine entscheidende Rolle. Dysbiose, Barrierestörung und MT sind Kennzeichen kardiovaskulärer Erkrankungen und können

auch mit adversen klinischen Ereignissen assoziiert sein (major adverse cardiac and cerebrovascular events, MACE) (**Tabelle 1**).⁽³⁾ Wobei einschränkend erwähnt werden muss das nicht immer eine Kausalität bewiesen werden kann und bislang zumeist (aus technischen Gründen) nur Biomarker untersucht worden sind.

Risikofaktor/Erkrankung	Dysbiose	Barriere- störung	MT	Referenz
Nicht-alkoholische Fettleber				(26, 27)
Diabetes mellitus				(28-32)
Nikotinabusus				(33-36)
Chronische Niereninsuffizienz				(37-40)
Arterieller Hypertonus				(41-44)
Koronare Herzkrankheit				(29, 45, 46)
Carotisstenose				(47-49)
Vorhofflimmern		*		(50-52)
Chronische Herzinsuffizienz				(53-56)
Akuter Myokardinfarkt				(57-59)

Tabelle 1. Übersicht ausgewählter Risikofaktoren und manifester kardiovaskulärer Erkrankungen bei denen im Menschen eine Assoziation (= grau hinterlegt) mit Dysbiose, Barriestörung und MT gezeigt werden konnte. *Es liegen bislang keine Studienergebnisse vor.

Das aus der Zellmembran Gram-negativer Bakterien stammende LPS, gehört zu den sog. Pathogen-associated molecular patterns, PAMPs und wird von Rezeptoren der angeborenen Immunität (Toll-like Rezeptoren, TLRs, konkret TLR4) erkannt. Dies bedingt dann eine pro-inflammatorische Kaskade. LPS wird als ein Biomarker der MT verstanden. Neben seiner pro-inflammatorischen Wirkung, kann LPS via TLR4 auf Thrombozyten auch direkt atherothrombotische Prozesse vermitteln.⁽⁴⁾ Auch viele andere translozierte mikrobielle Bestandteile können über TLRs zu der systemischen Immunaktivierung beitragen (z.B. via TLR2: Lipoteichonsäure Gram-positiver Bakterien, Beta-Glucane von Pilzen).⁽⁶⁰⁾

Kommensale Bakterienspezies des intestinalen Mikrobioms sind darüber hinaus in der Lage durch die Metabolisierung von Nahrungsbestandteilen das gesamte Spektrum kardiovaskuläre Erkrankungen direkt oder indirekt zu beeinflussen.⁽³⁾ Nachfolgend ist eine Auswahl dieser Metabolite aufgeführt, welche mit der Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen assoziiert sind⁽³⁾:

- Produktion und Modifikation von Gallensäuren → Einfluss: Glukose- und Fettstoffwechsel
- Kurzkettige Fettsäuren (engl. short chain fatty acids, SCFA), (u.a. Acetat C2, Propionat C3, Butyrat C4) – entstehen durch Fermentation bei ballaststoffreicher Ernährung → haben Einfluss auf die Blutdruckregulation, myokardiale Reperaturmechanismen und modulieren Entzündungsvorgänge

- TMA/TMAO (Trimethylamin-N-oxid) – Metabolisierung von Cholin, Phosphatidylcholine und Carnitin v.a. aus tierischen Lebensmitteln (wie Fleisch, Eigelb und fettreiche Milchprodukte) aber auch als Bestandteil der Gallenflüssigkeit (Cholin) durch Kommensale zu TMA und folgend dann Oxydierung in der Leber zu TMAO → assoziiert mit Atherogenese, Gerinnungsaktivierung und Atherothrombose, kardiale Fibrose, vaskuläre Inflammation, Aktivierung des Inflammasoms
- Phenylacetylglutamin – entsteht durch mikrobielle Metabolisierung von Phenylalanin → assoziiert mit atherothrombotischen Ereignissen und Herzinsuffizienz
- Urämietoxine (u.a. p-Kresol Sulfate, Indoxylsulfat) – entstehen im Darm im Rahmen des mikrobiellen Proteinmetabolismus → sind assoziiert mit renaler Dysfunktion, Gerinnungsaktivierung, pro-fibrotischen und inflammatorischen Mechanismen⁽³⁾

Für einige dieser der Metaorganismen entstammenden Metabolite konnten auch bereits Wirtsbezogene Rezeptoren, welche die nachgeschaltete Signalkaskade vermitteln, identifiziert werden.⁽³⁾

1.7 Protease-aktivierte Rezeptoren – Mediatoren der Darm-Herz-Achse?

1.7.1 Protease-aktivierte Rezeptoren

Protease-aktivierte Rezeptoren (PAR1-4) sind G-Protein-gekoppelte Rezeptoren. Der PAR1 (Thrombinrezeptor) nimmt eine Schlüsselposition als Mediator des Gerinnungs- und Immunsystems bei akuten kardiovaskulären Erkrankungen wie der Myokarditis oder dem Myokardinfarkt ein.⁽⁶¹⁻⁶⁷⁾ Sie sind u.a. Regulatoren der Thrombozyten-, Endothelzell-, glatten Gefäßmuskelzell-, Immunzell-, Fibroblasten- und Kardiomyozytenfunktion. PAR1 ist der Thrombinrezeptor auf Thrombozyten.^(64, 68-71) Die Rolle von PARs in der Pathogenese chronisch kardiovaskulärer Erkrankungen (Atherosklerose, Herzinsuffizienz, Vorhofflimmern) ist bisher nur unzureichend aufgeklärt. Das gemeinsame pathogenetische Charakteristikum akuter und chronischer kardiovaskulärer Erkrankungen ist die systemische Entzündungsreaktion.^(25, 58) PAR-abhängige Signalwege sind in der Lage diese entzündlichen Prozesse (auch unabhängig von deren pro-thrombotischen und pro-koagulatorischen Wirkweisen) zu vermitteln und zu beeinflussen. Die Aktivierungs- und Signalwege von PARs sind komplex. Klassischerweise werden sie durch extrazelluläre Proteasen (so auch den Gerinnungsfaktoren FXa und FIIa, Thrombin) aktiviert. Hierbei spielen sowohl das sog. biased-signaling (funktionelle Ligandenselektivität, d.h. die Art der zellulären Signalantwort ist abhängig vom Liganden trotz desselben Rezeptors) eine Rezeptorhomo- und Hetero-dimerisierung, als auch die Transaktivierung von non-PARs eine Rolle (**Abbildung 1**). Man geht davon aus, dass PARs auch Aufgaben als nicht-klassische pattern-recognition receptors (PRR) wahrnehmen und auch Mediator der angeborenen Immunität sein können u.a. durch Kooperation mit TLRs.^(64, 72-74)

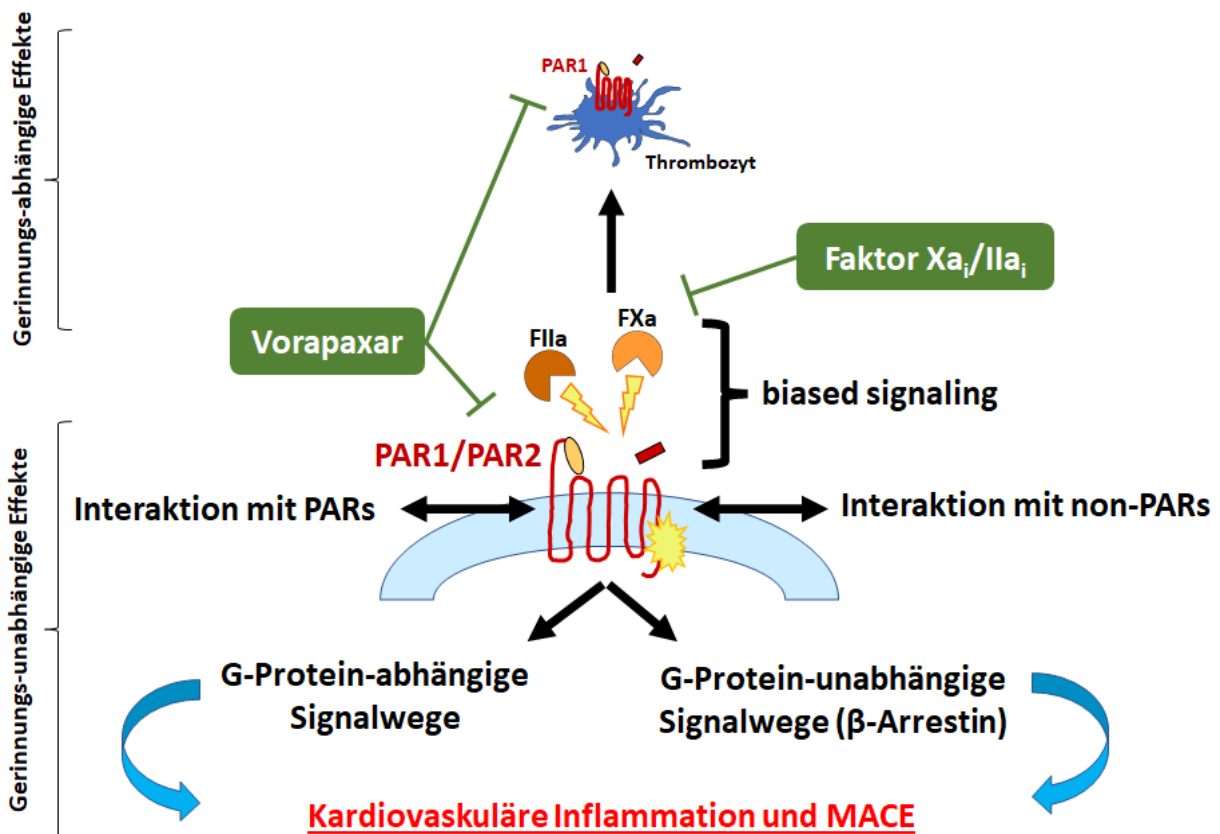


Abbildung 1. Aktivierungs- und Signalwege von PARs. Exemplarisch gezeigt ist die Aktivierung durch Gerinnungsserineproteasen Thrombin (FIIa) und FXa. Der extrazelluläre N-Terminus des Rezeptors wird abgespalten. Dies legt eine Proteindomäne frei welche als gebundener Ligand (tethered ligand) fungiert. In der Folge kommt es zu einer Konformitätsänderung des Rezeptors die es ermöglicht G-Proteine zu binden um dadurch die nachgeschaltete, intrazelluläre Signalkaskade zu initiieren. Die Signalwege sind komplex und beinhalten das sog. biased signaling sowie die Interaktion mit PARs und non-PARs. Die Signalwirkung kann aber auch G-Protein-unabhängig über z.B. β -Arrestin modifiziert werden. PARs vermitteln: Gerinnungs-abhängige Effekte (= Wirkung auf primäre und sekundäre Hämostase) und Gerinnungs-unabhängige Effekte (= u.a. pro-fibrotisch und pro-inflammatorisch, durch Signalwege in Endothelzellen, Fibroblasten, Kardiomyozyten, Immunzellen etc.). PARs werden aber auch im Darm u.a. von Enterozyten exprimiert. Mit dem direkten PAR1-Inhibitor Vorapaxar und FIIa- und FXa-Inhibitoren stehen PAR-modulierende Therapeutika zur Verfügung.^(70, 72, 73)

1.7.2 Protease-aktivierte Rezeptoren und Darmbarriere

PARs werden im Körper ubiquitär exprimiert (u.a. auch von Enterozyten, apikal und basolateral sowie von Zellen der Lamina propria). Sie können deshalb luminal und mukosal durch Proteasen aktiviert werden. Dazu gehören Verdauungsenzyme, extrazelluläre bakterielle Proteasen des Mikrobioms bzw. invasiver Pathogene, Proteasen freigesetzt von Immunzellen sowie extravasculäre Gerinnungsfaktoren (**Tabelle 2**). Die in allen Darmabschnitten nachgewiesenen PAR1 und PAR2 sind in der Lage die epitheliale Barrierefunktion und mukosale Immunantwort zu regulieren.

Dabei können sowohl die trans- als auch die parazelluläre Permeabilität moduliert werden, was wiederum den Grad der MT beeinflusst. Untersucht wurde die Rolle von PARs im GI-Trakt bisher v.a. in der Pathogenese chronisch entzündlicher Darmerkrankungen und Darmtumoren.^(72, 75-77)

Lokalisation und Quelle	Aktivierende Proteasen	PARs			
		PAR1	PAR2	PAR3	PAR4
Luminal					
Verdaungsprotease	Trypsin	■	■	■	■
Mikrobielle Protease	Gelatinase (<i>E. faecalis</i>)	■	■	■	■
	Gingipain (<i>P. gingivalis</i>)	■	■	■	■
	Serralysin (<i>S. marcescens</i>)	■	■	■	■
	Protease (<i>H. pylori</i>)	■	■	■	■
	LasB (<i>P. aeruginosa</i>)	■	■	■	■
	LepA (<i>P. aeruginosa</i>)	■	■	■	■
Mukosal					
Gerinnungsfaktoren	FIIa (Thrombin)	■	■	■	■
	FXa	■	■	■	■
	TF	■	■	■	■
	TF-FVIIa	■	■	■	■
	TF-FVIIa-FXa	■	■	■	■
	Plasmin	■	■	■	■
Immunzellen	Cathepsin C	■	■	■	■
	Cathepsin G	■	■	■	■
	Cathepsin S	■	■	■	■
	Neutrophilen Elastase	■	■	■	■
	(Mastzell) Tryptase	■	■	■	■
	Proteinase-3	■	■	■	■
	Matrix-Metalloproteasen (MMPs)	■	■	■	■
	Granzyme A, B, K	■	■	■	■
	Chymase	■	■	■	■
non-Immunzellen	Kallikreine	■	■	■	■
	Calpain-1	■	■	■	■
	Calpain-2	■	■	■	■
	Matriptase	■	■	■	■

Tabelle 2. Übersicht der im Darm luminal und mukosal vorhandenen Proteasen welche PAR1-4 aktivieren können. Die Extrazelluläre Spaltstelle der Proteasen unterscheidet sich dabei erheblich, welches ein sog. biased signaling suggeriert. Die Daten wurden aus den folgenden Übersichtsarbeiten zusammengefasst: (72, 75-77)

1.7.3 Protease-aktivierte Rezeptoren und Atherosklerose/Koronare Herzkrankheit

Die Expression von PARs ist für etablierte atherosklerotische Plaques beschrieben worden. Hier v.a. von myeloiden Zellen (Makrophagen/Schaumzellen).⁽⁷⁸⁻⁸⁰⁾ Ihre Rolle in der de-novo Atherogenese ist dagegen nur unzureichend verstanden. Inwieweit akute Komplikationen wie die Plaqueruptur oder Plaqueerosion PAR-vermittelt sind, wurde bislang nicht untersucht. Die endotheliale, mono- und myozytäre Expression von PAR1, suggeriert einen entscheidenden (Gerinnungs-unabhängigen) Beitrag in der Atherogenese.^(68-70, 81, 82) Die protektiven Effekte einer Inhibition übergeordneter Signalwege (FXa-Inhibition durch Rivaroxaban) wurden bereits in großen klinischen Outcome-Studien bestätigt. So konnte in den Studien „ATLAS ACS 2-TIMI 51“ (NCT00809965) und „COMPASS“ (NCT01776424) ein klarer Vorteil für die additive Gabe von Rivaroxaban in Kombination mit ASS bezüglich schwerwiegender kardiovaskulärer Ergebnisse gezeigt werden.⁽⁸³⁻⁸⁵⁾ Die protektiven Effekte traten bereits bei einer niedrigen Dosis des FXa-Inhibitors auf (unterhalb der klassischen Vollantikoagulationsdosis). Pleiotrope PAR-vermittelte Gerinnungs-unabhängige Mechanismen könnten somit zu diesem Effekt beitragen.⁽⁸³⁻⁸⁵⁾

Das Ausmaß des ischämischen Schadens nach einem akuten Koronarsyndrom (ACS) (als Folge von Atherosklerose und koronarer Herzkrankheit, KHK) wird auch durch die kardiomyozytäre mitochondriale Integrität und Funktion bestimmt.⁽⁸⁶⁾ Verantwortlich für den zytosolisch-mitochondrialen Energietransfer ist das Transportprotein Adenin-Nukleotid-Translokase 1 (ANT1).⁽⁸⁷⁾ Es konnte gezeigt werden das PAR-abhängige Signalwege die ROS-Produktion beeinflussen und an der mitochondrialen Dysfunktion involviert sind.⁽⁸⁸⁾ Die Immunantwort im Rahmen eines ACS hat ebenfalls unmittelbare Auswirkung auf die Infarktgröße und das ventrikuläre Remodeling.^(89, 90) Mitochondriale Prozesse der kardialen Energiehomöostase sind in der Lage Immunantworten zu regulieren.⁽⁹¹⁾ Das Zusammenspiel verschiedener Monozyten und Makrophagensubpopulationen muss zeitlich gut abgestimmt sein, um das Ausmaß der entstehenden Herzinsuffizienz (ischämische Kardiomyopathie) zu begrenzen.^(92, 93) Darüber hinaus ist Thrombin in der Lage einen alternativ aktivierten Makrophagensubtyp (sog. M2-Makrophagen) zu induzieren.⁽⁹⁴⁾

1.7.4 Protease-aktivierte Rezeptoren und Herzinsuffizienz

Mit einer Prävalenz von 1-3% hat die Herzinsuffizienz einen signifikanten Einfluss auf die Lebensqualität und die Inanspruchnahme des Gesundheitswesens. Es ist hervorzuheben, dass die Hälfte aller Patientinnen und Patienten mit einer Herzinsuffizienz der Gruppe mit einer erhaltenen Pumpfunktion (heart failure with preserved ejection fraction, HFpEF) zuzuordnen sind. Diagnostische Kriterien sind neben den klinischen Symptomen einer Herzinsuffizienz eine linksventrikuläre Ejektionsfraktion $\geq 50\%$, Nachweis erhöhter natriuretische Peptide und eine in der Bildge-

bung nachweisbare strukturelle (linksventrikuläre Hypertrophie und/oder Dilatation des linken Atriums) oder funktionelle Einschränkung (diastolische Dysfunktion). Als Hauptrisikofaktoren für die Entstehung konnten hierfür bisher das Alter, die arterielle Hypertonie, die Adipositas und die KHK identifiziert werden. Der derzeit stattfindende demografische Wandel wird dazu führen, dass die HFpEF zukünftig die vorherrschende Form der Herzinsuffizienz sein wird.⁽⁹⁵⁾

Für Patientinnen und Patienten mit einer HFpEF existieren bislang nur wenige wirksame Therapiekonzepte. Dies hat eine hohe Morbiditäts- und Mortalitätsrate zur Folge. Die zu beobachtenden unterschiedlichen klinischen Phänotypen der HFpEF sind Ausdruck der Aktivierung verschiedener pathophysiologischer Signalwege. Im Unterschied zur Herzinsuffizienz mit reduzierter Pumpfunktion (HFrEF), verlangt dies noch stärker die Fokussierung auf individualisierte Therapiekonzepte.⁽⁹⁵⁾

Die Zusammensetzung der Extrazellulärmatrix bestimmt über die mechanische kardiale Funktion. Das durch Fibroblasten bzw. Myofibroblasten sezernierte Kollagen ist hierbei insbesondere für die diastolische Funktion bedeutsam.^(96, 97) Ein adverses Remodeling spielt somit eine entscheidende Rolle in der Pathogenese von HFpEF-Patienten mit einem Fibrose-dominanten Phänotyp.⁽⁹⁸⁾ PAR-abhängige Signalwege sind eng mit pro-fibrotischen Vorgängen verknüpft.⁽⁶⁸⁻⁷⁰⁾ PAR1 beispielsweise ist in kardialen Fibroblasten der G-Protein gekoppelte Rezeptor mit der höchsten Expressionsdichte.⁽⁹⁹⁾ Neben den Kollagen-produzierenden kardialen Fibroblasten, beeinflusst auch das durch Makrophagen bestimmte Immunmilieu das Ausmaß der Fibroseentstehung.⁽¹⁰⁰⁾ Die Rezeptordichte von PARs auf myeloiden Zellen wird durch LPS hochreguliert.⁽¹⁰¹⁾

1.8 Zielsetzung

Bereits heute befinden sich direkt (Vorapaxar) oder indirekt (FIIa/FXa-Inhibitoren) PAR-modulierende Therapeutika im klinischen Einsatz.⁽⁸¹⁾ Die Möglichkeit akute und chronische kardiovaskuläre Erkrankungen zielgerichtet durch eine PAR-Inhibition kausal (Barrierestabilisierung im Darm durch pleiotrope Effekte → mikrobielle Translokation↓ → systemische Entzündung↓ → Atherosklerose↓, kardiale Fibrose↓) zu therapieren, würde einen bedeutenden Fortschritt der kardiovaskulären Medizin darstellen.

Ziel war es deshalb,

- a) Den Stellenwert einer prolongierten mukosalen Barrierestörung und MT auf die systemische Entzündungsreaktion anhand eines Krankheitsmodells (M. Whipple) einzuordnen.
- b) Die diagnostische Wertigkeit einer funktionellen Analyse humaner Proben in Bezug auf die Makrophagendifferenzierung zu bestimmen.
- c) Den Zusammenhang von mitochondrialer Funktion, in Abhängigkeit von ANT1 und kardialer Entzündungsreaktion bei der ischämischen Kardiomyopathie zu beschreiben.

- d) Die pleiotropen, Gerinnungs-unabhängigen Effekte von PAR1 in Interaktion mit TLR2/4 auf die vaskuläre Inflammation und Atherosklerose zu charakterisieren.
- e) Die Rolle von PAR1 und PAR2 als Mediatoren der Fibrose-bedingten HFpEF zu evaluieren.
- f) PAR1 und PAR2 als therapeutische Interventionsmöglichkeiten in der Prävention der Atherosklerose und Therapie der HFpEF zu untersuchen.

1.9 Fragestellungen

Aus den vorgestellten Themenkomplexen haben sich folgende Fragestellung ergeben:

Fragestellung 1: Hat das Ausmaß der Barrierestörung Einfluss auf den Grad der MT? Ist eine prolongierte bzw. persistierende MT über eine gestörte Darmbarriere assoziiert mit einer systemisch chronischen Immunrekonstitution?

Fragestellung 2: Kann die Analyse des Argininstoffwechsels Aufschluss über die funktionelle Makrophagendifferenzierung in humanen Bioproben geben?

Fragestellung 3: Verschiebt die Überexprimierung des ANT1 die Immunaktivierung im ischämischen Herzen hin zu alternativ aktivierten Makrophagen?

Fragestellung 4: Vermittelt PAR1 in Abhängigkeit von TLR2/4 Gerinnungs-unabhängige Effekte im Rahmen atherosklerotischer Prozesse? Reduziert der spezifische PAR1-Inhibitor Vorapaxar die vaskuläre Inflammation und Atherosklerose?

Fragestellung 5: Beeinflusst die Expression von PAR2 durch die Interaktion mit PAR1 pro-fibrotische Prozesse in der HFpEF-Pathogenese? Wirken PAR-modulierende Therapeutika anti-fibrotisch und beeinflussen sie die diastolische Dysfunktion bei der HFpEF?

Im folgenden Teil werden die dieser Habilitationsarbeit zugrundeliegenden Veröffentlichungen vorgestellt und die Fragestellungen beantwortet.

2. Eigene Arbeiten

2.1 Das Ausmaß der intestinalen Barrierestörung und mikrobiellen Translokation ist mit einer chronischen Immunaktivierung assoziiert

Wie eingangs dargestellt sind chronisch niedrigschwellige Inflamationsprozesse mit kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert.⁽⁴⁾ In der vorliegenden Arbeit sollte deshalb untersucht werden, inwieweit eine prolongierte MT über eine gestörte Darmbarriere diese Immunantwort unterhalten kann. Der M. Whipple ist zwar eine seltene Erkrankung, eignet sich aber aufgrund seiner primär intestinalen Manifestation und dem charakteristischen lokalem Immunmilieu als Modellerkrankung um die Barrierefunktion zu evaluieren.^(16, 18)

In dieser Arbeit konnten wir zeigen das der Schweregrad (und die Persistenz) der mukosalen Barrierestörung und somit das Ausmaß der MT im Zusammenhang mit der pro-inflammatorischen Antwort während der Immunrestitution stehen.⁽¹⁰²⁾ Das durch alternativ-aktivierte Makrophagen (sog. M2-Makrophagen) bedingte anti-inflammatorische Immunmilieu zusammen mit dem durch den T-Zell Mangel fehlenden Sekundärsignal der myeloiden Aktivierung, könnte die bakterielle Clearancefähigkeit der immunologischen Barriere negativ beeinflussen und das Ausmaß der systemisch wirksamen MT als Treiber der chronischen Inflammation erhöhen.^(23, 102)

Das nachfolgende Abstrakt wurde aus der Originalarbeit übernommen:

„Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS)“⁽¹⁰²⁾

„Abstract:

Background & aims: Classical Whipple's disease (CWD) affects the gastrointestinal tract and causes chronic diarrhea, malabsorption, and barrier dysfunction with microbial translocation (MT). Immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS) is a serious complication during antimicrobial treatment of CWD. The pathomechanisms of IRIS have not been identified and mucosal barrier integrity has not been studied in patients with IRIS CWD.

Methods: In 96 CWD patients (n = 23 IRIS, n = 73 non-IRIS) and 30 control subjects, we analysed duodenal morphology by histology, measured serum markers of MT, and proinflammatory cytokines in biopsy supernatants, and correlated microbial translocation with T cell reconstitution and activation.

Results: Before treatment, duodenal specimens from patients who later developed IRIS exhibited a more pronounced morphological transformation that suggested a disturbed barrier integrity when compared with the non-IRIS group. Villous atrophy was mediated by increased apoptosis of epithelial cells, which was insufficiently counterbalanced by regenerative proliferation of crypt cells. Pretreatment deficiencies in the mucosal secretion of proinflammatory cytokines and chemokines (e.g., IL-6, CCL2) in these patients markedly resolved after therapy induction. High serum levels of lipopolysaccharides (LPS), soluble CD14 (sCD14), and LPS-binding protein (LBP) combined with low endotoxin core antibody (EndoCAb) titres suggested systemic MT in CWD patients developing IRIS. CD4+ T cell count and activation in IRIS CWD patients correlated positively with sCD14 levels and negatively with EndoCAb titres. Furthermore, the degree of intestinal barrier dysfunction and MT was predictive for the onset of IRIS.

Conclusion: Prolonged MT across a dysfunctional intestinal mucosal barrier due to severe tissue damage favors dysbalanced immune reconstitution and systemic immune activation in IRIS CWD. Therefore, the monitoring of inflammatory and MT markers in CWD patients might be helpful in identifying patients who are at risk of developing IRIS. Therapeutic strategies to reconstitute the mucosal barrier and control inflammation could assist in the prevention of IRIS.”

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622. <https://doi.org/10.1002/iid3.622>

2.2 Die Analyse des Argininstoffwechsels gibt Aufschluss über die funktionelle Makrophagendifferenzierung in humanen Probenmaterial

Monozyten und Makrophagen übernehmen nicht nur die Clearance von Pathogenen (z.B. im Rahmen der MT), sondern stellen auch eine wichtige Immunzellpopulation im kardiovaskulären Krankheitskontinuum dar. Bei den gewebsständigen Makrophagen lassen sich deutlich vereinfacht zwei Subpopulationen unterscheiden. Während die klassischen Makrophagen (sog. M1-Makrophagen) allgemein pro-inflammatorische Funktionen zugeschrieben werden, sind die alternativ aktivierten (sog. M2) Makrophagen eher mit regenerativ/repurativen Vorgängen assoziiert. Die Polarisierung kann somit Einfluss auf den Verlauf einer Erkrankung nehmen.⁽⁹³⁾ Die Bestimmung der funktionellen Makrophagendifferenzierung (über die Messung von Oberflächenmarkern oder Zytokinmustern hinaus) könnte deshalb von Bedeutung für die Diagnostik sein. In dieser Arbeit konnten wir die Analyse der Argininverstoffwechslung in humanen Bioproben als ein leicht anzuwendendes diagnostisches Instrument für die Charakterisierung der M2-Immunantwort identifizieren.^(103, 104)

Das nachfolgende Abstrakt wurde aus der Originalarbeit übernommen:

„Evaluation of arginine metabolism for the analysis of M1/M2 macrophage activation in human clinical specimens“⁽¹⁰³⁾

„Abstract:

Background: Macrophage heterogeneity reflects their plasticity in response to environmental stimuli. Usually human macrophages are characterized by analysis of surface molecules or cytokine expression while functional assays are established in the mouse system but lacking for various human specimens.

Methods: To evaluate the value of analysis of arginine metabolism for characterization of human macrophage differentiation, we analyzed nitrite production and arginase activity in plasma, duodenal biopsies, and in vitro differentiated macrophages of patients with classical Whipple's disease.

Results: We demonstrate that it is feasible to determine the content of urea in supernatants of stimulated duodenal biopsies, arginase activity in fresh duodenal biopsies and plasma samples, and arginase activity and nitrite production in lysates and supernatants of in vitro differentiated

macrophages. However, only selected tests are appropriate to define macrophage polarization in human specimens.

Conclusion: Analysis of arginine metabolism is not suitable for the characterization of in vitro differentiated human macrophages. Besides the measurement of nitrite in duodenal biopsy supernatants, the determination of arginase activity in human plasma seems to be a reasonable functional test to detect enhanced M2 macrophage activation and, thus, is of great value for the analysis of macrophage activity with a minimum of material and costs.”

Geelhaar-Karsch A, Schinnerling K, Conrad K, Friebel J, Allers K, Schneider T, Moos V. Evaluation of arginine metabolism for the analysis of M1/M2 macrophage activation in human clinical specimens. *Inflammation research*.2013;62(9):865-9. <https://doi.org/10.1007/s00011-013-0642-z>

Geelhaar-Karsch A, Schinnerling K, Conrad K, Friebel J, Allers K, Schneider T, Moos V. Evaluation of arginine metabolism for the analysis of M1/M2 macrophage activation in human clinical specimens. *Inflammation research*.2013;62(9):865-9. <https://doi.org/10.1007/s00011-013-0642-z>

Geelhaar-Karsch A, Schinnerling K, Conrad K, Friebel J, Allers K, Schneider T, Moos V. Evaluation of arginine metabolism for the analysis of M1/M2 macrophage activation in human clinical specimens. *Inflammation research*.2013;62(9):865-9. <https://doi.org/10.1007/s00011-013-0642-z>

Geelhaar-Karsch A, Schinnerling K, Conrad K, Friebel J, Allers K, Schneider T, Moos V. Evaluation of arginine metabolism for the analysis of M1/M2 macrophage activation in human clinical specimens. *Inflammation research*.2013;62(9):865-9. <https://doi.org/10.1007/s00011-013-0642-z>

Geelhaar-Karsch A, Schinnerling K, Conrad K, Friebel J, Allers K, Schneider T, Moos V. Evaluation of arginine metabolism for the analysis of M1/M2 macrophage activation in human clinical specimens. *Inflammation research*.2013;62(9):865-9. <https://doi.org/10.1007/s00011-013-0642-z>

2.3 Die Überexpression des ANT1 im Herzen verschiebt die Immunaktivierung im ischämischen Herzen hin zu alternativ aktivierten Makrophagen

Mitochondriale Dysfunktion und die Produktion von ROS sind pathomechanistische Elemente kardiovaskulärer Erkrankungen.^(86, 87, 91) Das Mikrobiom kann direkt und indirekt Einfluss auf die mitochondriale Integrität nehmen.⁽¹⁰⁵⁾ Wir untersuchten deshalb den Zusammenhang zwischen mitochondrialer Funktion und Immunantwort im Herzen.

Die kardiale Überexpression des in den mitochondrialen Energiestoffwechsels eingebundenen ANT1 moduliert über Zwischenschritte die inflammatorische Reaktion nach einem Myokardinfarkt (ACS). Es ließ sich eine Verschiebung hin zu M2-Makrophagen beobachten. Dies war mit einem besseren Überleben und einem geringeren Maß der Herzinsuffizienz assoziiert. Es ist davon auszugehen, dass dies mit einer reduzierten Infarktgröße zusammenhängen muss. Die beobachtete M2-Polarisation könnte Folge der ANT1-abhängigen Sekretion von anti-inflammatorischen Zytokinen sein.⁽¹⁰⁶⁾

Der Anhang der Originalarbeit⁽¹⁰⁶⁾ ist zu dem Artikel auf der Internetseite des Verlages verfügbar unter: <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Das nachfolgende Abstrakt wurde aus der Originalarbeit übernommen:

„Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts”⁽¹⁰⁶⁾

„Abstract:

Adenine nucleotide translocase 1 (ANT1) transfers ATP and ADP over the mitochondrial inner membrane and thus supplies the cell with energy. This study analyzed the role of ANT1 in the immune response of ischemic heart tissue. Ischemic ANT1 overexpressing hearts experienced a shift toward an anti-inflammatory immune response. The shift was characterized by low interleukin (IL)-1 β expression and M1 macrophage infiltration, whereas M2 macrophage infiltration and levels of IL-10, IL-4, and transforming growth factor (TGF β) were increased. The modulated immune response correlated with high mitochondrial integrity, reduced oxidative stress, low left ventricular end-diastolic heart pressure, and a high survival rate. Isolated ANT1-transgenic (ANT1-TG) cardiomyocytes expressed low levels of pro-inflammatory cytokines such as IL-1 α , tumor necrosis factor α , and TGF β . However, they showed increased expression and cellular release of anti-inflammatory immunomodulators such as vascular endothelial growth factor. The secretome

from ANT1-TG cardiomyocytes initiated stress resistance when applied to ischemic wild-type cardiomyocytes and endothelial cells. It additionally prevented macrophages from expressing pro-inflammatory cytokines. Additionally, ANT1 expression correlated with genes that are related to cytokine and growth factor pathways in hearts of patients with ischemic cardiomyopathy. In conclusion, ANT1-TG cardiomyocytes secrete soluble factors that influence ischemic cardiac cells and initiate an anti-inflammatory immune response in ischemic hearts.”

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8). <https://doi.org/10.3390/cells10082130>

2.4 Der Protease-aktivierte Rezeptor 1 beeinflusst die TLR2/4-Expression und reguliert dadurch Prozesse der vaskulären Inflammation und Atherogenese – PAR1 Inhibition ist ein therapeutisches Ziel

Wir konnten bislang darstellen, dass die MT entscheidend zur chronischen Immunaktivierung beiträgt und dass dies direkt oder indirekt Einfluss auf kardiale Erkrankungsprozesse haben kann. Dem Myokardinfarkt (und weiteren akuten atherothrombotischen Ereignissen wie dem ischämischen Schlaganfall) geht die Atherosklerose voraus. Die Aktivierung von TLRs (u.a. als Immunantwort infolge einer verstärkten MT) vermittelt neben der vaskulären Inflammation und Atherogenese auch akute adverse vaskuläre Ereignisse.⁽⁴⁾ Da gezeigt worden ist, dass PAR-Signalwege über kooperative Effekte mit der angeborenen Immunität verbunden sind, wurde dies nun im Rahmen der de-novo Atherogenese untersucht.⁽⁷²⁾ PAR1 war mit TLR2/4 kolokalisiert und korrelierte positiv mit dessen Expressionsgrad. Der spezifische PAR1-Inhibitor Vorapaxar konnte die beobachteten Effekte umkehren und wirkte anti-atherogen.⁽¹⁰⁷⁾ PAR1 könnte somit durch die Modulation der TLR2/4-Expression, die Immunantwort auf eine verstärkte MT (die bei Atherosklerose-assoziierten Erkrankungen besteht) beeinflussen. Es ist davon auszugehen, dass im Gefäßsystem PAR1 und TLR2/4 synergistisch wirken und dadurch akute und chronische kardiovaskuläre Erkrankungsprozesse vermitteln.

Der Anhang der Originalarbeit⁽¹⁰⁷⁾ ist zu dem Artikel auf der Internetseite des Verlages verfügbar unter: <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Das nachfolgende Abstrakt wurde aus der Originalarbeit übernommen:

„Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation”⁽¹⁰⁷⁾

„Abstract:

Background: Protease-activated receptor 1 (PAR1) and toll-like receptors (TLRs) are inflammatory mediators contributing to atherogenesis and atherothrombosis. Vorapaxar, which selectively antagonizes PAR1-signaling, is an approved, add-on antiplatelet therapy for secondary prevention. The non-hemostatic, platelet-independent, pleiotropic effects of vorapaxar have not yet been studied.

Methods and results: Cellular targets of PAR1 signaling in the vasculature were identified in three patient cohorts with atherosclerotic disease. Evaluation of plasma biomarkers (n = 190) and

gene expression in endomyocardial biopsies (EMBs) (n = 12) revealed that PAR1 expression correlated with endothelial activation and vascular inflammation. PAR1 colocalized with TLR2/4 in human carotid plaques and was associated with TLR2/4 gene transcription in EMBs. In addition, vorapaxar reduced atherosclerotic lesion size in apolipoprotein E-knock out (ApoEko) mice. This reduction was associated with reduced expression of vascular adhesion molecules and TLR2/4 presence, both in isolated murine endothelial cells and the aorta. Thrombin-induced uptake of oxLDL was augmented by additional TLR2/4 stimulation and abrogated by vorapaxar. Plaque-infiltrating pro-inflammatory cells were reduced in vorapaxar-treated ApoEko mice. A shift toward M2 macrophages paralleled a decreased transcription of pro-inflammatory cytokines and chemokines.

Conclusions: PAR1 inhibition with vorapaxar may be effective in reducing residual thrombo-inflammatory event risk in patients with atherosclerosis independent of its effect on platelets.”

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glaben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glaben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Nowak F, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517. <https://doi.org/10.3390/cells10123517>

2.5 PAR1 und PAR2 regulieren die kardiale Inflammation und Fibrose in der HFpEF-Pathogenese und sind ein therapeutisches Ziel

Eine chronische kardiale Ischämie durch eine Atherosklerose-bedingte koronare Mikro- oder Makroangiopathie und Vorgänge des sog. pathologischen Alterns tragen maßgeblich zur Entstehung der kardialen Fibrose bei. Dies ist eng mit der diastolischen Dysfunktion und Entstehung der HFpEF assoziiert. Eine erhöhte Endothelaktivierung und inflammatorische Antwort kennzeichnen die immunologische Reaktion. Eine Dysbiose wurde ebenfalls bei Patientinnen und Patienten mit HFpEF beobachtet.^(56, 98, 108) Interessanterweise konnte in einer aktuellen Arbeit auch der Zusammenhang einer PAR2-Defizienz mit einer intestinalen Barrierestörung gezeigt werden.⁽¹⁰⁹⁾ Wir untersuchten deshalb altersabhängigen Mechanismen in PAR2-defizienten (PAR2ko) Mäusen.⁽¹¹⁰⁾ PAR2 beeinflusst die pathologische Kollagenproduktion in kardialen Fibroblasten durch Regulation der pro-fibrotischen Rezeptoren PAR1 und TGF- β -Rezeptor (TGF- β R).⁽¹¹⁰⁾ Die Pathogenese der HFpEF war bislang nur unzureichend verstanden. Dementsprechend fehlten Therapieoptionen, die mit einer Prognoseverbesserung einhergingen (mit Ausnahme der erst kürzlich zugelassenen SGLT2-Inhibitoren).⁽⁹⁵⁾ Insofern ergeben sich aus dieser Arbeit auch mögliche therapeutische Implikationen, denn die therapeutische Intervention mittels direkter (Vorapaxar, Mausmodell) oder indirekter (FXa-Inhibitor, humane Beobachtungsstudie) PAR-Inhibitoren, zeigte antifibrotische Effekte und verbesserte die diastolische Funktion.⁽¹¹⁰⁾

Der Anhang der Originalarbeit⁽¹¹⁰⁾ ist zu dem Artikel auf der Internetseite des Verlages verfügbar unter: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Das nachfolgende Abstrakt wurde aus der Originalarbeit übernommen:

„Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction”⁽¹¹⁰⁾

„Abstract:

Aims: Heart failure with preserved ejection fraction (HFpEF) and pathological cardiac aging share a complex pathophysiology, including extracellular matrix remodelling (EMR). Protease-activated receptor 2 (PAR2) deficiency is associated with EMR. The roles of PAR1 and PAR2 have not been studied in HFpEF, age-dependent cardiac fibrosis, or diastolic dysfunction (DD).

Methods and results: Evaluation of endomyocardial biopsies from patients with HFpEF (n = 14) revealed that a reduced cardiac PAR2 expression was associated with aggravated DD and increased myocardial fibrosis ($r = -0.7336$, $P = 0.0028$). In line, 1-year-old PAR2-knockout (PAR2ko) mice suffered from DD with preserved systolic function, associated with an increased age-dependent α -smooth muscle actin expression, collagen deposition (1.7-fold increase, $P = 0.0003$), lysyl oxidase activity, collagen cross-linking (2.2-fold increase, $P = 0.0008$), endothelial activation, and inflammation. In the absence of PAR2, the receptor-regulating protein caveolin-1 was down-regulated, contributing to an augmented profibrotic PAR1 and transforming growth factor beta (TGF- β)-dependent signalling. This enhanced TGF- β /PAR1 signalling caused N-proteinase (ADAMTS3) and C-proteinase (BMP1)-related increased collagen I production from cardiac fibroblasts (CFs). PAR2 overexpression in PAR2ko CFs reversed these effects. The treatment with the PAR1 antagonist, vorapaxar, reduced cardiac fibrosis by 44% ($P = 0.03$) and reduced inflammation in a metabolic disease model (apolipoprotein E-ko mice). Patients with HFpEF with upstream PAR inhibition via FXa inhibitors (n = 40) also exhibited reduced circulating markers of fibrosis and DD compared with patients treated with vitamin K antagonists (n = 20).

Conclusions: Protease-activated receptor 2 is an important regulator of profibrotic PAR1 and TGF- β signalling in the heart. Modulation of the FXa/FIIa-PAR1/PAR2/TGF- β -axis might be a promising therapeutic approach to reduce HFpEF.”

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J.* 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J.* 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J.* 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J.* 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

Friebel J, Weithauser A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz117>

3. Diskussion

Im Rahmen der Diskussion werden folgende drei Aspekte aufgegriffen:

- Inflammation als Therapieziel bei kardiovaskulären Erkrankungen
- Dysbiose, Barrierestörung und MT als Therapieziel(e) bei kardiovaskulären Erkrankungen
- PARs-gerichtete Therapeutika in der kardiovaskulären Medizin

3.1 Inflammation als Therapieziel bei kardiovaskulären Erkrankungen

Immunaktivierung und Inflammation sind zentrale Elemente in der Pathogenese kardiovaskulärer Erkrankungen. Wie eingangs dargelegt stehen diese im Zusammenhang mit dysbiotischen Veränderungen und einer vermehrten MT.⁽⁴⁾ Entsprechend werden große Anstrengungen in der Forschung unternommen, die Entzündungskaskade gezielt zu unterbrechen. Fehlende einheitlichen Definitionen über den Begriff „Entzündung“ und teilweise unerwünschte Effekte, verhindern bislang den Einzug anti-inflammatorischer Therapien in den breiten klinischen Alltag.^(6, 25, 111, 112) Anhand von zwei Beispielerkrankungen (Atherosklerose und Herzinsuffizienz) soll nun im folgenden Abschnitt deren aktueller Einsatz und Stellenwert diskutiert werden.

3.1.1 Anti-inflammatorische Therapie und Atherosklerose

Wesentliche Therapieziele, gemäß den aktuellen Leitlinien, in der Sekundärprävention bei Patientinnen und Patienten mit Atherosklerose-bedingten kardiovaskulären Erkrankungen sind:

- Lebensstilmodifikation (einschl. Ernährungs- und Bewegungsinterventionen)
- LDL-Reduktion
- Blutdruckeinstellung
- Anti-thrombotische Therapie⁽¹⁾

Sind die klassischen Risikofaktoren durch eine adäquate Therapie adressiert, muss in der Sekundärprävention darüber hinaus ein residuales kardiovaskuläres Risiko evaluiert werden, welches dann ggf. ebenfalls therapeutisch angegangen werden sollten.⁽¹⁾ Das Residualrisiko bezieht sich dabei auf:

- Cholesterin (LDL >100mg/dl)
- Triglyceride (TG >200mg/dl)
- Lipoprotein a - Lp(a) > 50mg/dl)
- Pro-thrombotischer Status (bislang kein etablierten Biomarker)
- Inflammation (u.a. hochsensitives C-reaktives Protein, hsCRP >(1)2mg/l)^(70, 113, 114)

Bei CRP handelt es sich um ein Akute-Phase-Protein welches in der Leber durch entzündliche Stimuli (infektiöser und nichtinfektiöser Genese) vermehrt gebildet wird. Hierbei spielen insbesondere Interleukin-6 (IL-6) und bakterielle Infektionen (auch durch eine MT-bedingt) eine Rolle. In der kardiovaskulären Medizin hat sich hsCRP als leicht zu messender Biomarker des residuellen inflammatorischen Risikos etabliert. Eine chronische niedrigschwellige Erhöhung, d.h. Werte $>(1)2\text{mg/l}$, gehen mit einer erhöhten MACE-Rate einher. Die Reduktion von hsCRP wiederum war auch mit einem reduzierten Rate adverser Ereignisse assoziiert.^(112, 115)

Makrophagen stellen die größte Immunzellpopulation in atherosklerotischen Plaques. Im Rahmen der Atherogenese nehmen residente Makrophagen Lipide auf und bestimmen zusammen mit den immigrierenden (sowie den lokal profilierenden) Makrophagen das Immunmilieu. Auch die Progression der Atherosklerose (qualitativ und quantitativ) ist eng mit der durch die Makrophagen geprägten Immunantwort verknüpft. Die Aktivierung des NLRP3-Inflammasoms in Makrophagen ist Teil der angeborenen Immunantwort. Dies beinhaltet das Erkennen von PAMPs oder sog. Damage-associated molecular pattern (DAMPs, in Folge eines Gewebes Schadens) durch PRRs. Cholesterolkristalle, oxidiertes LDL und LPS (via TLR4) initiieren die Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine wie Interleukin-1 β (IL-1 β \rightarrow IL-6 \rightarrow CRP). Diese Erkenntnisse haben dann durch den Einsatz von Canakinumab und Colchicin eine entsprechende klinische Translation gefunden.^(89, 112, 115)

In der „CANTOS“ Studie („Canakinumab Anti-Inflammatory Thrombosis Outcome Study“) (NCT01327846) wurde gezeigt, dass der Einsatz des anti-IL-1 β Antikörpers Canakinumab in der Sekundärprävention (zusätzlich zur Standardmedikation) die MACE-Rate reduzieren konnte. Es handelte sich hierbei um selektierte Patientinnen und Patienten mit einer chronischen KHK >30 Tage nach einem Myokardinfarkt und einem hsCRP $>2\text{mg/l}$. Allerdings war dieser Therapieansatz mit einem Anstieg von viralen und bakteriellen Infektionen verbunden. Außerdem ließ sich kein Effekt auf die Gesamtmortalität nachweisen.⁽¹¹⁶⁾ Insofern erscheint es notwendig, das entzündliche Prozesse in diesem Kontext noch spezifischer modelliert werden müssen.

Colchicin (Wirkung ebenfalls u.a. auf IL-1 β Signalweg) zeigte in drei klinischen Endpunktstudien einen protektiven Effekt: „LoDoCo“ („Low Dose Colchicine for Secondary Prevention of Cardiovascular Disease“) (ACTRN 12610000293066), „LoDoCo2“ (ACTRN12614000093684), „COLCOT“ („Colchicine Cardiovascular Outcomes Trial“) (NCT02551094).⁽¹¹⁷⁻¹¹⁹⁾ Entsprechend räumt die aktuelle europäische Leitlinie („2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice“) einen gewissen Stellenwert („kann erwogen werden, Empfehlungsrad Klasse IIb, Evidenzlevel A“) für Colchicin in der Sekundärprävention von ausgewählten Patientinnen und Patienten mit einer Hochrisikokonstellation.⁽¹⁾ Wobei diese Patientengruppe bislang noch nicht gut definiert ist. Anzumerken ist hierbei auch die unterschiedliche Pathogenese akuter kardialer atherothrombotischer Ereignisse. Klassische Indikatoren entzündlicher Vorgänge (u.a.

erhöhtes CRP) finden sich häufiger beim akuten Koronarsyndrom auf dem Boden einer Plaqueruptur verglichen mit der Plaqueeosion.^(120, 121) Eine anti-inflammatorische Therapie könnte deshalb möglicherweise in dieser Patientensubgruppe einen größeren präventiven Nutzen haben. Die Ergebnisse einer experimentellen Studie verdeutlichen außerdem beispielhaft wie komplex die Zusammenhänge von Entzündung und Atherosklerose sind. Es wurde gezeigt, dass M2-Makrophagen für eine Plaqueregression verantwortlich sind, diese sich jedoch aus zirkulierenden pro-inflammatorischen Monozyten rekrutieren.⁽¹²²⁾ Weitere Studien sind deshalb erforderlich, um die anti-inflammatorische Therapie als Säule der Sekundärprävention atherosklerotischer Erkrankungen zu etablieren.

3.1.2 Anti-inflammatorische Therapie und Herzinsuffizienz

Der Fokus der bislang abgeschlossenen klinischen Endpunktstudien in Bezug auf anti-inflammatorische Interventionen, lag in der Reduktion akuter atherothrombotischer Ereignisse.⁽¹²³⁾ Interessanterweise wurde in einer Substudie von „COLCOT“ gezeigt, dass insbesondere der frühe Einsatz von Colchicin nach einem Myokardinfarkt (\leq Tag 3) MACE reduzieren konnte.⁽¹²⁴⁾ Dieser protektive Nutzen einer frühen Gabe von Colchicin in Bezug auf MACE konnte allerdings nicht für die Reduktion der Infarktgröße nachvollzogen werden. Das Ausmaß des in dieser Studie untersuchten adversen linksventrikulären (LV) Remodellings, unterschied sich nicht zwischen der Interventions- und Kontrollgruppe.⁽¹²⁵⁾ Auch eine weitere klinische Studie (mit Anakinra, Interleukin-1 Rezeptorantagonist) in einer vergleichbaren Patientengruppe, wies keinen Unterschied in Bezug auf makroskopische Remodelling- und Herzinsuffizienzparameter wie LV enddiastolisches Volumen, LV endsystolisches Volumen, Schlagvolumen und Ejektionsfraktion (LVEF), nach.⁽¹²⁶⁾ Sowohl in „COVERT-MI“ („Colchicine for Left Ventricular Infarct Size Treatment“) (NCT03156816) als auch „VCUART3“ („Virginia Commonwealth University Anakinra Remodeling Trial 3“) (NCT01950299) wurde allerdings keine Aussage zur kardialen Fibrose getroffen. Drei wesentliche Kritikpunkte lassen sich in diesen Studien identifizieren: keine Unterscheidung in Bezug auf pathomechanistisches Korrelat der ischämischen Genese (Ruptur vs. Erosion), fehlender mittel- und langfristiger Verlauf, keine Differenzierung HFrEF und HFpEF.

Mehrere kleine klinische Studien bzw. Substudien die eine Vorselektion von HFrEF und HFpEF vornahmen, konnten wiederum einen positiven Effekt zeigen. Als Endpunkte wurden hier verschiedene Herzinsuffizienzparameter gewählt: LVEF, Belastbarkeit, maximale Sauerstoffaufnahme (VO₂max). Untersucht wurden: Anakinra, Canakinumab und Dapansutril.⁽¹²³⁾ Es muss außerdem angemerkt werden dass diese Studien ihre Patientinnen und Patienten nicht direkt nach einem akuten Myokardinfarkt rekrutierten. Der frühe Einsatz (nach einem Myokardinfarkt) von auf das NLP3-Inflammasom gerichteter anti-inflammatorischer Therapieansätze zur Reduktion der Herzinsuffizienz bzw. assoziierter Symptome erscheint aktuell nicht gerechtfertigt. Es ist somit

plausibel, dass ein zeitlich, qualitativ und quantitativ regulierter entzündlicher Prozess nach einem Myokardinfarkt für eine suffiziente myokardiale Regeneration notwendig ist. Ohne Reperfusion ist die akute Herzinsuffizienz allerdings mit dem Ausmaß der M1-Makrophageninfiltration assoziiert, wie wir in unserer Arbeit zeigen konnten.⁽¹⁰⁶⁾ Eine dysregulierte M2-vermittelte Antwort u.a. über das pro-fibrotisch wirkende Zytokin TGF- β könnte ein adverses Remodelling mit überschießender kardialer Fibrose und somit Herzinsuffizienz fördern.⁽⁹²⁾ Der exakte Zeitpunkt, die genauen Voraussetzungen und entsprechende Indikatoren unter denen eine anti-inflammatorische Therapie initiiert werden sollte (und wie lange sie fortgesetzt wird) bedarf noch weiterer Studien.

3.2 Dysbiose, Barrierestörung und MT als Therapieziel(e) bei kardiovaskulären Erkrankungen

Anti-inflammatorische Therapiekonzepte für kardiovaskuläre Erkrankungen wurden wie oben dargestellt bereits in Phase III Studien untersucht und vereinzelt auch in den Leitlinien implementiert.⁽¹⁾ Interventionen in Bezug auf die Darm-Herz-Achse (um die Ursache der Inflammation direkt zu therapieren) sind aktuell noch nicht bis in dieses Stadium fortgeschritten. Dies liegt nicht zuletzt darin begründet das die Erkenntnis wonach Erkrankungen nichtintestinaler Organsysteme mit dysbiotischen Veränderungen einhergehen, sich erst in den letzten Jahren durchgesetzt hat.

Folgende Therapieansatzpunkte werden diskutiert:

- Diät
- Probiotika
- Prebiotika
- Lokale, nicht resorbierbare Antibiotika
- Stuhltransfer
- Gezielte mikrobielle Enzymhemmung
- Pleiotrope Arzneimittelleffekte⁽⁴⁸⁾

Die Modifikation von Lebensstilfaktoren, insbesondere der Ernährungszusammenstellung, ist im Fokus der bisherigen Studien.⁽¹²⁷⁻¹²⁹⁾ Klinische, adäquat designte Endpunktstudien fehlen aber bislang. Die Ergebnisse gewonnen aus präklinischen Studien, konnten ebenfalls bislang nicht in Evidenz klinischer Studien translatiert werden, ein Umstand der sicher nicht zuletzt in der Komplexität des Mikrobioms und den mannigfaltigen Interaktionen begründet liegt. Die derzeitige Studienlage rechtfertigt deshalb aktuell noch nicht den gezielten Einsatz einer der o.g. Interventionen zur Reduktion der Dysbiose, Barrierestörung und MT in Bezug zur Sekundärprävention kardiovaskulärer Erkrankungen. Hieraus ergibt sich die Notwendigkeit für die Evaluation spezifischer und zielgerichteter Therapieoptionen.

3.3 Stellenwert von auf PARs-gerichteten Therapeutika in der kardiovaskulären Medizin

Auf PARs-gerichtete Therapeutika wurden primär entwickelt, um Gerinnungsprozesse der primären und sekundären Hämostase zu unterbinden. Grundsätzlich können zwei verschiedene Therapieprinzipien unterschieden werden. Direkt, d.h. unmittelbar am Rezeptor ansetzend und indirekt, d.h. an übergeordneten Aktivierungswegen.⁽⁷⁰⁾

Vorapaxar ist der einzige sich im klinischen Einsatz befindliche selektive PAR1-Antagonist. Vorapaxar besitzt eine Zulassung der Food and Drug Administration (FDA) und European Medicines Agency (EMA). Er kann als Add-on Thrombozytenaggregationshemmer in der Sekundärprävention bei Patientinnen und Patienten mit KHK und/oder pAVK zum Einsatz kommen.⁽¹³⁰⁾ Die Aktivierung der Thrombozyten soll dabei an der Schnittstelle von primärer und sekundärer Hämostase in der sog. Amplifikations- und Propagationsphase unterbunden werden (Thrombinwirkung = plasmatische Gerinnung, auf PAR1 der Thrombozyten = primäre Hämostase).⁽¹³¹⁾ Die Zulassung beruhte auf den Ergebnissen der „TRA 2P–TIMI 50“ Studie („Trial to Assess the Effects of Vorapaxar (SCH 530348; MK-5348) in Preventing Heart Attack and Stroke in Patients With Atherosclerosis“) (NCT00526474).⁽¹³²⁾

Mit FIIa/FXa-Inhibitoren (nicht-Vitamin-K-antagonistische orale Antikoagulanzen, NOAKs) (Apixaban, Dabigatran, Edoxaban, Rivaroxaban) stehen PAR-modulierende Therapeutika zur Verfügung. Klassisches Indikationsgebiet ist die Schlaganfallprophylaxe.^(68-70, 81, 82)

Vitamin-K-Antagonisten (VKA) (Phenprocoumon, Warfarin) hemmen die γ -Carboxylierung der Gerinnungsfaktoren FII, FVII, FIX, FX in der Leber. Infolge eines prokoagulatorischen Stimulus vermindert sich dann die Konzentration der aktiven Gerinnungsproteasen (FIIa, FVIIa, FIXa, FXa) worauf ihre antikoagulatorische Wirkung beruht. Interessanterweise behalten diese Faktoren (FIIa, FXa) jedoch ihre Fähigkeit bei PAR-Signalwege zu aktivieren. Im Gegensatz dazu reduzieren FIIa/FXa-Inhibitoren die Aktivität bereits aktivierter Proteasen und dadurch auch die Wirkung auf PARs.^(68, 69, 81) Es bleibt abzuwarten welchen Stellenwert Inhibitoren des noch weiter vorge-schalteten FXIa einnehmen werden.⁽¹³³⁾

3.3.1 PAR-gerichtete Therapeutika reduzieren die kardiovaskuläre Inflammation

Thromboinflammation ist das komplexe Zusammenspiel von Gerinnungs- und Immunsystem. Die Hämostasekaskade ist eng mit pro-inflammatorischen Prozessen verknüpft. Kernelemente hierbei sind: Tissue factor, FXa und Thrombin (FIIa). Die Aktivierung der Gerinnungs- und Entzündungskaskade (Thromboinflammation) ist zentraler Bestandteil der Atherogenese und Auslöser akuter thrombotischer und thromboembolischer Ereignisse. Gleichzeitig vermittelt deren Aktivie-

rung aber auch adverses Remodelling der Extrazellulärmatrix (insbesondere vaskuläre und kardiale Fibrose) als Grundlage chronisch kardiovaskulärer Erkrankungen. Die akute und chronische Thromboinflammation wird durch Gerinnungsfaktoren und deren Rezeptoren auf zellulärer Ebene (PARs) maßgeblich reguliert.^(68-70, 81, 82)

In den letzten Jahren wurde auch Gerinnungs-unabhängige, sog. pleiotrope, Effekte von (v.a. indirekt wirkenden) PARs-gerichteten Therapien diskutiert. Dies wird bereits durch zahlreiche präklinische Modelle und kleinere Beobachtungsstudien gestützt. Folgende wesentliche Effekte konnten hier identifiziert werden:

- Verminderte Endothelaktivierung und Thrombogenität
- Reduktion der Atheroskleroseprogression und de-novo Atherogenese
- Plaquestabilisierung durch anti-inflammatorische Mechanismen
- Verminderung des Reperfusionsschadens nach Myokardinfarkt
- Reduktion der kardialen Fibrose
- Reduktion kardialer Hypertrophie^(68-70, 81, 82)

Die von uns erzielten Ergebnisse unterstützen diese Erkenntnisse in Bezug auf anti-inflammatorische, vaskuloprotektive und anti-fibrotische Eigenschaften von PARs-wirksamen Therapien.^(107, 110)

Wie lassen sich diese Effekte nun in die Klinik übertragen? Die protektiven Eigenschaften einer Inhibition übergeordneter Signalwege (FXa-Inhibition durch Rivaroxaban) in Bezug auf atherothrombotische Ereignisse, wurden bereits in großen klinischen Outcome-Studien bestätigt. Hier wurde der Ansatz der sog. dual pathway inhibition (DPI) untersucht, d.h. ein Therapieansatz der sowohl auf die primäre Hämostase (Thrombozytenaggregation durch ASS und FXa-Inhibitor) als auch die Gerinnungsproteasen der sekundären Hämostase (FXa-Inhibition) wirkt.^(81, 84, 134)

So konnte in den Studien „ATLAS ACS 2-TIMI 51“ („Anti-Xa Therapy to Lower Cardiovascular Events in Addition to Standard Therapy in Subjects with Acute Coronary Syndrome-Thrombolysis in Myocardial Infarction 51“) (NCT00809965) und „COMPASS“ („Cardiovascular Outcomes for People Using Anticoagulation Strategies“) (NCT01776424) ein klarer Vorteil für die additive Gabe von Rivaroxaban in Kombination mit ASS bezüglich schwerwiegender kardiovaskulärer Ergebnisse nach einem ACS bzw. bei stabiler KHK gezeigt werden. Das zur Reduktion adverser ischämischer Folgeereignisse eine niedrige Dosis des FXa-Inhibitors (sog. vaskuläre Dosierung = unterhalb der Vollantikoagulationsdosis) ausreichend war, unterstreicht die Bedeutung möglicher pleiotroper Gerinnungs-unabhängiger Effekte von FXa-Inhibitoren. Allerdings muss erwähnt werden, dass es unter diesem kombinierten dualen Therapieansatz (verständlicherweise) zu einer erhöhten Blutungsrate kam. Eine kritische Patientenauswahl ist hier deshalb besonders wichtig.

Die größte Effektstärke ließ sich bei Patientinnen und Patienten mit einem ausgeprägten kardiovaskulärem Risikoprofil beobachten. Dies waren Patientinnen und Patienten mit polyvaskulären Erkrankungen (z.B. pAVK + KHK), chronischer Niereninsuffizienz und Diabetes mellitus. Interessanterweise bezog sich dies auch auf die Gruppe mit einer LVEF >40%.⁽⁸³⁻⁸⁵⁾ Obwohl nicht explizit untersucht, könnten dies Patientinnen und Patienten mit einer HFpEF sein.

Auch „VOYAGER PAD“ („Vascular Outcomes Study of ASA Along with Rivaroxaban in Endovascular or Surgical Limb Revascularization for PAD“) (NCT02504216) zeigte das ein dualer Therapieansatz bei Patientinnen und Patienten mit einer pAVK MACE reduzieren konnte, ein Effekt der primär durch die Reduktion peripherer ischämischer Ereignisse vermittelt wurde.⁽¹³⁵⁾

Diese Ergebnisse wurden in der europäischen Leitlinie wie folgt umgesetzt: „[Ein DPI-Therapieansatz mit Add-on] Rivaroxaban (in reduzierter Dosierung) sollte bei Patientinnen und Patienten mit einem hohen ischämischen Risiko (und kann bei moderatem) (bei gleichzeitig niedriger Blutungswahrscheinlichkeit) für die Sekundärprävention erwogen werden (Empfehlungsgrad Klasse IIa Evidenzlevel Grad A bzw. IIb Grad A)“.⁽¹⁾

In der „MANAGE“ Studie („Management of Myocardial Injury After Noncardiac Surgery Trial“) (NCT01661101) erwies sich der Einsatz von Dabigatran (FIIa-Inhibitor) in einer kardiovaskulär Hoch-Risiko-Gruppe zur Sekundärprävention, ebenfalls als protektiv.^(136, 137)

Fokus der klinischen Endpunktstudien war allerdings die Reduktion atherothrombotischer Ereignisse. Durch eine PAR-Inhibition vermittelte, pleiotrope Gerinnungs-unabhängige Mechanismen (= anti-inflammatorische Effekte) könnten zu diesen vaskuloprotektiven Effekten beigetragen haben. So konnten wir zeigen das bei Patientinnen und Patienten mit einer chronischen KHK, die FIIa-vermittelte PAR1-Aktivität mit Biomarkern der Endothelaktivierung und vaskulären Inflammation assoziiert war. Außerdem korrelierte die myokardiale PAR1-Expression mit Markern der Thromboinflammation.⁽¹⁰⁷⁾ Eine retrospektive Analyse zeigte, dass eine indirekte PAR-Inhibition durch Hemmung der vorgeschalteten PAR-Aktivierungssignalwege, bei Patientinnen und Patienten mit einer HFpEF mit einer verbesserten kardialen Funktion assoziiert war.⁽¹¹⁰⁾ Inwieweit diese Effekte direkt oder indirekt durch eine therapeutische Intervention (zumindestens teilweise) in die Darm-Herz-Achse bedingt sein könnten, wurde bislang noch nicht untersucht.

3.3.2 PAR-gerichtete Therapeutika reduzieren die Barrierestörung und MT

Die Aktivierung von PARs bzw. deren assoziierter Signalwege im Gastrointestinaltrakt vermitteln zahlreiche physiologische und pathologische Vorgänge. Präklinische Modelle zeigen das via PAR1 und PAR2 die transepitheliale Permeabilität erhöht und pro-inflammatorische Mechanismen initiiert werden. Dies geschieht u.a. durch eine erhöhte epitheliale Apoptoserate, eine veränderte Expression der Tight-junction Proteinkomplexe und eine verstärkte Chemotaxis.^(75, 77) Er-

höhte Konzentrationen aktivierender Proteasen fanden sich im Darm von Patientinnen und Patienten mit chronisch entzündlichen Darm-erkrankungen (CED). Diese entstammen dem Mikrobiom oder werden von intestinalen Epithelzellen selbst sezerniert. So war die intestinale Trypsinaktivität (Aktivierung von PAR2>PAR1) ca. zehnfach höher bei Patientinnen und Patienten mit einer CED. Die Thrombinaktivität (v.a. PAR1) war im Kolon bei Patientinnen und Patienten mit einem Morbus Crohn ca. 100fach erhöht nachweisbar.^(138, 139) Entsprechend lag der Fokus in Bezug auf (präklinische) therapeutische Interventionen bislang auf diesen sich primär intestinal manifestierenden Erkrankungen. Vorapaxar und FIIa/FXa-Inhibitoren wurden hier untersucht und reduzierten die PAR1-vermittelte mukosale Barrierestörung und Inflammation.⁽⁷⁶⁾ Ergebnisse humaner Studien liegen allerdings noch nicht vor.

Die HIV-Enteropathie geht mit einer chronischen Barrierestörung und konsekutiv erhöhten MT einher. Dies wird als eine mögliche Ursache der zu beobachtenen Thromboinflammation bei diesen Patientinnen und Patienten diskutiert.^(140, 141) Die klinische Interventionsstudie „ADVICE“ („Attenuation of D-dimer using Vorapaxar to target Inflammatory and Coagulation Endpoints“) (NCT02394730) untersuchte in diesem Zusammenhang den Einfluss des direkten PAR1-Inhibitors Vorapaxar auf Marker der Thromboinflammation. In der untersuchten Kohorte von avirämischen HIV-Patientinnen und Patienten unter einer stabilen antiretroviralen Therapie (ART), war Vorapaxar in Bezug auf die primären und sekundären Endpunkte (Reduktion der Biomarker D-Dimere, IL-6, hsCRP vs. Placebo) nicht effektiv.⁽¹⁴²⁾ Einschränkend muss allerdings erwähnt werden, dass es sich hierbei um eine nach kardiovaskulären Gesichtspunkten niedrig- bzw. intermediären Risikogruppe handelte (u.a. Framingham Heart Score <20%) und schon zum Zeitpunkt der Randomisierung, die thromboinflammatorischen Parameter normwertig waren (u.a. D-Dimere <0,5 µg/l, IL-6 <7 ng/l, hsCRP <2 µg/ml). Auch die Anzahl der zirkulierenden CD4⁺ T-Zellen, die wie wir zeigen konnten für die Aufrechterhaltung einer suffizienten mukosalen Immunantwort notwendig ist, lag im Normbereich.^(102, 142) Inwieweit also eine Intervention via PAR1 in einer Hochrisikopopulation (bezogen auf die thromboinflammatorische Krankheitslast) effektiv ist, bleibt abzuwarten. Bemerkenswerterweise reduzierte Vorapaxar (im Vergleich zu Placebo) in einer prospektiven Studie, Biomarker der Thromboinflammation nach Infusion des MT-Produktes LPS (2 ng/kg Körpergewicht).⁽¹⁴³⁾ Dies verdeutlicht nochmals die Kontextbezogene Wirksamkeit einer PAR-modulierenden Therapie. Diese Überlegungen müssen auch in zukünftige Studien einfließen.

4. Zusammenfassung

Inflammation und Thrombogenität, die durch eine Barrierestörung initiiert oder in ihrer Progression beeinflusst werden können, sind ausgewählte Therapieziele akuter und chronischer kardiovaskulärer Erkrankungen.

Bemerkenswert ist, dass bereits heute Therapeutika verfügbar sind, die in den PAR-vermittelten thromboinflammatorischen Prozess eingreifen können. Vorapaxar ist der einzige sich im klinischen Einsatz befindliche selektive PAR1-Antagonist (primär als Thrombozytenaggregationshemmer in der Sekundärprävention). Mit FIIa/FXa-Inhibitoren (NOAKs) stehen ebenfalls PAR-modulierende Therapeutika zur Verfügung. Direkte und indirekte PAR-Inhibitoren besitzen Gerinnungs-unabhängige, pleiotrope Effekte (anti-inflammatorisch, anti-fibrotisch, atheroprotektiv). Deshalb ist das therapeutische Eingreifen in die FIIa/FXa-PAR1/PAR2-Achse ein vielversprechender Ansatz in der kausalen Therapie der Atherosklerose-assoziiierter Erkrankungen sowie der kardialen Fibrose bei HFpEF-Patientinnen und Patienten.

Zwei therapeutische Ziele könnten dadurch zeitgleich angegangen werden: Therapie des kardiovaskulären Remodellings (pleiotrope Effekte: anti-fibrotische, anti-inflammatorische und atheroprotektive Wirkung) und Prävention atherothrombotischer und thromboembolischer Komplikationen (antikoagulatorische Komponente).

Ein dritter, synergistischer Therapieansatz soll im Folgenden skizziert werden: Die Möglichkeit akute und chronische kardiovaskuläre Erkrankungen darüber hinaus durch eine PAR-Inhibition bereits kausal zu therapieren (Barrierestabilisierung im Darm durch pleiotrope Effekte → mikrobielle Translokation↓ → systemische Entzündung↓ → Atherosklerose↓, kardiale Fibrose↓) sollte in die Untersuchung zukünftiger zielgerichteter und individualisierter Therapiekonzepte einfließen.

5. Literaturangaben

1. Visseren FLJ, Mach F, Smulders YM, Carballo D, Koskinas KC, Bäck M, Benetos A, Biffi A, Boavida J-M, Capodanno D, Cosyns B, Crawford C, Davos CH, Desormais I, Di Angelantonio E, Franco OH, Halvorsen S, Hobbs FDR, Hollander M, Jankowska EA, Michal M, Sacco S, Sattar N, Tokgozoglul, Tonstad S, Tsioufis KP, van Dis I, van Gelder IC, Wannan C, Williams B, Group ESD. 2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Developed by the Task Force for cardiovascular disease prevention in clinical practice with representatives of the European Society of Cardiology and 12 medical societies With the special contribution of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC). *European Heart Journal*. 2021;42(34):3227-337.
2. Masenga SK, Hamooya B, Hangoma J, Hayumbu V, Ertuglu LA, Ishimwe J, Rahman S, Saleem M, Laffer CL, Elijevich F, Kirabo A. Recent advances in modulation of cardiovascular diseases by the gut microbiota. *Journal of Human Hypertension*. 2022 Nov;36(11):952-959.
3. Witkowski M, Weeks TL, Hazen SL. Gut Microbiota and Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2020;127(4):553-70.
4. Violi F, Cammisotto V, Bartimoccia S, Pignatelli P, Carnevale R, Nocella C. Gut-derived low-grade endotoxaemia, atherothrombosis and cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2022 Jul 15;1-14.
5. Bartolomeus H, McParland V, Wilck N. Gut-heart axis : How gut bacteria influence cardiovascular diseases. *Herz*. 2020;45(2):134-41.
6. Lewis CV, Taylor WR. Intestinal barrier dysfunction as a therapeutic target for cardiovascular disease. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*. 2020;319(6):H1227-H33.
7. Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2009;9(11):799-809.
8. Tetzlaff S. Chemokin-abhängige Rekrutierung und Funktionalität von $\gamma\delta$ T-Zellen unter homöostatischen und inflammatorischen Bedingungen. Dissertation Charité - Universitätsmedizin Berlin 2020.
9. Brandtzaeg P, Kiyono H, Pabst R, Russell MW. Terminology: nomenclature of mucosa-associated lymphoid tissue. *Mucosal Immunology*. 2008;1(1):31-7.
10. Mörbe UM, Jørgensen PB, Fenton TM, von Burg N, Riis LB, Spencer J, Agace WW. Human gut-associated lymphoid tissues (GALT): diversity, structure, and function. *Mucosal Immunol*. 2021;14(4):793-802.
11. Zeng MY, Inohara N, Nuñez G. Mechanisms of inflammation-driven bacterial dysbiosis in the gut. *Mucosal Immunology*. 2017;10(1):18-26.
12. Thoo L, Noti M, Krebs P. Keep calm: the intestinal barrier at the interface of peace and war. *Cell Death & Disease*. 2019;10(11):849.
13. Ahmad R, Sorrell MF, Batra SK, Dhawan P, Singh AB. Gut permeability and mucosal inflammation: bad, good or context dependent. *Mucosal Immunology*. 2017;10(2):307-17.
14. Camilleri M. Leaky gut: mechanisms, measurement and clinical implications in humans. *Gut*. 2019;68(8):1516-26.
15. Marchetti G, Tincati C, Silvestri G. Microbial translocation in the pathogenesis of HIV infection and AIDS. *Clinical microbiology reviews*. 2013;26(1):2-18.
16. Epple HJ, Friebel J, Moos V, Troeger H, Krug SM, Allers K, Schinnerling K, Fromm A, Siegmund B, Fromm M, Schulzke JD, Schneider T. Architectural and functional alterations of the small intestinal mucosa in classical Whipple's disease. *Mucosal Immunol*. 2017;10(6):1542-52.
17. Marth T, Moos V, Müller C, Biagi F, Schneider T. Tropheryma whipplei infection and Whipple's disease. *The Lancet Infectious diseases*. 2016;16(3):e13-22.
18. Friebel J. Immunregulation, intestinale Barrierestörung und mikrobielle Translokation beim Morbus Whipple. Dissertation Charité - Universitätsmedizin Berlin 2019.
19. Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Friebel J, Conrad K, Loddenkemper C, Kühl AA, Erben U, Ignatius R, Moos V, Schneider T. Role of dendritic cells in the pathogenesis of Whipple's disease. *Infection and immunity*. 2015;83(2):482-91.
20. Schinnerling K, Moos V, Geelhaar A, Allers K, Loddenkemper C, Friebel J, Conrad K, Kühl AA, Erben U, Schneider T. Regulatory T cells in patients with Whipple's disease. *Journal of immunology*. 2011;187(8):4061-7.
21. Moos V, Feurle GE, Schinnerling K, Geelhaar A, Friebel J, Allers K, Moter A, Kikhney J, Loddenkemper C, Kühl AA, Erben U, Fenollar F, Raoult D, Schneider T. Immunopathology of immune reconstitution inflammatory syndrome in Whipple's disease. *Journal of immunology*. 2013;190(5):2354-61.
22. Feurle GE, Moos V, Schinnerling K, Geelhaar A, Allers K, Biagi F, Bläker H, Moter A, Loddenkemper C, Jansen A, Schneider T. The immune reconstitution inflammatory syndrome in whipple disease: a cohort study. *Ann Intern Med*. 2010;153(11):710-7.
23. Barber DL, Andrade BB, Sereti I, Sher A. Immune reconstitution inflammatory syndrome: the trouble with immunity when you had none. *Nature Reviews Microbiology*. 2012;10(2):150-6.
24. Ferrucci L, Fabbri E. Inflammaging: chronic inflammation in ageing, cardiovascular disease, and frailty. *Nature Reviews Cardiology*. 2018;15(9):505-22.
25. Engelen SE, Robinson A, Zurke YX, Monaco C. Therapeutic strategies targeting inflammation and immunity in atherosclerosis: how to proceed? *Nature reviews Cardiology*. 2022;19(8):522-42.
26. Carpino G, Del Ben M, Pastori D, Carnevale R, Baratta F, Overi D, Francis H, Cardinale V, Onori P, Safarikia S, Cammisotto V, Alvaro D, Svegliati-Baroni G, Angelico F, Gaudio E, Violi F. Increased Liver Localization of Lipopolysaccharides in Human and Experimental NAFLD. *Hepatology*. 2020;72(2):470-85.
27. Han H, Jiang Y, Wang M, Melaku M, Liu L, Zhao Y, Everaert N, Yi B, Zhang H. Intestinal dysbiosis in nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD): focusing on the gut-liver axis. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2021:1-18.
28. Simonsen JR, Järvinen A, Harjutsalo V, Forsblom C, Groop PH, Lehto M. The association between bacterial infections and the risk of coronary heart disease in type 1 diabetes. *Journal of internal medicine*. 2020;288(6):711-24.
29. Tian R, Liu H, Feng S, Wang H, Wang Y, Wang Y, Liang L, Xu H, Xing H, Zhang S. Gut microbiota dysbiosis in stable coronary artery disease combined with type 2 diabetes mellitus influences cardiovascular prognosis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 2021;31(5):1454-66.
30. Sapone A, de Magistris L, Pietzak M, Clemente MG, Tripathi A, Cucca F, Lampis R, Kryszak D, Carteni M, Generoso M, Iafusco D, Prisco F, Laghi F, Riegler G, Carratu R, Counts D, Fasano A. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes*. 2006;55(5):1443-9.
31. Jayashree B, Bibin YS, Prabh D, Shanthirani CS, Gokulakrishnan K, Lakshmi BS, Mohan V, Balasubramanyam M. Increased circulatory levels of lipopolysaccharide (LPS) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes. *Molecular and cellular biochemistry*. 2014;388(1-2):203-10.

32. Genser L, Aguanno D, Soula HA, Dong L, Trystram L, Assmann K, Salem JE, Vaillant JC, Oppert JM, Laugerette F, Michalski MC, Wind P, Rousset M, Brot-Laroche E, Leturque A, Clément K, Thenet S, Poitou C. Increased jejunal permeability in human obesity is revealed by a lipid challenge and is linked to inflammation and type 2 diabetes. *The Journal of pathology*. 2018;246(2):217-30.
33. Gui X, Yang Z, Li MD. Effect of Cigarette Smoke on Gut Microbiota: State of Knowledge. *Frontiers in Physiology*. *Front Physiol*. 2021 Jun 17;12:673341.
34. Lee SH, Yun Y, Kim SJ, Lee E-J, Chang Y, Ryu S, Shin H, Kim H-L, Kim H-N, Lee JH. Association between Cigarette Smoking Status and Composition of Gut Microbiota: Population-Based Cross-Sectional Study. *Journal of Clinical Medicine*. 2018;7(9):282.
35. Malíčková K, Francová I, Lukáš M, Kolář M, Králíková E, Bortlík M, Ďuricová D, Štěpánková L, Zvolská K, Pánková A, Zima T. Fecal zonulin is elevated in Crohn's disease and in cigarette smokers. *Practical laboratory medicine*. 2017;9:39-44.
36. Gouin A, Rodriguez JB, Camacho V, Lemoine M, Huang Y, Jasmin J, Martinez SS, Seminario L, Tamargo J, Sherman K, Baum M. Smoking Is Associated With Microbial Translocation in the Miami Adult Studies on HIV (MASH) Cohort. *Current Developments in Nutrition*. 2022;6(Supplement_1):1008.
37. McIntyre CW, Harrison LE, Eldehni MT, Jefferies HJ, Szeto CC, John SG, Sigrist MK, Burton JO, Hothi D, Korsheed S, Owen PJ, Lai KB, Li PK. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2011;6(1):133-41.
38. Carpes LS, Nicoletto BB, Canani LH, Rheinheimer J, Crispim D, Souza GC. Could serum zonulin be an intestinal permeability marker in diabetes kidney disease? *PLoS one*. 2021;16(6):e0253501.
39. Xu K-Y, Xia G-H, Lu J-Q, Chen M-X, Zhen X, Wang S, You C, Nie J, Zhou H-W, Yin J. Impaired renal function and dysbiosis of gut microbiota contribute to increased trimethylamine-N-oxide in chronic kidney disease patients. *Scientific Reports*. 2017;7(1):1445.
40. Lin T-Y, Wu P-H, Lin Y-T, Hung S-C. Gut dysbiosis and mortality in hemodialysis patients. *npj Biofilms and Microbiomes*. 2021;7(1):20.
41. Maifeld A, Bartolomaeus H, Löber U, Avery EG, Steckhan N, Markó L, Wilck N, Hamad I, Šušnjar U, Mähler A, Hohmann C, Chen C-Y, Cramer H, Dobos G, Lesker TR, Strowig T, Dechend R, Bzdok D, Kleinewietfeld M, Michalsen A, Müller DN, Forslund SK. Fasting alters the gut microbiome reducing blood pressure and body weight in metabolic syndrome patients. *Nature Communications*. 2021;12(1):1970.
42. Li C, Xiao P, Lin D, Zhong H-J, Zhang R, Zhao Z-g, He X-X. Risk Factors for Intestinal Barrier Impairment in Patients With Essential Hypertension. *Frontiers in Medicine*. 2021 Jan 27;7:543698.
43. Kim S, Goel R, Kumar A, Qi Y, Lobaton G, Hosaka K, Mohammed M, Handberg EM, Richards EM, Pepine CJ, Raizada MK. Imbalance of gut microbiome and intestinal epithelial barrier dysfunction in patients with high blood pressure. *Clinical science*. 2018;132(6):701-18.
44. Li J, Zhao F, Wang Y, Chen J, Tao J, Tian G, Wu S, Liu W, Cui Q, Geng B, Zhang W, Weldon R, Auguste K, Yang L, Liu X, Chen L, Yang X, Zhu B, Cai J. Gut microbiota dysbiosis contributes to the development of hypertension. *Microbiome*. 2017;5(1):14.
45. Lepper PM, Schumann C, Triantafilou K, Rasche FM, Schuster T, Frank H, Schneider EM, Triantafilou M, Eynatten Mv. Association of Lipopolysaccharide-Binding Protein and Coronary Artery Disease in Men. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007;50(1):25-31.
46. Trøseid M, Andersen GØ, Broch K, Hov JR. The gut microbiome in coronary artery disease and heart failure: Current knowledge and future directions. *eBioMedicine*. 2020;52.
47. Wiedermann CJ, Kiechl S, Dunzendorfer S, Schratzberger P, Egger G, Oberhollenzer F, Willeit J. Association of endotoxemia with carotid atherosclerosis and cardiovascular disease: prospective results from the Bruneck Study. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999;34(7):1975-81.
48. Baragetti A, Severgnini M, Olmastroni E, Dioguardi CC, Mattavelli E, Angius A, Rotta L, Cibella J, Caredda G, Consolandi C, Grigore L, Pellegatta F, Giavarini F, Caruso D, Norata GD, Catapano AL, Peano C. Gut Microbiota Functional Dysbiosis Relates to Individual Diet in Subclinical Carotid Atherosclerosis. *Nutrients*. 2021;13(2).
49. Dirajlal-Fargo S, Albar Z, Bowman E, Labbato D, Sattar A, Karungi C, Longenecker CT, Nazzinda R, Funderburg N, Kityo C, Musiime V, McComsey GA. Subclinical Vascular Disease in Children With Human Immunodeficiency Virus in Uganda Is Associated With Intestinal Barrier Dysfunction. *Clinical infectious diseases*. 2020;71(12):3025-32.
50. Pastori D, Carnevale R, Nocella C, Novo M, Santulli M, Cammisotto V, Menichelli D, Pignatelli P, Violi F. Gut-Derived Serum Lipopolysaccharide is Associated With Enhanced Risk of Major Adverse Cardiovascular Events in Atrial Fibrillation: Effect of Adherence to Mediterranean Diet. *Journal of the American Heart Association*. 2017;6(6).
51. Zhang Y, Zhang S, Li B, Luo Y, Gong Y, Jin X, Zhang J, Zhou Y, Zhuo X, Wang Z, Zhao X, Han X, Gao Y, Yu H, Liang D, Zhao S, Sun D, Wang D, Xu W, Qu G, Bo W, Li D, Wu Y, Li Y. Gut microbiota dysbiosis promotes age-related atrial fibrillation by lipopolysaccharide and glucose-induced activation of NLRP3-inflammasome. *Cardiovascular research*. 2021;118(3):785-97.
52. Fang C, Zuo K, Zhang W, Zhong J, Li J, Xu L, Yang X. Association between Gut Microbiota Dysbiosis and the CHA2DS2-VASc Score in Atrial Fibrillation Patients. *International journal of clinical practice*. 2022 May 6;2022:7942605.
53. Niebauer J, Volk HD, Kemp M, Dominguez M, Schumann RR, Rauchhaus M, Poole-Wilson PA, Coats AJ, Anker SD. Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet*. 1999;353(9167):1838-42.
54. Madan S, Mehra MR. Gut dysbiosis and heart failure: navigating the universe within. *European journal of heart failure*. 2020;22(4):629-37.
55. Sandek A, Bauditz J, Swidsinski A, Buhner S, Weber-Eibel J, von Haehling S, Schroedl W, Karhausen T, Doehner W, Rauchhaus M, Poole-Wilson P, Volk HD, Lochs H, Anker SD. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007;50(16):1561-9.
56. Beale AL, O'Donnell JA, Nakai ME, Nanayakkara S, Vizi D, Carter K, Dean E, Ribeiro RV, Yiallourou S, Carrington MJ, Marques FZ, Kaye DM. The Gut Microbiome of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Journal of the American Heart Association*. 2021;10(13):e020654.
57. Zhou X, Li J, Guo J, Geng B, Ji W, Zhao Q, Li J, Liu X, Liu J, Guo Z, Cai W, Ma Y, Ren D, Miao J, Chen S, Zhang Z, Chen J, Zhong J, Liu W, Zou M, Li Y, Cai J. Gut-dependent microbial translocation induces inflammation and cardiovascular events after ST-elevation myocardial infarction. *Microbiome*. 2018;6(1):66.
58. Carnevale R, Sciarretta S, Valenti V, di Nonno F, Calvieri C, Nocella C, Frati G, Forte M, d'Amati G, Pignataro MG, Severino A, Cangemi R, Arrivi A, Dominici M, Mangieri E, Gaudio C, Tanzilli G, Violi F. Low-grade endotoxaemia enhances artery thrombus growth via Toll-like receptor 4: implication for myocardial infarction. *Eur Heart J*. 2020;41(33):3156-65.
59. Han Y, Gong Z, Sun G, Xu J, Qi C, Sun W, Jiang H, Cao P, Ju H. Dysbiosis of Gut Microbiota in Patients With Acute Myocardial Infarction. *Frontiers in microbiology*. 2021;12:680101.
60. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nature Reviews Immunology*. 2001;1(2):135-45.

61. Malz R, Weithauser A, Tschöpe C, Schultheiss HP, Rauch U. Inhibition of coagulation factor Xa improves myocardial function during CVB3-induced myocarditis. *Cardiovascular therapeutics*. 2014;32(3):113-9.
62. Antoniak S, Owens AP, 3rd, Baunacke M, Williams JC, Lee RD, Weithauser A, Sheridan PA, Malz R, Luyendyk JP, Esserman DA, Trejo J, Kirchhofer D, Blaxall BC, Pawlinski R, Beck MA, Rauch U, Mackman N. PAR-1 contributes to the innate immune response during viral infection. *The Journal of clinical investigation*. 2013;123(3):1310-22.
63. Weithauser A, Bobbert P, Antoniak S, Böhm A, Rauch BH, Klingel K, Savvatis K, Kroemer HK, Tschöpe C, Stroux A, Zeichhardt H, Poller W, Mackman N, Schultheiss HP, Rauch U. Protease-activated receptor-2 regulates the innate immune response to viral infection in a coxsackievirus B3-induced myocarditis. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;62(19):1737-45.
64. Weithauser A, Rauch U. Role of protease-activated receptors (PARs) for the innate immune response of the heart. *Trends in cardiovascular medicine*. 2014 Aug;24(6):249-55.
65. Alice W, Marco W, Ursula R. The Role of Protease-Activated Receptors for the Development of Myocarditis: Possible Therapeutic Implications. *Current Pharmaceutical Design*. 2016;22(4):472-84.
66. Pawlinski R, Tencati M, Hampton CR, Shishido T, Bullard TA, Casey LM, Andrade-Gordon P, Kotsch M, Spring D, Luther T, Abe J, Pohlman TH, Verrier ED, Blaxall BC, Mackman N. Protease-activated receptor-1 contributes to cardiac remodeling and hypertrophy. *Circulation*. 2007;116(20):2298-306.
67. Antoniak S, Pawlinski R, Mackman N. Protease-activated receptors and myocardial infarction. *IUBMB Life*. 2011;63(6):383-9.
68. Posma JJ, Posthuma JJ, Spronk HM. Coagulation and non-coagulation effects of thrombin. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2016;14(10):1908-16.
69. Posma JJ, Grover SP, Hisada Y, Owens AP, 3rd, Antoniak S, Spronk HM, Mackman N. Roles of Coagulation Proteases and PARs (Protease-Activated Receptors) in Mouse Models of Inflammatory Diseases. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2019;39(1):13-24.
70. d'Alessandro E, Becker C, Bergmeier W, Bode C, Bourne JH, Brown H, Buller HR, Ten Cate-Hoek AJ, Ten Cate V, van Cauteren YJM, Cheung YFH, Cleuren A, Coenen D, Crijns H, de Simone I, Dolleman SC, Klein CE, Fernandez DI, Grannem L, van THA, Henke P, Henskens YMC, Huang J, Jennings LK, Jooss N, Karel M, van den Kerkhof D, Klok FA, Kremers B, Leader A, Lundstrom A, Mackman N, Mannucci PM, Maqsood Z, van der Meijden PEJ, van Moorsel M, Moran LA, Morser J, van Mourik M, Navarro S, Neagoe RAI, Olie RH, van Paridon P, Posma J, Provenzale I, Reitsma PH, Scaf B, Schurgers L, Seelig J, Siegbahn A, Siegerink B, Soehnlein O, Soriano EM, Sowa MA, Spronk HMH, Storey RF, Tantiwong C, Veninga A, Wang X, Watson SP, Weitz J, Zeerleder SS, Ten Cate H. Thrombo-Inflammation in Cardiovascular Disease: An Expert Consensus Document from the Third Maastricht Consensus Conference on Thrombosis. *Thrombosis and haemostasis*. 2020;120(4):538-64.
71. Witkowski M, Landmesser U, Rauch U. Tissue factor as a link between inflammation and coagulation. *Trends in cardiovascular medicine*. 2016;26(4):297-303.
72. Heuberger DM, Schuepbach RA. Protease-activated receptors (PARs): mechanisms of action and potential therapeutic modulators in PAR-driven inflammatory diseases. *Thrombosis Journal*. 2019;17(1):4.
73. Han X, Nieman MT, Kerlin BA. Protease-activated receptors: An illustrated review. *Research and practice in thrombosis and haemostasis*. 2021;5(1):17-26.
74. Gieseler F, Ungefroren H, Settmacher U, Hollenberg MD, Kaufmann R. Proteinase-activated receptors (PARs) - focus on receptor-receptor-interactions and their physiological and pathophysiological impact. *Cell communication and signaling : CCS*. 2013;11:86.
75. Pontarollo G, Mann A, Brandão I, Malinarich F, Schöpf M, Reinhardt C. Protease-activated receptor signaling in intestinal permeability regulation. *The FEBS journal*. 2020;287(4):645-58.
76. Jacenik D, Fichna J, Małacka-Wojcieszko E, Mokrowiecka A. Protease-Activated Receptors - Key Regulators of Inflammatory Bowel Diseases Progression. *Journal of inflammation research*. 2021;14:7487-97.
77. Sébert M, Sola-Tapias N, Mas E, Barreau F, Ferrand A. Protease-Activated Receptors in the Intestine: Focus on Inflammation and Cancer. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2019 Oct 24;10:717.
78. Nelken NA, Soifer SJ, O'Keefe J, Vu TK, Charo IF, Coughlin SR. Thrombin receptor expression in normal and atherosclerotic human arteries. *The Journal of clinical investigation*. 1992;90(4):1614-21.
79. Jones SM, Mann A, Conrad K, Saum K, Hall DE, McKinney LM, Robbins N, Thompson J, Peairs AD, Camerer E, Rayner KJ, Tranter M, Mackman N, Owens AP. PAR2 (Protease-Activated Receptor 2) Deficiency Attenuates Atherosclerosis in Mice. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology*. 2018;38(6):1271-82.
80. Depuydt MAC, Prange KHM, Slenders L, Örd T, Elbersen D, Boltjes A, de Jager SCA, Asselbergs FW, de Borst GJ, Avvik E, Lönnberg T, Lutgens E, Glass CK, den Ruijter HM, Kaikkonen MU, Bot I, Slütter B, van der Laan SW, Yla-Herttuala S, Mokry M, Kuiper J, de Winther MPJ, Pasterkamp G. Microanatomy of the Human Atherosclerotic Plaque by Single-Cell Transcriptomics. *Circulation research*. 2020;127(11):1437-55.
81. Ten Cate H, Guzik TJ, Eikelboom J, Spronk HMH. Pleiotropic actions of factor Xa inhibition in cardiovascular prevention: mechanistic insights and implications for anti-thrombotic treatment. *Cardiovascular research*. 2021;117(9):2030-44.
82. Spronk HMH, de Jong AM, Crijns HJ, Schotten U, Van Gelder IC, ten Cate H. Pleiotropic effects of factor Xa and thrombin: what to expect from novel anticoagulants. *Cardiovascular research*. 2014;101(3):344-51.
83. Korjian S, Braunwald E, Daaboul Y, Mi M, Bhatt DL, Verheugt FWA, Cohen M, Bode C, Burton P, Plotnikov AN, Gibson CM. Usefulness of Rivaroxaban for Secondary Prevention of Acute Coronary Syndrome in Patients With History of Congestive Heart Failure (from the ATLAS-ACS-2 TIMI-51 Trial). *American Journal of Cardiology*. 2018;122(11):1896-901.
84. Eikelboom JW, Bhatt DL, Fox KAA, Bosch J, Connolly SJ, Anand SS, Avezum A, Berkowitz SD, Branch KRH, Dagenais GR, Félix C, Guzik TJ, Hart RG, Maggioni AP, Muehlhofer E, Sharma M, Shestakovska O, Yusuf S. Mortality Benefit of Rivaroxaban Plus Aspirin in Patients With Chronic Coronary or Peripheral Artery Disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2021;78(1):14-23.
85. Eikelboom JW, Connolly SJ, Bosch J, Dagenais GR, Hart RG, Shestakovska O, Diaz R, Alings M, Lonn EM, Anand SS, Widimsky P, Hori M, Avezum A, Piegas LS, Branch KRH, Probstfield J, Bhatt DL, Zhu J, Liang Y, Maggioni AP, Lopez-Jaramillo P, O'Donnell M, Kakkar AK, Fox KAA, Parkhomenko AN, Ertl G, Störk S, Keltai M, Ryden L, Pogosova N, Dans AL, Lanas F, Commerford PJ, Torp-Pedersen C, Guzik TJ, Verhamme PB, Vinereanu D, Kim J-H, Tonkin AM, Lewis BS, Felix C, Yusuf S, Steg PG, Metsarinne KP, Cook-Brunns N, Misselwitz F, Chen E, Leong D, Yusuf S. Rivaroxaban with or without Aspirin in Stable Cardiovascular Disease. *New England Journal of Medicine*. 2017;377(14):1319-30.
86. Ramachandra CJA, Hernandez-Resendiz S, Crespo-Avilan GE, Lin Y-H, Hausenloy DJ. Mitochondria in acute myocardial infarction and cardioprotection. *EBioMedicine*. 2020 Jul;57:102884.
87. Dörner A, Schultheiss HP. Adenine nucleotide translocase in the focus of cardiovascular diseases. *Trends in cardiovascular medicine*. 2007;17(8):284-90.
88. Banfi C, Brioschi M, Barbieri SS, Eligini S, Barcella S, Tremoli E, Colli S, Mussoni L. Mitochondrial reactive oxygen species: a common pathway for PAR1- and PAR2-mediated tissue factor induction in human endothelial cells. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2009;7(1):206-16.

89. Toldo S, Abbate A. The NLRP3 inflammasome in acute myocardial infarction. *Nature Reviews Cardiology*. 2018;15(4):203-14.
90. Kim GH, Uriel N, Burkhoff D. Reverse remodelling and myocardial recovery in heart failure. *Nature Reviews Cardiology*. 2018;15(2):83-96.
91. Marchi S, Guilbaud E, Tait SWG, Yamazaki T, Galluzzi L. Mitochondrial control of inflammation. *Nat Rev Immunol*. 2022 Jul 25;1-15.
92. Frangogiannis NG. Transforming growth factor- β in myocardial disease. *Nature Reviews Cardiology*. 2022;19(7):435-55.
93. Peet C, Ivetic A, Bromage DI, Shah AM. Cardiac monocytes and macrophages after myocardial infarction. *Cardiovascular research*. 2020;116(6):1101-12.
94. García-González G, Sánchez-González A, Hernández-Bello R, González GM, Franco-Molina MA, Coronado-Cerda EE, Palma-Nicolás JP. Triggering of protease-activated receptors (PARs) induces alternative M2 macrophage polarization with impaired plasticity. *Molecular Immunology*. 2019;114:278-88.
95. McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M, Burri H, Butler J, Čelutkienė J, Chioncel O, Cleland JGF, Coats AJS, Crespo-Leiro MG, Farmakis D, Gilard M, Heymans S, Hoes AW, Jaarsma T, Jankowska EA, Lainscak M, Lam CSP, Lyon AR, McMurray JJV, Mebazaa A, Mindham R, Muneretto C, Francesco Piepoli M, Price S, Rosano GMC, Ruschitzka F, Kathrine Skibelund A, Group ESD. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *European Heart Journal*. 2021;42(36):3599-726.
96. Martos R, Baugh J, Ledwidge M, O'Loughlin C, Conlon C, Patle A, Donnelly SC, McDonald K. Diastolic heart failure: evidence of increased myocardial collagen turnover linked to diastolic dysfunction. *Circulation*. 2007;115(7):888-95.
97. Moreo A, Ambrosio G, Chiara BD, Pu M, Tran T, Mauri F, Raman SV. Influence of Myocardial Fibrosis on Left Ventricular Diastolic Function. *Circulation: Cardiovascular Imaging*. 2009;2(6):437-43.
98. Lewis GA, Schelbert EB, Williams SG, Cunningham C, Ahmed F, McDonagh TA, Miller CA. Biological Phenotypes of Heart Failure With Preserved Ejection Fraction. *Journal of the American College of Cardiology*. 2017;70(17):2186-200.
99. Snead AN, Insel PA. Defining the cellular repertoire of GPCRs identifies a profibrotic role for the most highly expressed receptor, protease-activated receptor 1, in cardiac fibroblasts. *FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2012;26(11):4540-7.
100. Lavine KJ, Pinto AR, Epelman S, Kopecky BJ, Clemente-Casares X, Godwin J, Rosenthal N, Kovacic JC. The Macrophage in Cardiac Homeostasis and Disease: JACC Macrophage in CVD Series (Part 4). *Journal of the American College of Cardiology*. 2018;72(18):2213-30.
101. Thaler B, Hohensinner PJ, Baumgartner J, Haider P, Krychtiuk KA, Schörghofer C, Jilma B, Hell L, Fischer MB, Huber K, Hengstenberg C, Speidl WS, Wojta J. Protease-Activated Receptors 1 and 3 are Differentially Expressed on Human Monocyte Subsets and are Upregulated by Lipopolysaccharide Ex Vivo and In Vivo. *Thrombosis and haemostasis*. 2019;119(9):1394-402.
102. Friebel J, Schinnerling K, Geelhaar-Karsch A, Allers K, Schneider T, Moos V. Intestinal barrier dysfunction mediates Whipple's disease immune reconstitution inflammatory syndrome (IRIS). *Immunity, inflammation and disease*. 2022;10(5):e622.
103. Geelhaar-Karsch A, Schinnerling K, Conrad K, Friebel J, Allers K, Schneider T, Moos V. Evaluation of arginine metabolism for the analysis of M1/M2 macrophage activation in human clinical specimens. *Inflammation research*. 2013;62(9):865-9.
104. Geelhaar-Karsch A. Defizienzen der zellulären und humoralen Immunantwort und alternative Aktivierung von Makrophagen und Monozyten bei Patienten mit Morbus Whipple. Dissertation - Freie Universität Berlin 2013.
105. Hirose M, Künstner A, Schilf P, Sünderhauf A, Rupp J, Jöhren O, Schwaninger M, Sina C, Baines JF, Ibrahim SM. Mitochondrial gene polymorphism is associated with gut microbial communities in mice. *Sci Rep*. 2017;7(1):15293.
106. Yergöz F, Friebel J, Kränkel N, Rauch-Kroehnert U, Schultheiss HP, Landmesser U, Dörner A. Adenine Nucleotide Translocase 1 Expression Modulates the Immune Response in Ischemic Hearts. *Cells*. 2021;10(8).
107. Friebel J, Moritz E, Witkowski M, Jakobs K, Strässler E, Dörner A, Steffens D, Puccini M, Lammel S, Glauben R, Kränkel N, Haghikia A, Moos V, Schutheiss H-P, Felix SB, Landmesser U, Rauch BH, Rauch U. Pleiotropic Effects of the Protease-Activated Receptor 1 (PAR1) Inhibitor, Vorapaxar, on Atherosclerosis and Vascular Inflammation. *Cells*. 2021;10(12):3517.
108. Loffredo FS, Nikolova AP, Pancoast JR, Lee RT. Heart failure with preserved ejection fraction: molecular pathways of the aging myocardium. *Circulation research*. 2014;115(1):97-107.
109. Kim Y, Lee Y, Heo G, Jeong S, Park S, Yoo JW, Jung Y, Im E. Modulation of Intestinal Epithelial Permeability via Protease-Activated Receptor-2-Induced Autophagy. *Cells*. 2022;11(5).
110. Friebel J, Weithauer A, Witkowski M, Rauch BH, Savvatis K, Dörner A, Tabaraie T, Kasner M, Moos V, Bösel D, Gotthardt M, Radke MH, Wegner M, Bobbert P, Lassner D, Tschöpe C, Schutheiss HP, Felix SB, Landmesser U, Rauch U. Protease-activated receptor 2 deficiency mediates cardiac fibrosis and diastolic dysfunction. *Eur Heart J*. 2019;40(40):3318-32.
111. Gisterå A, Hansson GK. The immunology of atherosclerosis. *Nature reviews Nephrology*. 2017;13(6):368-80.
112. Libby P. Inflammation during the life cycle of the atherosclerotic plaque. *Cardiovasc Res*. 2021 Nov 22;117(13):2525-2536.
113. Ridker PM. How Common Is Residual Inflammatory Risk? *Circulation research*. 2017;120(4):617-9.
114. Buono MGD, Montone RA, Iannaccone G, Rinaldi R, Vecchia GL, Camilli M, Gurgoglione FL, Russo M, Lombardi M, D'amarico D, Niccoli G. Redefining residual inflammatory risk after acute coronary syndrome. *Future Cardiology*. 2022;18(2):115-23.
115. Soehnlein O, Libby P. Targeting inflammation in atherosclerosis — from experimental insights to the clinic. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2021;20(8):589-610.
116. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD, Kastelein JJP, Cornel JH, Pais P, Pella D, Genest J, Cifkova R, Lorenzatti A, Forster T, Kobalava Z, Vida-Simiti L, Flather M, Shimokawa H, Ogawa H, Dellborg M, Rossi PRF, Troquay RPT, Libby P, Glynn RJ. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *New England Journal of Medicine*. 2017;377(12):1119-31.
117. Nidorf SM, Eikelboom JW, Budgeon CA, Thompson PL. Low-dose colchicine for secondary prevention of cardiovascular disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013;61(4):404-10.
118. Nidorf SM, Fiolet ATL, Mosterd A, Eikelboom JW, Schut A, Opstal TSJ, The SHK, Xu X-F, Ireland MA, Lenderink T, Latchem D, Hoogslag P, Jerzewski A, Nierop P, Whelan A, Hendriks R, Swart H, Schaap J, Kuijper AFM, van Hessen MWJ, Saklani P, Tan I, Thompson AG, Morton A, Judkins C, Bax WA, Dirksen M, Alings M, Hankey GJ, Budgeon CA, Tijssen JGP, Cornel JH, Thompson PL. Colchicine in Patients with Chronic Coronary Disease. *New England Journal of Medicine*. 2020;383(19):1838-47.
119. Tardif J-C, Kouz S, Waters DD, Bertrand OF, Diaz R, Maggioni AP, Pinto FJ, Ibrahim R, Gamra H, Kiwan GS, Berry C, López-Sendón J, Ostadal P, Koenig W, Angoulvant D, Grégoire JC, Lavoie M-A, Dubé M-P, Rhoads D, Provencher M, Blondeau L, Orfanos A, L'Allier PL, Guertin M-C, Roubille F. Efficacy and Safety of Low-Dose Colchicine after Myocardial Infarction. *New England Journal of Medicine*. 2019;381(26):2497-505.
120. Crea F, Libby P. Acute Coronary Syndromes. *Circulation*. 2017;136(12):1155-66.

121. Fahed AC, Jang IK. Plaque erosion and acute coronary syndromes: phenotype, molecular characteristics and future directions. *Nature reviews Cardiology*. 2021;18(10):724-34.
122. Rahman K, Vengrenyuk Y, Ramsey SA, Vila NR, Gorgis NM, Liu J, Gusarova V, Gromada J, Weinstock A, Moore KJ, Loke P, Fisher EA. Inflammatory Ly6Chi monocytes and their conversion to M2 macrophages drive atherosclerosis regression. *The Journal of clinical investigation*. 2017;127(8):2904-15.
123. Olsen MB, Gregersen I, Sandanger Ø, Yang K, Sokolova M, Halvorsen BE, Gullestad L, Broch K, Aukrust P, Louwe MC. Targeting the Inflammasome in Cardiovascular Disease. *JACC Basic to translational science*. 2022;7(1):84-98.
124. Bouabdallaoui N, Tardif J-C, Waters DD, Pinto FJ, Maggioni AP, Diaz R, Berry C, Koenig W, Lopez-Sendon J, Gamra H, Kiwan GS, Blondeau L, Orfanos A, Ibrahim R, Grégoire JC, Dubé M-P, Samuel M, Morel O, Lim P, Bertrand OF, Kouz S, Guertin M-C, L'Allier PL, Roubille F. Time-to-treatment initiation of colchicine and cardiovascular outcomes after myocardial infarction in the Colchicine Cardiovascular Outcomes Trial (COLCOT). *European Heart Journal*. 2020;41(42):4092-9.
125. Mewton N, Roubille F, Bresson D, Prieur C, Bouleti C, Bochaton T, Ivanov F, Dubreuil O, Biere L, Hayek A, Derimay F, Akodad M, Alos B, Haider L, Jonhy NE, Daw R, Bourguignon CD, Dhelens C, Finet G, Bonnefoy-Cudraz E, Bidaux G, Boutitie F, Maucort-Boulch D, Croisille P, Rioufol G, Prunier F, Angoulvant D. Effect of Colchicine on Myocardial Injury in Acute Myocardial Infarction. *Circulation*. 2021;144(11):859-69.
126. Abbate A, Trankle CR, Buckley LF, Lipinski MJ, Appleton D, Kadariya D, Canada JM, Carbone S, Roberts CS, Abouzaki N, Melchior R, Christopher S, Turlington J, Mueller G, Garnett J, Thomas C, Markley R, Wohlford GF, Puckett L, Medina de Chazal H, Chiabrando JG, Bressi E, Del Buono MG, Schatz A, Vo C, Dixon DL, Biondi-Zoccai GG, Kontos MC, Van Tassell BW. Interleukin-1 Blockade Inhibits the Acute Inflammatory Response in Patients With ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction. *Journal of the American Heart Association*. 2020;9(5):e014941.
127. Koutoukidis DA, Jebb SA, Zimmerman M, Otonla A, Henry JA, Ferrey A, Schofield E, Kinton J, Aveyard P, Marchesi JR. The association of weight loss with changes in the gut microbiota diversity, composition, and intestinal permeability: a systematic review and meta-analysis. *Gut microbes*. 2022;14(1):2020068.
128. Ojo O, Ojo OO, Zand N, Wang X. The Effect of Dietary Fibre on Gut Microbiota, Lipid Profile, and Inflammatory Markers in Patients with Type 2 Diabetes: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomised Controlled Trials. *Nutrients*. 2021;13(6).
129. Moludi J, Maleki V, Jafari-Vayghyan H, Vaghef-Mehrabany E, Alizadeh M. Metabolic endotoxemia and cardiovascular disease: A systematic review about potential roles of prebiotics and probiotics. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2020;47(6):927-39.
130. Chaudhary R, Mohananey A, Sharma SP, Singh S, Singh A, Kondur A. Improving Outcomes in Cardiovascular Diseases: A Review on Vorapaxar. *Cardiology in review*. 2022;30(5):241-6.
131. Farag M, Patel H, Gorog DA. Adjunctive therapies to reduce thrombotic events in patients with a history of myocardial infarction: role of vorapaxar. *Drug design, development and therapy*. 2015;9:3801-9.
132. Morrow DA, Braunwald E, Bonaca MP, Ameriso SF, Dalby AJ, Fish MP, Fox KAA, Lipka LJ, Liu X, Nicolau JC, Ophuis AJO, Paolasso E, Scirica BM, Spinar J, Theroux P, Wiviott SD, Strony J, Murphy SA. Vorapaxar in the Secondary Prevention of Atherothrombotic Events. *New England Journal of Medicine*. 2012;366(15):1404-13.
133. Nourse J, Danckwardt S. A novel rationale for targeting FXI: Insights from the hemostatic microRNA targetome for emerging anticoagulant strategies. *Pharmacology & therapeutics*. 2021;218:107676.
134. Branch KR, Probstfield JL, Eikelboom JW, Bosch J, Maggioni AP, Cheng RK, Bhatt DL, Avezum A, Fox KAA, Connolly SJ, Shestakovska O, Yusuf S. Rivaroxaban With or Without Aspirin in Patients With Heart Failure and Chronic Coronary or Peripheral Artery Disease. *Circulation*. 2019;140(7):529-37.
135. Bonaca MP, Bauersachs RM, Anand SS, Debus ES, Nehler MR, Patel MR, Fanelli F, Capell WH, Diao L, Jaeger N, Hess CN, Pap AF, Kittelson JM, Guduz I, Mátyás L, Krievins DK, Diaz R, Brodmann M, Muehlhofer E, Haskell LP, Berkowitz SD, Hiatt WR. Rivaroxaban in Peripheral Artery Disease after Revascularization. *New England Journal of Medicine*. 2020;382(21):1994-2004.
136. Devereaux PJ, Dupeyron E, Guyatt G, Tandon V, Rodseth R, Biccari BM, Xavier D, Szczeklik W, Meyhoff CS, Vincent J, Franzosi MG, Srinathan SK, Erb J, Magloire P, Neary J, Rao M, Rahate PV, Chaudhry NK, Mayosi B, de Nadal M, Iglesias PP, Berwanger O, Villar JC, Botto F, Eikelboom JW, Sessler DI, Kearon C, Pettit S, Sharma M, Connolly SJ, Bangdiwala SI, Rao-Melacini P, Hoefft A, Yusuf S. Dabigatran in patients with myocardial injury after non-cardiac surgery (MANAGE): an international, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet*. 2018;391(10137):2325-34.
137. Ruetzler K, Smilowitz NR, Berger JS, Devereaux PJ, Maron BA, Newby LK, de Jesus Perez V, Sessler DI, Wijeyesundera DN. Diagnosis and Management of Patients With Myocardial Injury After Noncardiac Surgery: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2021 Nov 9;144(19):e287-e305.
138. Denadai-Souza A, Bonnart C, Tapias NS, Marcellin M, Gilmore B, Alric L, Bonnet D, Bulet-Schiltz O, Hollenberg MD, Vergnolle N, Deraison C. Functional Proteomic Profiling of Secreted Serine Proteases in Health and Inflammatory Bowel Disease. *Scientific Reports*. 2018;8(1):7834.
139. Motta JP, Palese S, Giorgio C, Chapman K, Denadai-Souza A, Rousset P, Sagnat D, Guiraud L, Edir A, Seguy C, Alric L, Bonnet D, Bournet B, Buscail L, Gilletta C, Buret AG, Wallace JL, Hollenberg MD, Oswald E, Barocelli E, Le Grand S, Le Grand B, Deraison C, Vergnolle N. Increased Mucosal Thrombin is Associated with Crohn's Disease and Causes Inflammatory Damage through Protease-activated Receptors Activation. *Journal of Crohn's & colitis*. 2021;15(5):787-99.
140. Brechley JM, Douek DC. HIV infection and the gastrointestinal immune system. *Mucosal Immunology*. 2008;1(1):23-30.
141. Sandler NG, Douek DC. Microbial translocation in HIV infection: causes, consequences and treatment opportunities. *Nature Reviews Microbiology*. 2012;10(9):655-66.
142. Kent SJ, Hough S, Kelleher AD, Law MG, Hutchinson J, Catalfamo M, van Bockel D, Lane C, Baker JV, Emery S. Vorapaxar for HIV-associated inflammation and coagulopathy (ADVICE): a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet HIV*. 2018;5(10):e553-e9.
143. Schoergenhofer C, Schwameis M, Gelbenegger G, Buchtele N, Thaler B, Mussbacher M, Schabbauer G, Wojta J, Jilma-Stohlawetz P, Jilma B. Inhibition of Protease-Activated Receptor (PAR1) Reduces Activation of the Endothelium, Coagulation, Fibrinolysis and Inflammation during Human Endotoxemia. *Thrombosis and haemostasis*. 2018;118(7):1176-84.

Danksagung

Zuerst möchte ich mich bei Prof. Dr. Ulf Landmesser und Prof. Dr. Ursula Rauch-Kröhnert für die Möglichkeit der Durchführung dieser Arbeit und vor allem für ihre jahrelange, freundliche und konstruktive Unterstützung bedanken.

Die geschützte Forschungszeit des BIH Charité Clinician Scientist Programm hat maßgeblich zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen.

Ein herzliches Dankeschön gilt auch allen Mitarbeiterinnen und Mitarbeitern der AG Schneider/Moos und AG Rauch.

Im besonderen Maße bedanken möchte ich mich bei meinem Freund und Kollegen Dr. Marco Witkowski für seine ausdauernde und geduldige Unterstützung.

Zum Schluss möchte ich mich ganz besonders bei meiner Freundin und meiner Familie bedanken ohne deren Unterstützung und uneingeschränktes Verständnis die Arbeit sicher nicht möglich gewesen wäre.

Erklärung

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

Datum: 20.09.2022

Unterschrift: