

# **Die Rolle der CD16+ Monozyten bei koronarer Herzerkrankung**

**Dissertation**

**zur Erlangung des akademischen Grades**

**Doktor der Medizin (Dr. med.)**

**vorgelegt**

**der Medizinischen Fakultät**

**der Martin-Luther-Universität Halle Wittenberg**

**von** Florian Martin Höpfner

**Betreuer:** apl. Prof. Dr. med. habil. Axel Schlitt

**Gutachter:**

apl. Prof. Dr. Britt Hofmann

apl. Prof. Dr. Axel Schlitt, MF / Quedlinburg

Prof. Dr. Christian Schulze, Jena

**Datum der Verteidigung:** 22.08.2023

## Referat

**Einleitung:** Die koronare Herzerkrankung (KHK) bzw. der akute Myokardinfarkt sind trotz stetiger Verbesserung der medizinischen Versorgung und der damit verbundenen Abnahme der Todesfälle pro Jahr immer noch die häufigste Todesursache in Deutschland. Der Pathomechanismus der Erkrankung ist derzeit nicht abschließend geklärt. Vor dem Hintergrund einer Erhöhung der intermediären Monozyten (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>) im Vollblut bei Patienten mit KHK stehen sowohl Lymphozyten als auch Monozyten im Fokus der aktuellen Forschung. Ziel dieser Studie war eine Untersuchung der Subpopulationen der Monozyten (klassische, intermediäre und nichtklassische Monozyten) in Hinsicht auf die prognostische Aussagekraft dieser bei Patienten mit bestehender koronarer Herzerkrankung.

**Methodik:** 1000 Patienten mit dokumentierter koronarer Herzerkrankung konnten in die vorliegende prospektive Kohortenstudie eingeschlossen werden. Neben der Quantifizierung der Monozytensubpopulationen mittels FACS-Analyse aus dem Vollblut der Patienten wurden die klassischen Risikofaktoren der koronaren Herzerkrankung (z.B. Nikotinabusus, positive Familienanamnese, Dyslipoproteinämie, Diabetes mellitus und arterielle Hypertonie erfasst und paraklinischer Parameter (z.B. CRP, kleines Blutbild, Differentialblutbild, Kreatinin, HDL-C, LDL-C und Hb) bestimmt. Der Nachbeobachtungszeitraum wurde auf mindestens 52 Wochen festgelegt. Als primärer Endpunkt wurde ein kombinierter Endpunkt aus kardiovaskulärem Tod, nichttödlichem Myokardinfarkt und nichthämorrhagischem nichttödlichem cerebralem Insult definiert.

**Ergebnisse:** Im Nachbeobachtungszeitraum von im Median 68,4 Wochen erreichten 134 Patienten den primären Endpunkt. In der Ereignisgruppe zeigten sich mehr klassische Monozyten (337 (211/498) vs. 268 (164/431) Zellen/ $\mu$ l;  $p=0,004$ ). Im Vergleich der Tertile der Monozytensubpopulationen blieb dieser Unterschied auch in einer multivariablen Cox-Regression unter Einbeziehung der klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren sowie des BMI bestehen (HR: 1,646 (KI: 1,005-2,699);  $p=0,048$ ). Die anderen Subpopulationen zeigten keinen Unterschied hinsichtlich des Erreichens des primären Endpunktes (intermediäre Monozyten  $p=0,539$ ; nichtklassische Monozyten  $p=0,576$ ).

**Schlussfolgerung:** In der vorliegenden Arbeit war eine erhöhte Anzahl an klassischen Monozyten mit einer erhöhten Rate des primären kombinierten Endpunktes aus kardiovaskulärem Tod, nichttödlichem Myokardinfarkt und nichthämorrhagischem nichttödlichem cerebralem Insult bei Patienten mit manifester koronarer Herzerkrankung assoziiert.

# Inhaltsverzeichnis

## Abkürzungsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	<i>Atherosklerose</i> .....	1
1.2	<i>Koronare Herzerkrankung</i> .....	1
1.3	<i>Atherogenese</i> .....	5
1.4	<i>Monozyten</i> .....	8
<b>2</b>	<b>Zielstellung</b> .....	<b>12</b>
<b>3</b>	<b>Material und Methodik</b> .....	<b>13</b>
3.1	<i>Patientenpopulation</i> .....	13
3.2	<i>Datenerfassung</i> .....	13
3.3	<i>Labormethoden</i> .....	15
3.4	<i>Labormaterialien</i> .....	21
3.5	<i>Statistische Methoden</i> .....	22
<b>4</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>23</b>
4.1	<i>Ergebnisse der Nachbeobachtung</i> .....	23
4.2	<i>Vergleich von Subgruppen</i> .....	23
4.3	<i>Monozytensubpopulationen</i> .....	34
<b>5</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>48</b>
5.1	<i>Monozytensubpopulationen und der primäre Endpunkt</i> .....	48
5.2	<i>Monozytensubpopulationen und sekundäre Endpunkte</i> .....	49
5.3	<i>Monozytensubpopulationen und Laborparameter</i> .....	50
5.4	<i>Monozyten unter dem Einfluss von Begleiterkrankungen oder Medikation</i> .....	51
5.5	<i>Bedeutung der Monozyten in der Pathogenese der Atherosklerose</i> .....	55
5.6	<i>Ansatzpunkte zur medikamentösen Behandlung</i> .....	57
5.7	<i>Einordnung im Vergleich mit anderen Studien</i> .....	59
5.8	<i>Limitationen der Studie</i> .....	60
<b>6</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>61</b>
<b>7</b>	<b>Literatur</b> .....	<b>62</b>
<b>8</b>	<b>Thesen</b> .....	<b>76</b>
	<b>Anhang</b>	

## Abkürzungsverzeichnis

<b>ABI</b>	Knöchel-Arm-Index ( <i>ankle brachial pressure index</i> )
<b>ACE</b>	<i>Angiotensin Converting Enzyme</i>
<b>ACR</b>	<i>Albumin-Creatinine-Ratio</i>
<b>ACS</b>	<i>Acute coronary syndrome</i>
<b>AP</b>	<i>Angina pectoris</i>
<b>ARB</b>	Angiotensinrezeptorblocker
<b>ASS</b>	Acetylsalicylsäure
<b>AT</b>	Angiotensin
<b>bFGF</b>	<i>Basic fibroblast growth factor</i>
<b>BMI</b>	<i>Body-Mass-Index</i>
<b>BNP</b>	<i>Brain Natriuretic Peptide</i>
<b>BSA</b>	Bovines Serumalbumin
<b>CC</b>	Unterfamilie der Chemokine (Position Cysteinrest)
<b>CCL</b>	<i>CC-chemokine ligand</i>
<b>CCR</b>	<i>CC-chemokine receptor</i>
<b>CCS</b>	<i>Canadian Cardiovascular Society</i>
<b>CD</b>	<i>Cluster of Differentiation</i>
<b>CRP</b>	C-reaktives Protein
<b>DSBmT</b>	N,N-bis-(4-sulfobutyl)-m-toluidin Dinatriumsalz
<b>EDTA</b>	Ethylendiamintetraacetat
<b>EGF</b>	<i>Epidermal Growth Factor</i>
<b>eGFR</b>	Errechnete glomeruläre Filtrationsrate
<b>EKG</b>	Elektrokardiogramm
<b>ESC</b>	<i>European Society of Cardiology</i>
<b>FACS</b>	<i>Fluorescence activated cell scanning</i>
<b>FCS</b>	Fetales Kälberserum („fetal calf serum“)
<b>FITC</b>	Fluoresceinisothiocyanat
<b>FSC</b>	<i>Forward scatter</i>
<b>GFR</b>	Glomeruläre Filtrationsrate
<b>GM-CSF</b>	<i>Granulocyte-macrophage colony stimulating factor</i>
<b>Hb</b>	Hämoglobin
<b>HDL-C</b>	<i>High density lipoprotein – cholesterol</i>
<b>HR</b>	<i>Hazard Ratio</i>
<b>hTLR</b>	<i>Human toll-like receptor</i>
<b>ICAM</b>	<i>Intracellular adhesion molecule</i>
<b>IFN</b>	Interferon
<b>IgG</b>	Immunglobulin G
<b>IL</b>	Interleukin
<b>INR</b>	<i>International Normalized Ratio</i>
<b>IRF5</b>	<i>Interferon regulatory factor</i>
<b>KHK</b>	Koronare Herzerkrankung
<b>KI</b>	Konfidenzintervall
<b>LDL</b>	<i>Low density lipoprotein</i>

<b>LDL-C</b>	<i>Low density lipoprotein – cholesterol</i>
<b>LMWH</b>	Niedermolekulares Heparin
<b>LPS</b>	Lipopolysaccharid
<b>MCP</b>	<i>Monocyte chemoattractant protein</i>
<b>M-CSF</b>	<i>Macrophage colony-stimulating factor</i>
<b>MDRD</b>	<i>Modification of diet in renal disease</i>
<b>MHC II</b>	<i>Major histocompatibility complex Class II</i>
<b>MCP</b>	<i>Monocyte chemoattractant protein</i>
<b>MMPs</b>	Metalloproteinasen
<b>Mo1</b>	Klassische Monozyten
<b>Mo2</b>	Intermediäre Monozyten
<b>Mo3</b>	Nichtklassische Monozyten
<b>NSTE-ACS</b>	Nicht ST-Hebungs-akutes Koronarsyndrom
<b>NSTEMI</b>	Nicht-ST-Hebungsmyokardinfarkt
<b>NYHA</b>	<i>New York Heart Association</i>
<b>OAK</b>	Orale Antikoagulation
<b>PAF</b>	<i>Platelet adhesion factor</i>
<b>pAVK</b>	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
<b>PBS</b>	<i>Phosphate buffered saline</i>
<b>PDGF</b>	<i>Platelet derived growth factor</i>
<b>PE</b>	Phycoerythrin
<b>PerCP</b>	<i>Peridinin-chlorophyll-protein complex</i>
<b>PROCAM-Score</b>	<i>Prospective Cardiovascular Münster Score</i>
<b>PTCA</b>	Perkutane transluminale Koronarangioplastie
<b>RAAS</b>	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
<b>RF</b>	Risikofaktoren
<b>SLS</b>	Sodiumlaurylsulfat
<b>SSC</b>	<i>Side scatter</i>
<b>STEMI</b>	ST-Hebungsmyokardinfarkt
<b>TF</b>	<i>Tissue factor</i>
<b>TGF</b>	<i>Transforming Growth Factor</i>
<b>TIA</b>	Transitorische ischämische Attacke
<b>TNF</b>	Tumornekrosefaktor
<b>VCAM</b>	<i>Vascular cell adhesion molecule</i>
<b>VEGF</b>	<i>Vascular endothelial growth factor</i>
<b>VLDL</b>	<i>Very low density lipoprotein</i>
<b>vs</b>	Versus
<b>WHR</b>	<i>Waist-Hip-Ratio</i>

# 1 Einleitung

## 1.1 Atherosklerose

Die Atherosklerose ist eine multifaktorielle, chronisch inflammatorische Erkrankung der arteriellen Gefäße, gekennzeichnet durch einen chronischen Entzündungsprozess der Gefäßwände und folgender kalzifizierender Stenosierung. Klassische Manifestationsorte sind die Koronararterien, die supraaortalen Arterien, die Nierenarterien und die arteriellen Gefäße der Becken-Bein-Achse. Eine Manifestation an anderen Orten ist jedoch ebenfalls möglich. Verschiedene Erkrankungen (z.B. koronare Herzerkrankung, cerebraler Insult, periphere arterielle Verschlusskrankheit) sind durch eine Atherosklerose bedingt. [1–4]

## 1.2 Koronare Herzerkrankung

### 1.2.1 Definition

Nach den aktuellen nationalen Versorgungsleitlinien (2019) wird die koronare Herzerkrankung wie folgt definiert:

*„Die koronare Herzkrankheit (KHK) ist die klinisch relevante Manifestation der Atherosklerose an den Herzkranzarterien. Sie führt häufig zu einem Missverhältnis zwischen Sauerstoffbedarf und Sauerstoffangebot im Herzmuskel. Eine KHK ist mit einem erhöhten Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko verbunden und manifestiert sich typischerweise als Angina pectoris. Abhängig von Häufigkeit und Intensität ist bei Angina-pectoris-Beschwerden oder Belastungsdyspnoe die Lebensqualität vermindert.“ [5]*

### 1.2.2 Epidemiologie

In den vergangenen zehn Jahren stieg die Anzahl der Todesfälle in Deutschland an (2018: 954.874 Todesfälle). Hier ist die ischämische Herzerkrankung, bzw. der akute Myokardinfarkt, trotz stetiger Verbesserung der medizinischen Versorgung und der damit verbundenen Abnahme der Todesfälle pro Jahr immer noch die häufigste Todesursache in Deutschland mit 12,98% der Todesfälle (2018: 123.975 Todesfälle)[6].

Die Lebenszeitprävalenz für eine KHK beträgt in Deutschland 6,5% bei Frauen und 9,2% bei Männern [7]. Die Prävalenz der kardiovaskulären Erkrankungen steigt in den letzten Jahren insbesondere auf Grund der Zunahme der kardiovaskulären Risikofaktoren (Hypertonie, Diabetes mellitus, Dyslipoproteinämie, Rauchen, Adipositas und Bewegungsmangel) an. Patienten mit einer stabilen Angina pectoris Symptomatik zeigen eine Einjahres-Sterblichkeit von 2% bis 3%. Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom zeigen eine Mortalitätsrate von 8% innerhalb der ersten 35 Tage nach dem Ereignis [2].

### **1.2.3 Pathogenese**

Bei der KHK kommt es zur Ausbildung atherosklerotischer Plaques in den epikardialen Koronargefäßen. Hierdurch entsteht eine Einengung des Gefäßvolumens. Durch das Bestehen einer sogenannten koronaren Flussreserve, welche im Wesentlichen durch die Möglichkeit einer Dilatation der Gefäßwand vorhanden ist, kommt es erst ab einer Stenosierung von ca. 50% zu einer Minderperfusion der nachgeschalteten Gewebsareale unter Belastung und bei höhergradigen Stenosen schließlich auch in Ruhe. [2]

### **1.2.4 Symptomatik**

Die Symptomatik der KHK ist als heterogen zu betrachten. Die typische Symptomatik besteht in retrosternalen Schmerzen (Angina pectoris, AP) mit Ausstrahlung in die Arme, insbesondere linksseitig, den Oberbauch, den Rücken oder aber auch in den Unterkiefer.

Weiterhin klagen viele Patienten über ein thorakales Enge- bzw. Druckgefühl (Stenokardie) oder Dyspnoe. In der Regel tritt die Symptomatik initial nur für wenige Minuten und belastungsabhängig (körperliche, aber auch psychische Belastung) auf. Andere Trigger sind zum Beispiel Nikotinkonsum oder Kälteexposition. Meist tritt eine Besserung durch körperliche Schonung oder die Einnahme von Nitroglycerin ein. Allerdings sind viele Patienten mit einer bestehenden Koronaratherosklerose asymptomatisch (stumme Ischämien), sodass eine Erstmanifestation auch mit dem Auftreten einer Komplikation (Myokardinfarkt/Herzrhythmusstörungen) ohne Vorwarnzeichen möglich ist.

Eine Unterteilung der Beschwerden wird in eine stabile Angina pectoris (regelmäßig auftretende Symptomatik ohne Dynamik über einen längeren Zeitraum) und eine instabile Angina pectoris getroffen. Diese definiert sich als jedwedes Erstauftreten der Symptomatik, eine Progredienz der Beschwerden oder aber pectanginöse Beschwerden in Ruhe. Die Beschwerden werden nach Schweregraden unterteilt. Die gängigste Einteilung ist die der *Canadian Cardiovascular Society* (CCS) [8]. Die Schwere der pectanginösen Beschwerden korreliert nicht zwingend mit dem Ausmaß des Gefäßbefalls [1, 2, 5].

### **1.2.5 Diagnostik**

Oft zeigen sich im Elektrokardiogramm (EKG) wegweisende Veränderungen, diese sind jedoch nicht bei jedem Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung zu finden. Bei unauffälligem EKG kann die Durchführung einer Belastungs-EKG-Untersuchung erwogen werden um belastungsinduzierte myokardiale Ischämien EKG-morphologisch zu diagnostizieren. Echokardiographisch lassen sich unter Umständen Wandbewegungsstörungen oder eine Verringerung der linksventrikulären Ejektionsfraktion nachweisen, welche hinweisend auf eine myokardiale Minderperfusion sind, jedoch auch durch andere Erkrankungen bedingt sein können.

Auch hier besteht die Möglichkeit einer Betrachtung unter Belastung zur Erhöhung der Sensitivität (Stressechokardiographie).

Bildgebend stehen die kardiale Computertomographie, das kardiale Magnetresonanztomogramm, die Myokardszintigraphie und als invasives bildgebendes Verfahren die Koronarangiographie zur Verfügung. Den nichtinvasiven Schnittbildverfahren kommt in den letzten Jahren bei immer geringerer (bzw. nicht vorhandener) Strahlenbelastung und besser werdender Bildqualität eine zunehmende Bedeutung zu [5, 8].

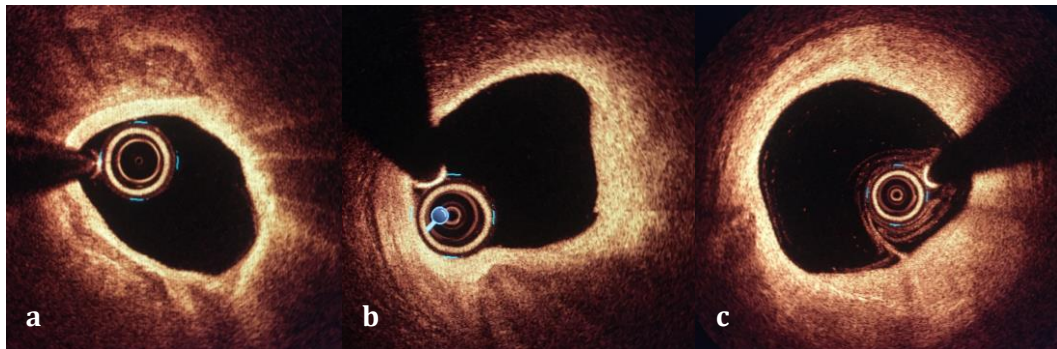


Abbildung 1: Optische Kohärenztomographie eines Koronargefäßes.  
a) kalzifizierte (stabile) Plaque, b) lipidreiche (instabile) Plaque, c) fibröse Plaque

### 1.2.6 Risikofaktoren

Bekannt wichtige (bzw. klassische) Risikofaktoren für eine KHK sind Rauchen, Diabetes mellitus [9], arterielle Hypertonie, eine positive Familienanamnese (genetische Faktoren) [10], Fettstoffwechselstörungen [11–13], männliches Geschlecht, Alter, Übergewicht, Bewegungsmangel und Fehlernährung [14]. Allerdings fallen im klinischen Alltag auch immer wieder Patienten mit einer neu aufgetretenen KHK auf, welche keinen dieser Risikofaktoren aufweisen [8, 15, 16].

Das Atheroskleroserisiko steigt bei Männern zwischen dem 30. und 60. Lebensjahr um den Faktor 6 an. Bei Frauen gleicht sich dieses Risiko erst nach der Menopause dem Risiko der Männer an. Demzufolge scheint ein kardioprotektiver hormoneller Mechanismus bei prämenopausalen Frauen zu bestehen. Bei bestehendem Nikotinabusus steigt das Risiko kongruent zu der Anzahl der gerauchten Packyears (diese errechnen sich aus dem Produkt der Anzahl der gerauchten Schachteln pro Tag und der Anzahl der Jahre des Nikotinabusus).

Die meisten Risikofaktoren sind nicht unabhängig voneinander anzufinden, sondern verstärken sich synergistisch. Sie erhöhen das kardiovaskuläre Risiko kontinuierlich, ein Schwellenwert ist nicht zu erkennen [1, 2]. Zur einfacheren Abschätzung des individuellen Risikos besteht eine Klassifikation der Risikofaktoren [2].

Zur individuellen Abschätzung des Atherosklerose-Risikos bestehen verschiedene Scoringsysteme, in welchen versucht wird der Komplexität des Zusammenhangs der



Risikofaktoren Rechnung zu tragen. Aufgrund ethnisch bedingter Unterschiede in der Relevanz einzelner Risikofaktoren empfiehlt sich die Verwendung nationaler Scores. Für Deutschland wurde der *Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM-)Score* begründet. Weiterhin kann der *European Society of Cardiology (ESC)-Score Deutschland* (bzw. *HeartScore Deutschland*) verwendet werden [17–19].

### 1.2.7 Komplikationen/Folgeerkrankungen

Eine der wesentlichen Komplikationen der Koronaratherosklerose ist ein Einreißen der fibrösen Membran, welche die lipidreiche Plaque bedeckt. Hierdurch kommt es zu einer Aktivierung des Gerinnungssystems und einer Bildung von Thromben mit Verschluss des Koronargefäßes (Hauptursache des ST-Hebungsmyokardinfarktes, STEMI) oder aber zu einer Translokation der Thromben mit folgender Embolie in einem peripheren kleineren Koronargefäß mit dann in der Regel auftretendem akutem Koronarsyndrom ohne ST-Hebung (ACS/NSTEMI) [3, 20].

Alternativ kann es zu einem langsamen Gefäßverschluss durch eine stetig wachsende Plaque kommen, welcher entweder eine Minderperfusion des peripher gelegenen Myokards mit konsekutivem Untergang von Kardiomyozyten und Ausbildung einer Pumpleistungsschwäche des Herzens (Herzinsuffizienz), oder eine Ausbildung von Kollateralgefäßen bedingt, sodass der langsame Verschluss des Gefäßes für das nachgeschaltete Gewebe nutritiv keine wesentliche Relevanz aufzeigt.

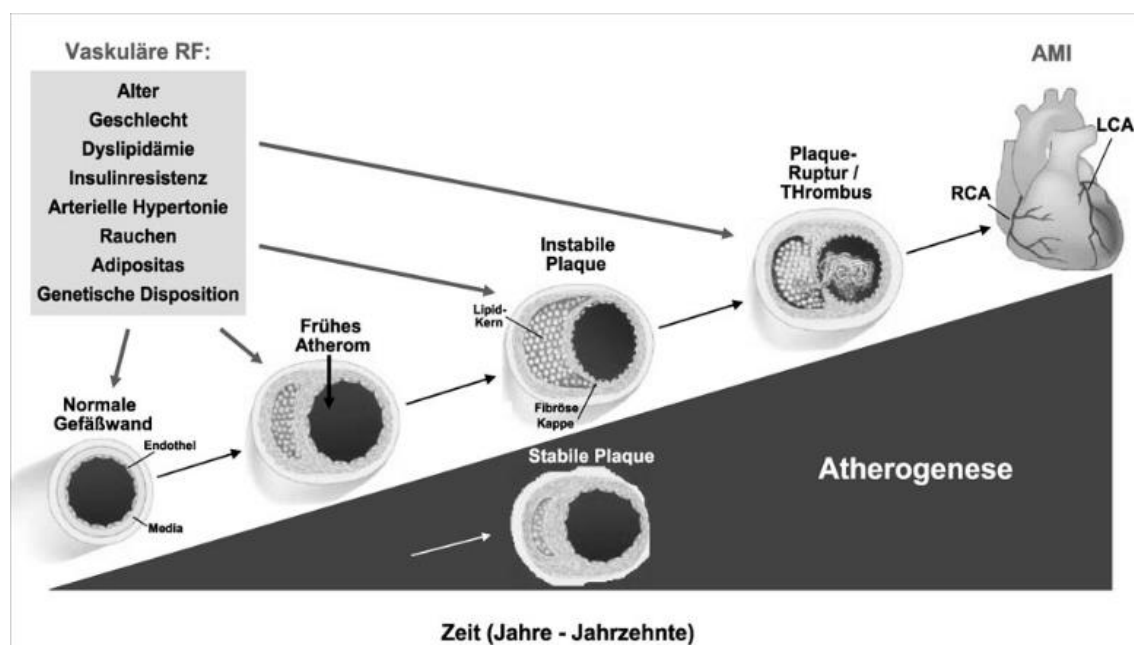


Abbildung 2: Pathogenese der Atherosklerose unter dem Einfluss kardiovaskulärer Risikofaktoren auf die Entstehung und Progression atherosklerotischer Plaques nach [2] (RF: Risikofaktoren; AMI: Akuter Myokardinfarkt; RCA: rechte Koronararterie; LCA: linke Koronararterie)

Durch beide Varianten kann es durch Absterben von Myokardgewebe oder durch eine Funktionsstörung noch vitalen Myokardgewebes (*hibernating myocardium*) mit konsekutiver Abnahme der Pumpfunktion zur Ausprägung einer Herzinsuffizienz kommen.

Bedingt durch strukturelle Veränderungen des Myokards, als auch durch eine Veränderung der Ionenströme über der Zellmembran der Kardiomyozyten mit Dispersion der Refraktärzeiten zwischen gesundem und ischämischem Myokard kann es zu Herzrhythmusstörungen kommen. Insbesondere sind hier Vorhofflimmern/-flattern und ventrikuläre Extrasystolen bis hin zu einer ventrikulären Tachykardie oder aber auch Kammerflimmern möglich [2, 8].

### **1.2.8 Therapie**

Die Therapie der koronaren Herzerkrankung besteht aus der Reduktion der behandelbaren Risikofaktoren. Hier sind zunächst Lebensstilfaktoren wie absolute Nikotinkarenz, körperliches Ausdauertraining, gesunde (mediterrane) Ernährung, Optimierung des Körpergewichts, Stressbewältigung sowie maximal moderater Alkoholgenuss zu erwähnen. Bezüglich der medikamentösen Therapie ist insbesondere eine medikamentöse Therapie mittels Renin-Angiotensin-Aldosteron-System-Blockade (RAAS-Blockade) [21],  $\beta$ -Blockern [22, 23], Hydroxymethylglutaryl-Coenzym A Reduktasehemmern (Statine) [24, 25] sowie Thrombozytenaggregationshemmern hervorzuheben, welche derzeit in den aktuellen Leitlinien empfohlen wird. In Bezug auf die Therapie mittels Statinen [26] und  $\beta$ -Blockern [27, 28] kommt es in den letzten Jahren zu wiederholten weiterführenden Studien und Diskussionen bezüglich neuer Substanzen und der Notwendigkeit uneingeschränkter Empfehlung für Patienten mit koronarer Herzerkrankung.

Weiterhin besteht die Therapie einer instabilen KHK aus der Koronarintervention mittels Koronarangiographie und gegebenenfalls Dilatation des stenosierten Gefäßes in der Regel mit Implantation eines oder mehrerer Stents oder einer aortokoronaren Bypassoperation. Eine kausale Therapieoption bezüglich der Atherosklerose ist derzeit jedoch nicht bekannt [5, 8].

## **1.3 Atherogenese**

Die Entstehung der Atherosklerose ist derzeit nicht endgültig geklärt, jedoch konnten in den vergangenen Jahren in vielen Studien einige Mechanismen aufgedeckt werden, welche zu einem näheren Verständnis geführt haben.

Gesunde normal funktionierende Endothelzellen fördern die Fibrinolyse und hemmen die Adhäsion bzw. Aggregation von Leukozyten. Werden die Endothelzellen jedoch durch verschiedene Stimuli aktiviert (z.B. vermehrte Scherkräfte bei arterieller Hypertonie [29], toxische Wirkungen bei Nikotinabusus oder auch lokale Entzündung) kommt es zu einer verminderten Expression von *Stickstoffmonoxid (NO)*, unter anderem durch dessen Inaktivierung

durch freies *Superoxidanion* ( $O_2^-$ ). Konsekutiv führt dies zur Ausbildung von Adhäsionsmolekülen (*vascular cell adhesion molecule-1(VCAM-1)* [30, 31] und *intracellular adhesion molecule 1 (ICAM-1)*) [32], welche Leukozyten binden. In diesem Kontext versteht man die endotheliale Dysfunktion als ein Ungleichgewicht zwischen Proliferation und Antiproliferation, zwischen Pro- und Antithrombogenität und zwischen Gefäßwandkontraktion und –relaxation [33].

Monozyten, welche am zahlreichsten in einer entzündlichen Plaque zu finden sind, sowie T-Lymphozyten, binden nun an diese Adhäsionsmoleküle der Endothelzellen. Daraufhin kommt es, durch Chemokine (*Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1)* bindet an *monocyte chemokine receptor 2 (CCR2)*) chemotaktisch unterstützt, zu einer Einwanderung der Monozyten in die Intima der Gefäßwand [34]. Dort reifen die Monozyten, stimuliert durch *macrophage colony-stimulating factor (M-CSF)*, zu Makrophagen, welche *scavenger-Rezeptoren* ausbilden und über diese modifizierte Lipoproteine phagozytieren. Hierbei handelt es sich in der Regel um durch freie Radikale oxidiertes *low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C)* [35], welches an den *low density lipoprotein (LDL)*-Rezeptoren der Leber nicht mehr bindet, dadurch vermehrt im Plasma verbleibt und in die Gefäßwand aufgenommen wird [3, 36].

Diese Partikel reichern sich nach Phagozytose im Zellplasma der Makrophagen an, da sie nicht abgebaut werden können, und geben den Makrophagen das typische mikroskopische Bild der Schaumzellen, die in atherosklerotischen Plaques gefunden werden. Die Makrophagen wiederum unterhalten den entzündlichen Prozess, getriggert durch von T-Lymphozyten ausgeschüttetes Interferon- $\gamma$  ( $IFN-\gamma$ ) und Tumornekrosefaktor- $\beta$  ( $TNF-\beta$ ) [4], durch Wachstumsfaktoren, Zytokine und spezielle Enzyme (z.B. Metalloproteinasen (MMPs), *Tissue factor (TF)*, *platelet derived growth factor (PDGF)* und *platelet adhesion factor (PAF)*). Unter anderem bewirkt dies eine chemoattraktive Wirkung auf die glatten Gefäßmuskelzellen der *Tunica media*, die nun in die *Tunica interna* migrieren und dort zu einer Verdickung der Gefäßwand führen [37]. Bis zu diesem Punkt handelt es sich um eine frühe atherosklerotische Läsion, die sogenannte Fettstreifenläsion, auch bezeichnet als *fatty streaks*, welche prinzipiell reversibel sein kann.

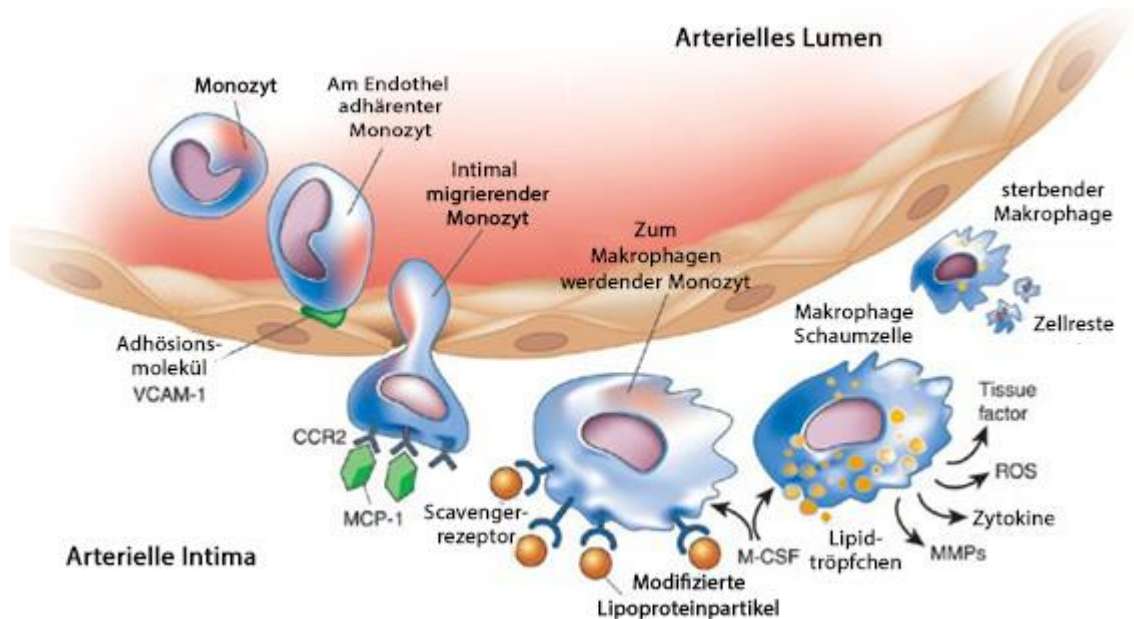


Abbildung 3: Darstellung der Migration eines Monozyten in die Intima modifiziert nach [38] (VCAM-1: vascular cell adhesion molecule-; CCR2: monocyte chemokine receptor 2; MCP-1: monocyte chemoattractant protein-1; M-CSF: macrophage colony-stimulating factor; MMPs: Metalloproteinasen; ROS: Sauerstoffradikale)

Die Migrationsfähigkeit der Makrophagen erscheint durch ihre Veränderung (Schaumzellen) vermindert, was dazu beiträgt, dass die lokale inflammatorische Reaktion unterhalten wird und ein Progress der Plaque zu einem noch komplexeren Gebilde unterstützt wird [39].

Durch die lokalen Inflammationsbotenstoffe kann es jedoch zu einem fibrösen Umbau der betroffenen Gefäßstelle kommen. Man unterscheidet im Wesentlichen zwei Plaqueformen. Zum einen kommt es zur Ausbildung einer sogenannten „stabilen Plaque“, welche aus überwiegend fibrösen Anteilen und einer robusten fibrösen Kappe (*fibrous cap*) besteht. Diese Kappe besteht aus fibrösem Bindegewebe und glatten Muskelzellen. Diese produzieren Wachstumshormone, Kollagene und Elastin. Dadurch trennt diese Kappe den hochthrombogenen, lipid- und entzündungszellreichen Kern vom Blutstrom und trägt zur Stabilität der Plaque bei [40]. Dies führt in der Regel zu einem langsam progredienten Gefäßverschluss.

Zum anderen kann sich jedoch eine „instabile Plaque“ ausbilden, welche im Wesentlichen durch einen hohen Gehalt an oxidiertem LDL-C charakterisiert ist. Nur durch eine sehr dünne fibröse Deckschicht gekennzeichnet kann sie sehr leicht rupturieren und somit zu einem akuten Verschluss des Gefäßes über Gerinnungsaktivierung und Thrombenbildung führen.. Diese Plaquerruptur ist eine wesentliche Hauptursache für das Auftreten des akuten Koronarsyndroms [1, 38]. Der von den Makrophagen produzierte *tissue factor* (TF) ist hierbei eines der hauptsächlichen Prokoagulanzen. [41]. Weiterhin finden sich an der Stelle der Ruptur vermehrt Makrophagen und T-Lymphozyten [42].

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass aktivierte Makrophagen proteolytische Enzyme produzieren, hier sind insbesondere die Metalloproteinasen zu erwähnen, die das Kollagen zersetzen welches die fibröse Kappe stützt [43, 44]. Zusätzlich zeigt das von T-Lymphozyten ausgeschüttete IFN- $\gamma$  eine hemmende Wirkung auf die Kollagenproduktion durch glatte Muskelzellen. Dadurch trägt der inflammatorisch aktive Prozess im Atherom zur Destabilisierung der Plaque bei [45].

## 1.4 Monozyten

Monozyten oder auch mononukleäre Leukozyten sind ein Teil der angeborenen (unspezifischen) Immunabwehr und mit einem Durchmesser von 10-20 $\mu$ m die größten Leukozyten. Sie zählen mit 2-8% (Absolutzahl 100-800/ $\mu$ l) [46–48] zu den anteilig weniger in der Blutbahn vorkommenden Leukozyten. Monozyten werden im Knochenmark gebildet und teilweise in Vorstufen dort gespeichert. Ihre Bildung wird durch *granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF)*, *Interleukin 4 (IL-4)* und *Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )* getriggert [49].

Monozyten sind Precursorzellen. Sie verweilen nur wenige Stunden in der Blutbahn und gelangen schließlich durch ihre gute amöboide Beweglichkeit ins Gewebe. Dort differenzieren sie sich zu dendritischen Zellen oder zu Makrophagen (auch mononukleäre Phagozyten genannt) [50], und können hier bis zu mehreren Monaten überleben. Monozyten verlassen die Blutbahn teilweise ohne akuten Anlass um ein Makrophagenreservoir im perivaskulären, subepithelialen und subserösen Bindegewebe zu bilden. Sie können allerdings auch durch die chemotaktische Wirkung der Komplementkaskade oder durch Mastzellen angelockt werden. Im Gewebe differenzieren sie sich in Abhängigkeit von ihrer Umgebung zu unterschiedlichen Formen. Hier seien die Makrophagen des lockeren Bindegewebes genannt (auch als Histiozyten bezeichnet), Alveolarmakrophagen, Osteoklasten, Kupffer-Sternzellen der Leber, Hofbauer-Zellen der Plazenta, oder auch Makrophagen der Milz, der Lymphknoten und des Knochenmarks [48, 51] Monozyten haben gewöhnlich einen hufeisenförmigen Nukleus mit sichtbaren azidophilen Granula. Sie besitzen viele Lysosomen, welche Säurehydrolasen und Peroxidase enthalten [52].

### 1.4.1 Funktion

Monozyten und Makrophagen sind ein zentraler Bestandteil der angeborenen unspezifischen Immunabwehr (humorales Immunsystem) und interagieren mit dem adaptiven erworbenen Immunsystem [48]. Dies geschieht durch Phagozytose und Pinozytose, Freisetzung von Zytokinen und Antigenpräsentation gegenüber T-Lymphozyten. Sie fungieren in der Regel als im Gewebe residente Wächter. So sie auf pathogene Mikroorganismen oder abgestorbene Zellen treffen erfolgt eine Aktivierung der Monozyten (teils rezeptorvermittelt über Toll-like-Rezeptoren, IFN- $\gamma$ , Immunglobulin G oder Komplement C3b) mit einer anschließenden

Ausschüttung verschiedener Zytokine (z.B. TNF- $\alpha$ , IL-6 und IL-1). Monozyten setzen zudem IL-10 und IL-12 frei und regulieren damit die T-Zell-Antwort.

Zusätzlich können Makrophagen die Wundheilung durch Ausschüttung verschiedener Wachstumsfaktoren fördern (z.B. *Epidermal Growth Factor (EGF)*, *basic fibroblast growth factor (bFGF)*, *Platelet derived growth factor (PDGF)*) [49, 52].

#### **1.4.2 Der CD14 Rezeptor**

Der CD14-Rezeptor ist ein 55 kDa schweres Glykoprotein, welches hauptsächlich auf der Zellmembran von Makrophagen und Monozyten zu finden ist [53]. Er hat eine Opsonin-Rezeptorfunktion und bindet bakterielle Fettsäuren sowie Peptidoglykane und agiert mit Pilzen, apoptotischen Zellen und Bakterien. Insbesondere ist er ein Rezeptor für den Komplex aus Lipopolysaccharid (LPS) und LPS-bindendem Protein. LPS ist vor allem in Zellmembranen von gramnegativen Bakterien zu finden [54, 55]. Monozyten weisen in der Regel eine sehr hohe Dichte an CD14 Rezeptoren auf [56, 57]. Über eine Signaltransduktion mit dem humanen Toll-like-Rezeptor (hTLR) spielt CD14 eine Rolle in der Antigenerkennung und späteren Antigenpräsentation durch Monozyten und Makrophagen [56, 58]. Die Expression von CD14 wird durch TNF- $\alpha$  und IL-1 $\beta$  verstärkt [59].

#### **1.4.3 Der CD16 Rezeptor**

Der CD16 Rezeptor ist ein Fc $\gamma$ -RIII-Rezeptor für das Fc-Fragment des Immunglobulin-G (IgG). Er ist auf Monozyten und natürlichen Killerzellen sowie in einer Isoform in der Zellmembran von neutrophilen Granulozyten zu finden. Die Aktivierung von Phagozyten erfolgt unter anderem über an Oberflächen gebundene IgG-Antikörper, welche an Fc $\gamma$ -Rezeptoren an der Oberfläche der Monozyten spezifisch gebunden werden. Dieser Mechanismus stellt eine Kopplung zwischen spezifischem Abwehrsystem und humoralem Abwehrsystem dar [60]. Die Fc $\gamma$ -Rezeptoren auf der Oberfläche von Makrophagen/Monozyten lassen sich in drei Subtypen unterteilen. Hierzu zählen der Fc $\gamma$ -RI-Rezeptor mit einer hohen IgG-Affinität (CD64), Fc $\gamma$ -RII-Rezeptor mit einer mittleren IgG-Affinität (CD32) und Fc $\gamma$ -RIII-Rezeptor mit einer niedrigen IgG-Affinität (CD16) [52, 61, 62]

#### **1.4.4 CD86**

Auf Monozyten, dendritischen Zellen und aktivierten B-Zellen findet sich CD86 (auch B7-2), ein 80 kDa schweres Membranprotein [63, 64]. Es spielt eine zentrale kostimulatorische Rolle für die T-Zellaktivierung.

CD86 ist zunächst wenig auf der Zellmembran exprimiert. Kommt es jedoch zu einer Aktivierung der o.g. Zellen durch Infektion, Stress oder Zelltod, so wird dieses transkribiert und vermehrt auf der Zelloberfläche exprimiert [65].

### 1.4.5 Unterteilung der Monozyten und deren Bedeutung in inflammatorischen Prozessen

Im Laufe der Jahrzehnte der Monozytenerforschung wurden verschiedene Monozytenoberflächenmarker, Eigenschaften und Unterteilungsmöglichkeiten gefunden. Zunächst ging man von einer homogenen Population aus, welche lediglich als Pool aus Vorläuferzellen für die verschiedenen Gewebsmakrophagen dient. Erstmals konnten Passlick et al. in den 80er Jahren zeigen, dass sich die Population der Monozyten im peripheren Blut mit dem Oberflächenmarker CD16 unterteilen ließ. Da über 90% der Monozyten CD16 negativ waren, wurden diese zunächst als klassische Monozyten bezeichnet und zwei Populationen hieraus abgeleitet. [66]. Später erfolgte die Einteilung in klassische (CD14++CD16-), intermediäre (CD14++CD16+) und nichtklassische Monozyten (CD14+CD16++) [67].

CD14 ist auf nahezu allen Monozyten zu finden, allerdings in unterschiedlicher Intensität. Die Dichte an CD14 Oberflächenmolekülen nimmt ab, wenn sich die Monozyten in Makrophagen differenzieren [68].

Es konnte gezeigt werden, dass CD16+ Monozyten im Vergleich zu CD16- Monozyten bei entzündlichen Erkrankungen exponentiell zunehmen [69, 70]. Auch bei hämodialysierten Patienten konnte eine deutliche Erhöhung der CD16+ Monozyten gesehen werden (>20%) [70]. Hier zeigt sich eine entzündungsfördernde Potenz der CD16+ Monozyten. CD16+ Monozyten zeichnen sich durch eine höhere Expression von *major histocompatibility complex Klasse II (MHC II)* [66] sowie durch eine höhere TNF- $\alpha$  Produktion nach Stimulation im Vergleich zu CD16- Monozyten aus [71]. Ergänzend wurde eine deutlich verminderte Expression von antiinflammatorisch wirksamen IL-10 festgestellt [72].

Weiterhin zeigte die Verlaufsbeobachtung der Monozytensubpopulationen dass sich bei akutem Myokardinfarkt das Verhältnis der Monozytensubpopulationen, jedoch nicht die Gesamtzahl der Monozyten veränderte [73]. In einer anderen Studie konnte gezeigt werden, dass unter Hämodialyse insbesondere die Monozytensubpopulation der nichtklassischen Monozyten verringert wurde und dadurch ein Abfall der Gesamtmonozyten festzustellen war [74]. Demnach erscheint eine Betrachtung der absoluten Monozytenzahlen bei der Quantifizierung der Subpopulationen im Vergleich zu der ebenfalls publizierten relativen Monozytenanzahl die genauere Abbildung dieser heterogenen Gesamtpopulation zu liefern.

Der prozentuale Anteil der CD16+ Monozyten beträgt bei gesunden Probanden ca. 10% der Monozyten. Bei verminderter CD14 Expression und sich den Makrophagen annähernder Funktion vermutet man in den CD16+ Monozyten eine Zwischenstufe zur Entwicklung des Gewebsmakrophagen aus dem Blutmonozyten [66, 75].

Es konnte in zahlreichen Untersuchungen gezeigt werden, dass inflammatorische Prozesse und Zytokine eine ursächliche Wirkung in der Entstehung, dem Wachstum und der Ruptur einer

atherosklerotischen Plaque sowie eine Rolle bei der Thrombogenese nach Plaqueruptur spielen. Hierbei scheint den Monozyten eine zentrale Rolle zuzukommen [3, 4, 38, 41, 45, 76]. Bereits in vorherigen Arbeiten wurde beobachtet, dass bei Patienten mit manifester Atherosklerose und der prozentuale Anteil der nichtklassischen Monozyten im Vergleich zu einer Kontrollgruppe erhöht ist und mit dem Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert ist [77].



## **2 Zielstellung**

Primäres Ziel dieser Studie war die Ermittlung der prognostischen Wertigkeit der Bestimmung absoluter Zahlen der Subpopulationen der Monozyten hinsichtlich der Prognose der koronaren Herzerkrankung bzgl. des Auftretens eines vordefinierten, kombinierten Endpunktes bestehend aus kardiovaskulärem Tod, nichttödlichem Myokardinfarkt und cerebralem Insult in den ersten 52 Wochen nach Einschluss .

Sekundäre Endpunkte waren das Auftreten eines der Ereignisse des kombinierten Endpunktes (nichttödlicher Myokardinfarkt, kardiovaskulärer Tod bzw. cerebraler Insult) und Versterben ohne Differenzierung der Todesursache.

Weitere Ziele der Untersuchung war die Betrachtung der Monozytensubpopulationen in Relation zu den erfassten kardiovaskulären Risikofaktoren, dem Grund der stationären Aufnahme (ST-Hebungsmyokardinfarkt, Nicht-ST-Hebungsmyokardinfarkt, instabile Angina oder stabile Angina), dem Schweregrad der koronaren Herzerkrankung und der Symptomatik dieser (CCS-Klassifikation).

## **3 Material und Methodik**

### **3.1 Patientenpopulation**

In der Zeit von Mai 2007 bis Januar 2009 erfolgte die Rekrutierungsphase der prospektiven klinischen Studie. Der Einschluss in die Studie erfolgte in der Klinik für Innere Medizin III (Kardiologie und Angiologie) und in der Klinik für Herz-Thorax-Chirurgie der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg. Hierbei handelte es sich um Patienten, die als Notfall über die Zentrale Notaufnahme des Klinikums oder elektiv zu einem geplanten Eingriff aufgenommen wurden.

Als Einschlusskriterium galt eine bekannte oder neu diagnostizierte koronare Herzerkrankung. Als Ausschlusskriterien galten eine relevante entzündliche Erkrankung (Sepsis, Lungenentzündung, Harnwegsinfekt o.ä.), Teilnahme an einer interventionellen Studie, fehlende Einwilligungsfähigkeit sowie nicht ausreichende Sprachkenntnisse zum Verständnis der Studie. Die Teilnahme war freiwillig und wurde durch Unterschrift eines jeden Patienten (*informed consent*) bestätigt. Eine Genehmigung durch das klinische Ethikkomitee der Medizinischen Fakultät der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg lag vor.

Insgesamt wurden 1209 Patienten gescreent. 119 Patienten gaben keine Zustimmung zum Einschluss in die Studie, 57 Patienten erschienen nicht einwilligungsfähig, vier Patienten sprachen kein Deutsch, 22 Patienten nahmen bereits an einer interventionellen Studie teil und sieben Patienten wurden bei verlorenen Proben ausgeschlossen, sodass 1000 Patienten in die Studie aufgenommen wurden. Das Studiendesign wurde als Gelegenheitsstichprobe angelegt.

### **3.2 Datenerfassung**

Die Daten der Patienten wurden mittels eines standardisierten Fragebogens erhoben und durch klinisch gestellte Diagnosen ergänzt. Eine systematische Speicherung der Informationen erfolgte unter Verwendung von Microsoft Excel<sup>®</sup>. Hierbei wurden unter anderem Informationen wie Alter, Größe, Gewicht spezifische Anamnese, Entlassungsmedikation sowie aktuelle Laborwerte wie kleines Blutbild, Differentialblutbild, CRP, Triglyceride, Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin und LDL-Cholesterin erfasst.

#### **3.2.1 Anamnese**

Anhand der Anamnese der Patienten wurden klassische Risikofaktoren der koronaren Herzkrankheit erhoben.

Eine arterielle Hypertonie wurde bei positiver Eigenanamnese, einer entsprechenden antihypertensiven Medikation oder aber einem durchschnittlichen Blutdruck über 140mmHg systolisch bzw. 90mmHg diastolisch in der während des stationären Aufenthaltes durchgeführten 24-Stunden-Blutdruckmessung oder wiederholten Einzelmessungen erfasst.

Diabetes mellitus wurde definiert als Diabetes mellitus in der Eigenanamnese, Vorhandensein einer entsprechenden Medikation oder aber einer Erstdiagnose während des stationären Aufenthaltes gemäß den Leitlinien der Deutschen Diabetes Gesellschaft [78].

Nikotinabusus wurde als aktives Rauchen in den vergangenen vier Wochen vor Einschluss in die Studie definiert.

Eine positive Familienanamnese wurde definiert als anamnestisch stattgehabter Myokardinfarkt, plötzlicher Herztod, erfolgte PTCA oder aortokoronare Bypassoperation bei einem Verwandten ersten Grades vor dem 65. Lebensjahr bei weiblichen und vor dem 55. Lebensjahr bei männlichen Angehörigen.

Eine Dyslipoproteinämie wurde erhoben durch positive Eigenanamnese, einen Lipidsenker in der Dauermedikation oder durch den Labornachweis (Nüchterncholesterinwert von >5,2 mmol/l oder ein LDL-Cholesterin >3,9 mmol/l) im Indexaufenthalt.

Weiterhin wurde eine positive Eigenanamnese bezüglich eines Schlaganfalls, einer transitorischen ischämischen Attacke (TIA) oder einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) mit klinischer Stadieneinteilung (nach Fontaine) registriert. Zusätzlich wurde eine Klassifikation der Belastungsluftnot nach der Einteilung der *New York Heart Association* (NYHA I-IV) und der Angina pectoris Symptomatik entsprechend der Klassifikation der *Canadian Cardiovascular Society* (CCS I-IV) vorgenommen.

### 3.2.2 Klinische Messungen

Aus der Größe und dem Gewicht der Patienten wurde der Body-Mass-Index (BMI) berechnet. Hierzu wird der Quotient aus dem Körpergewicht in Kilogramm und der Körpergröße in Metern zum Quadrat gebildet:

$$BMI = \frac{\text{Körpergewicht in kg}}{(\text{Körpergröße in m})^2}$$

Hierbei wurden entsprechend der Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO) Werte von 18,5kg/m<sup>2</sup> bis 24,9kg/m<sup>2</sup> als Normwert angenommen, von 25-29,9kg/ m<sup>2</sup> Übergewicht und ab 30kg/m<sup>2</sup> Adipositas definiert [79].

Weiterhin erfolgte die Bestimmung des Knöchel-Arm-Index (ABI), bei dem dopplersonographisch unterstützt die Bestimmung des arteriellen Verschlussdrucks der *Aa. brachiales* und der *Aa. tibiales anteriores et posteriores* erfolgte. Im Anschluss wurde der Quotient aus dem jeweils höheren Wert der *A. tibialis anterior* bzw. *posterior* (ipsilateral) und dem höheren Wert der *Aa. brachiales* gebildet. Für Werte kleiner als 0,9 ist eine pAVK wahrscheinlich, bei kleiner als 0,7 besteht bereits eine höhergradige Gefäßveränderung und ab einem Wert kleiner als 0,5 eine relevante Ischämiegefahr der unteren Extremität. Werte zwischen

0,9 und 1,2 wurden als Normwerte angesehen. Werte größer als 1,2 weisen auf eine Mediasklerose hin.

### **3.2.3 Nachbeobachtung (Follow up)**

Die Daten wurden mittels standardisierter Anschreiben erhoben. Mit Hilfe eines Fragebogens wurden stattgehabte Ereignisse seit dem Indexaufenthalt erfasst. Hierzu wurden ein erneut aufgetretener Krankenhausaufenthalt und dessen Ursache (kardial/nicht kardial bzw. Herzrhythmusstörungen), ein erstmals oder erneut aufgetretener Myokardinfarkt, ein Schlaganfall, eine (erneute) Herzkatheteruntersuchung mit ggf. erneuter Koronarintervention, eine im Follow-up-Zeitraum aufgetretene Blutungskomplikation bzw. Lungenarterienembolie, sowie der aktuelle Status des Nikotinabusus und die aktuelle Medikation erfragt. Vor Versenden der Anschreiben wurden die Personendaten mit der Datenbank der in dem Universitätsklinikum Halle (Saale) verstorbenen Patienten abgeglichen. Die Daten der intrahospital verstorbenen Patienten wurden aus der Krankenakte erhoben.

Patienten, von denen keine postalische Rückantwort erfolgte, wurden telefonisch kontaktiert, die Daten wurden mündlich erhoben und auf dem betreffenden Fragebogen eingetragen. Zusätzlich wurden bei verstorbenen Patienten, deren Angehörige nicht erreicht wurden, zunächst die Hausärzte und schließlich die Standes- bzw. Einwohnermeldeämter zur Eruiierung der Todesursache kontaktiert.

Als Ereignis (primärer Endpunkt) wurden der nichttödliche Myokardinfarkt und der kardiovaskuläre Tod oder cerebraler Insult definiert. Des Weiteren wurden als sekundäre Endpunkte eine erneute Koronarangiographie mit Notwendigkeit einer Stentimplantation in ein Koronargefäß und das Auftreten eines nichthämorrhagischen nichttödlichen cerebralen Insultes dokumentiert.

Es erfolgte eine Nachbeobachtung der Patienten für im Median 68,4 Wochen (Minimum 1 Woche, Maximum 226,3 Wochen). Insgesamt sandten 791 Studienteilnehmer (bzw. deren Angehörige) den Fragebogen zurück. Bei zwei Patienten erfolgte das Follow-up über einen erneuten stationären Aufenthalt, 169 Personen wurden telefonisch kontaktiert. 31 Nachbeobachtungen wurden mit Hilfe der Bürgerämter oder der Hausärzte durchgeführt. Bei sechs Studienteilnehmern konnte keine erneute Kontaktaufnahme und somit kein Follow-up erstellt werden, was einem Anteil von 0,6% des Patientenkollektivs entspricht. Die Patienten ohne Nachbeobachtung wurden in den folgenden Analysen nicht berücksichtigt.

## **3.3 Labormethoden**

Die venöse Blutentnahme erfolgte am Folgetag des Einschlusses in die Studie morgens und nüchtern an einem beliebigen Tag während des stationären Aufenthaltes. Es wurden 2,7 ml

EDTA-Blut entnommen und im Kühlschrank bis zur Analyse gelagert. Die Lagerzeit bis zur weiteren Analyse sollte 4 Stunden nicht überschreiten. Weiterhin wurde eine 2,7ml Serumgelmonovette asserviert und zur Analytik der weiteren Routineparameter durch das Zentrallabor des Universitätsklinikums Halle (Saale) übergeben.

### 3.3.1 Routinelaborparameter

Die Bestimmung der Laborparameter (Serum-CRP, Triglyceride, Gesamt-Cholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Hämoglobin, Kreatinin, kleines Blutbild sowie Differentialblutbild) erfolgte über das Zentrallabor des Universitätsklinikums Halle mittels etablierter Routinemethoden.

Zur Berechnung der glomerulären Filtrationsrate wurde in dieser Arbeit die Formel nach Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) verwendet:

$$eGFR \left( \frac{ml}{min} \right) = 186 * \left( \frac{\text{Serumkreatinin} \left( \mu \frac{mol}{l} \right)}{76,254} \right)^{-1,154} * (\text{Alter (Jahre)})^{-0,203} * (0,742 \text{ falls weiblich})$$

### 3.3.2 Bestimmung der Monozytensubpopulationen

Um eine Bestimmung der Monozytensubpopulationen durchzuführen ist eine Anfärbung mittels monoklonaler Antikörper und eine anschließende durchflusszytometrische Messung notwendig. Hierzu erfolgte zunächst eine Waschung von 100µl EDTA-Blut mittels 2ml FACS-Puffer (Zusammensetzung siehe 2.4.5). Nach intensiver Mischung (Vortex) und Zentrifugation unter 350g für fünf Minuten wurde der Überstand abgenommen.

Daraufhin wurde ein Mix aus monoklonalen Antikörpern (4µl CD 14 PerCP, 0,5µl CD 16 FITC, 4µl CD 86 PE und 41,5µl FACS-Puffer) hinzugegeben und die Probe für 30 Minuten bei 4°C in Dunkelheit inkubiert.

Die Erythrozyten wurden folgend mittels Zugabe von zwei Milliliter Lysingsolution und zehn Minuten Inkubation unter Raumtemperatur lysiert. Hieraufhin erfolgte eine erneute Zentrifugation unter 350g für fünf Minuten mit anschließender Abnahme des Überstandes und eine darauffolgende Waschung (wie oben beschrieben) mit nochmaliger Zentrifugation und Verwerfen des Überstandes. Schließlich wurden das verbleibende Pellet in 200µl FACS-Puffer aufgenommen und umgehend mittels Durchflusszytometrie analysiert.

Die quantitative Analyse der Monozyten, welche durch immunfluoreszierende Antikörper markiert waren, erfolgte mittels eines Fluoreszenz FACS Calibur Durchflusszytometers der Firma Becton Dickinson und der Analysesoftware Cell Quest der Firma Becton Dickinson.

### 3.3.3 FACS Analyse

Die Durchflusszytometrie (FACS Analyse) dient dazu verschiedene Zellen zu klassifizieren und zu zählen. Dies gelingt durch Ableitung verschiedener Lichtstreuungen, welche entstehen, nachdem die Zellen an einem Laser vorbeigeleitet wurden. Die Unterteilung der Zellen erfolgt nach Größe, Unterschieden in der Streuung des Lichtes durch intrazelluläre Bestandteile bzw. Beschaffenheit der Zellmembran, sowie Anfärbung mittels verschiedener fluoreszierender Antikörper. Das Prinzip besteht darin, dass Zellen mittels eines fluoreszierenden Antikörpers gegen Oberflächenproteine der Zelle markiert werden (in diesem Fall CD14, CD16 und CD86). Diese werden nun in einer Suspension über eine Kapillare in das Durchflusszytometer eingesaugt und schließlich mit Überdruck in einen Flüssigkeitsstrom (Sheath fluid) injiziert. Dieser Flüssigkeitsstrom hat eine höhere Flussgeschwindigkeit als das injizierte Probenmaterial, dadurch werden Zellkonjugate aufgetrennt und fortgetragen.

Durch Verjüngung der Flussstrecke im Bereich der Messküvette kommt es zu einer Flussbeschleunigung, sodass sich ein feiner Strahl aus einzelnen nacheinander aufgereihten Zellen bildet (hydrodynamische Fokussierung). Dieser Strahl passiert nun einen Laserstrahl, welcher jede Zelle einzeln beleuchtet (Siehe Abbildung 4)

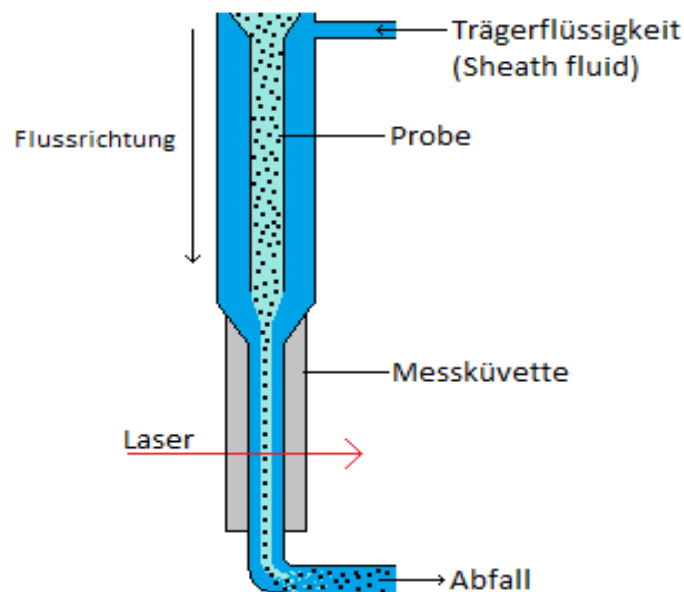


Abbildung 4: Schematische Darstellung eines Durchflusszytometers

Zum einen kommt es hier zu einer Beugung bzw. Reflexion des Lichtes (Streustrahlung). Diese ist abhängig von der Größe, Oberflächenstruktur und Granularität der Zelle. Ein größerer Teil des Lichtes wird in Vorwärtsrichtung des einfallenden Lichtes, also entlang des einfallenden Strahls, gebeugt. Dieses nennt sich Vorwärtststreulicht (*forward scatter, FSC*). Hierüber kann mittels

Lichtdetektoren die Zellgröße gemessen werden. Ein weiterer Teil wird durch die Oberflächenkomplexität bzw. Granularität der Zelle in einem größeren Winkel gebeugt oder reflektiert. Dieses Streulicht wird in einem Winkel von  $90^\circ$  gemessen und nennt sich Seitwärtsstreulicht (*side scatter, SSC*). (siehe Abbildung 5)

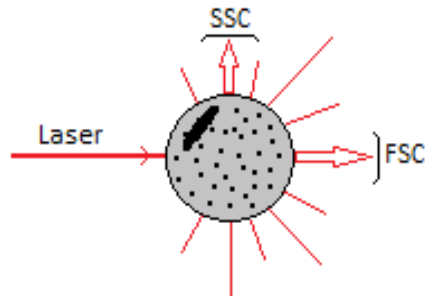


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Detektion des Vorwärtsstreulichts (FSC) und des Seitwärtsstreulichts (SSC)

Zum anderen werden unter Zuhilfenahme von Antikörpern gebundene Farbstoffe, welche an Oberflächenantigene der zu analysierenden Zellen fixiert sind, zur Fluoreszenz angeregt, sodass deren Lichtemission ebenfalls gemessen werden kann. Diese Fluoreszenzen werden ebenfalls im Winkel von  $90^\circ$  zum einfallenden Licht gemessen. Durch mehrere Spiegel- und Filtersysteme wird das zu messende Streulicht in verschiedene Wellenlängen unterteilt und den jeweiligen Detektoren zugeführt. Somit können spezifische Subgruppen einzelner Zellen bestimmt werden. Vor Beginn der Messung wurde die Einstellung der Parameter des Durchflusszytometers überprüft. Es erfolgte zunächst eine Zweiparameterdarstellung in der in einem Fenster (Dotplot) eine Darstellung des FSC gegen das SSC abgebildet wurde. Hier lassen sich verschiedene Zellpopulationen abgrenzen (siehe Abbildung 6)

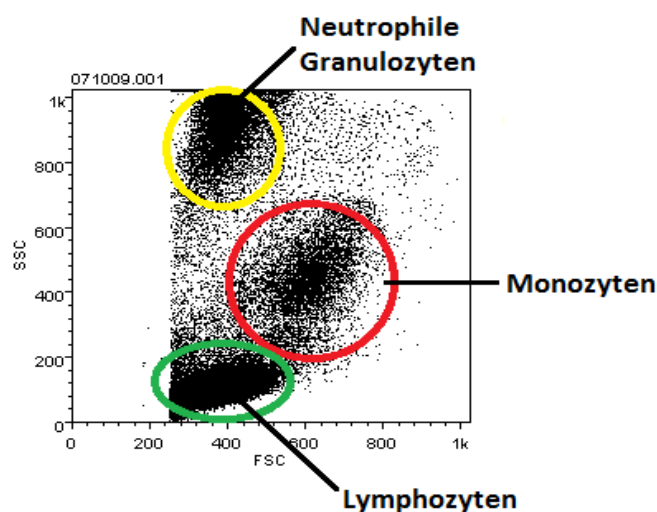


Abbildung 6: Darstellung der Leukozytensubpopulationen im Dotplot FSC/SSC (FSC: forward scatter; SSC: side scatter)

Monozyten als sehr große Zellen bilden sich hier weiter rechts ab bei ausgeprägtem Signal im FSC. Beschädigte bzw. abgestorbene Zellen (Zellbestandteile) finden sich als einzelne Punktsignale weiter links, Zellaggregate als größere Partikel finden sich im Vergleich zu einzelnen Zellen weiter rechts. Zellen eines gleichen Typus stellen sich als komprimierte Punktwolken dar (siehe Abbildung 6). Wie in dieser Abbildung zu sehen, wurde ein sogenannter Threshold angewendet, hierdurch werden sehr kleine Zellen ausgeblendet. Die in dieser Darstellung als Monozyten identifizierten Zellen wurden nun markiert (gating) und in einem neuen Dotplot dargestellt. Hier wurde CD86 gegen das SSC abgebildet (siehe Abbildung 7).

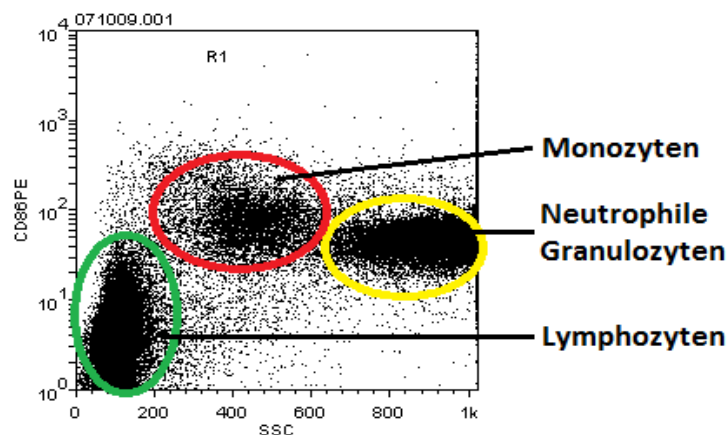


Abbildung 7: Darstellung der unterschiedlichen Leukozytensubpopulationen im Dotplot SSC/CD86 PE  
(SSC: Side scatter; CD: Cluster of Differentiation; PE: Phycoerythrin)

Dieser Dotplot diente zur besseren Abgrenzung der Monozyten von den anderen Zellarten. Hier sind insbesondere Lymphozyten zu erwähnen, die in der FSC/SSC- Darstellung nicht eindeutig von Monozyten abgegrenzt werden können. Auch hier wurden die Monozyten markiert. Schließlich wurde ein erneuter Dotplot dargestellt mit CD14 auf der Y-Achse und CD16 auf der X-Achse. In diesem Dotplot wurden lediglich Zellen dargestellt, welche in den vorhergehend erwähnten Dotplots zuvor markiert wurden (siehe Abbildung 8).



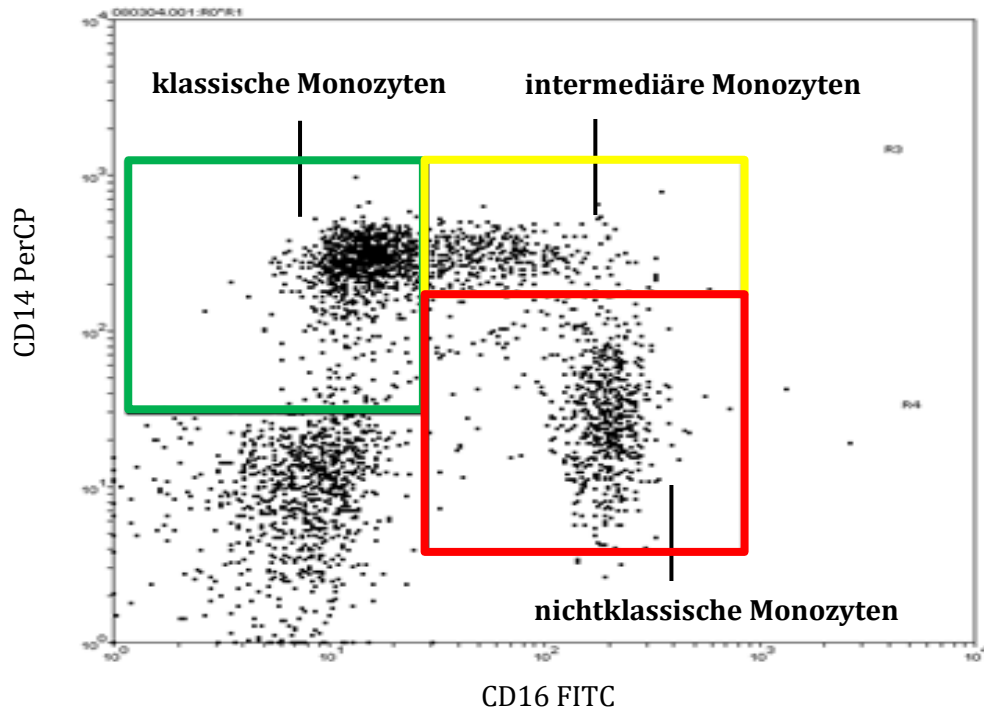


Abbildung 8: Darstellung der unterschiedlichen Monozytensubpopulationen im Dotplot CD16 FITC/CD14 PerCP  
(FITC: Fluoresceinisothiocyanat; PerCP: Peridinin-chlorophyll-protein complex)

In der linken oberen Region zeigen sich CD14 positive Monozyten mit fehlender CD16 Aktivität (CD14++CD16-, klassische Monozyten, Mo1), in der oberen rechten Monozyten mit einer hohen CD14 Aktivität und einer intermediären CD16 Aktivität (CD14++CD16+, intermediäre Monozyten, Mo2) und schließlich in der unteren rechten Region Zellen mit einem schwachen CD14 Signal und einer hohen CD16 Aktivität (CD14+CD16++, nichtklassische Monozyten, Mo3).

Hierdurch ließ sich der prozentuale Anteil der Monozytensubpopulationen bestimmen und in Verbindung mit dem angefertigten Differentialblutbild in absolute Zellzahlen pro Mikroliter umrechnen.

### 3.4 Labormaterialien

#### 3.4.1 Materialliste

1,5 ml Reaktionsgefäße (3810x)	Eppendorf, Hamburg, D.
5 ml FACS-Röhrchen (REF 352052)	BD Falcon, Heidelberg, D.
50 ml Zentrifugenröhrchen (Rotilabo)	Firma Roth, Karlsruhe, D.
Pipettenspitzen (10µl, 100µl, 300µl, 1000µl)	Eppendorf, Hamburg, D.
Pipetten (Reference)	Eppendorf, Hamburg, D.
2,7 ml Kalium-EDTA-Monovetten®	Sarstedt, Nümbrecht, D.
2,6 ml Z-Gel S-Monovetten®	Sarstedt, Nümbrecht, D.
Kanüle für S-Monovette®	Sarstedt, Nümbrecht, D.
Safety-Multifly®-Set	Sarstedt, Nümbrecht, D.
FACS Flow	BD, Heidelberg, D.
FACS RINSE	BD, Heidelberg, D.
FACS CLEAN	BD, Heidelberg, D.
Softasept® N Hautdesinfektion	Braun, Melsungen, D.
Schlinggazetupfer	Fuhrmann, Much, D.

#### 3.4.2 Geräte

Durchflusszytometer (FACS Calibur)	BD, Heidelberg, D.
Eisflockenmaschine (Scotsman AF80)	Tepa, Barsbüttel, D.
Feinwaage (Scaltec SPB 42)	Scaltec Instruments, Heiligenstadt, D.
Gefrierschrank -20°C	Liebherr, Biberach a.d. Riss, D.
Kolbenhubpipetten	Eppendorf, Hamburg, D.
Kühlschrank +4°C	Liebherr, Biberach a.d. Riss, D.
Laborwaage (FI 3100)	Fischer
pH-Meter CG 837	Schott, Mainz, D.
Vortex REAX 2000	Heidolph
Wasseraufbereiter Direct-Q UV 3	Millipore, Eschborn, D
Zentrifuge Rotina 48 RC	Hettich, Tuttlingen, D.
Electronicrührer VarioMAG	Roth, Karlsruhe, D.

#### 3.4.3 Monoklonale Antikörper

<u>Antikörper</u>	<u>Klon</u>	<u>Hersteller</u>
CD 14 PerCP	M-Phi-P9	Becton Dickinson, Heidelberg, D
CD 16 FITC	3G8	Beckman-Coulter
CD 86 PE	HA5.2B7	Beckman-Coulter

### 3.4.4 Substanzen

Aqua dest. (Millipore Direct-Q3-System)	Merck, Darmstadt
BD FACS Lysing Solution	BD Heidelberg, D.
BSA (Albumin FraktionV, Proteasefrei)	Roth, Karlsruhe, D.
FACS-Flow	BD, Heidelberg, D.
Kälberserum FCS	Roth, Karlsruhe, D.
PBS (phosphate buffered Saline)	Sigma-Aldrich, Steinheim, D.
Natriumazid	Roth, Karlsruhe, D.

### 3.4.5 Herstellung der Puffer und Medien

<u>Name</u>	<u>Ingredienz</u>	<u>Menge</u>
<b>FACS-Puffer</b>	BSA	2,5 mg
	NaN3 10%	3,5 ml
	PBS	500 ml
	FCS	25 ml
<b>Lysing Solution</b>	BD Lysing Solution 10-fach	5 ml
	Aqua dest.	45 ml
<b>NaN3 10%</b>	NaN3	10 g
	PBS	100 ml

## 3.5 Statistische Methoden

Die statistische Auswertung erfolgte mittels SPSS 22.0 der Firma IBM. Zur Beschreibung kontinuierlicher, normal verteilter Variablen wurden Mittelwert und Standardabweichung, zur Beschreibung nicht normal verteilter Variablen Median und das 25%- bzw. 75%-Quartil berechnet. Kategoriale Variablen wurden mittels absoluter und relativer Häufigkeiten dokumentiert. Zum Vergleich der Mittelwerte metrischer, unabhängiger normalverteilter Variablen kam der t-Test zur Anwendung. Zum Vergleich nicht normal verteilter metrischer Variablen wurde der Mann-Whitney-U-Test eingesetzt. Der Chi-Quadrat-Test wurde im Falle kategorialer Variablen angewendet.

Die Darstellung der Überlebenswahrscheinlichkeiten der Untergruppen erfolgte durch Kaplan-Meyer-Kurven sowie deren Vergleich mittels Log-Rank-Test. Der Einfluss von Kovariablen auf die Überlebenszeit wurde uni- und multivariabel unter Verwendung der Cox-Regression analysiert.

Die resultierenden p-Werte werden explorativ interpretiert.

## 4 Ergebnisse

Bei 493 Patienten (49,3%) bestand bei Aufnahme eine stabile Angina pectoris. 507 Patienten wurden mit einem akuten Koronarsyndrom (ACS) aufgenommen : 308 Patienten (30,8%) mit instabiler Angina pectoris, 125 Patienten (12,5%) mit einem Nicht-ST-Hebungsmyokardinfarkt (NSTEMI) und 74 Patienten (7,4%) zeigten bei Aufnahme das klinische Bild eines akuten ST-Streckenhebungsinfarktes (STEMI).

### 4.1 Ergebnisse der Nachbeobachtung

Insgesamt erreichten im Follow-up-Zeitraum 134 Patienten nach einem medianen Zeitraum von 34,5 Wochen (Interquartilbereich 10,6/59,6 Wochen) den primären Endpunkt. 92 Patienten sind an einer kardiovaskulären Ursache verstorben im Median nach 33,5 (Interquartilbereich 13,3/58,7) Wochen. 19 Patienten hatten einen nichttödlichen cerebralen Insult im Median nach 45,1 (Interquartilbereich 17,1/65,0) Wochen, 31 Patienten erlitten einen nichttödlichen Myokardinfarkt im Median nach 30,6 (Interquartilbereich 6,9/59,6) Wochen.

Die Diskrepanz aus der Summe der Einzelereignisse und der Gesamtzahl des primären Endpunktes entsteht aus aufgetretenen Mehrfachereignissen. So erlitten fünf Patienten einen nichttödlichen Myokardinfarkt und verstarben im Verlauf an einer kardiovaskulären Ursache, drei Patienten hatten in der Nachbeobachtungszeit sowohl einen nichttödlichen Myokardinfarkt als auch einen nichttödlichen, nichthämorrhagischen cerebralen Insult. Für die Auswertung wurde das jeweilige Erstereignis verwendet.

Im Nachbeobachtungszeitraum verstarben 141 Patienten im Median nach 33,1 Wochen (Interquartilbereich 11,4/59,9 Wochen)

### 4.2 Vergleich von Subgruppen

#### 4.2.1 Alter und Geschlecht

Es wurden mehr Männer als Frauen eingeschlossen (683 Männer vs. 311 Frauen). In der Unterteilung nach Ereignis/kein Ereignis bleibt dieses Verhältnis im Wesentlichen bestehen. Ein relevanter Unterschied zwischen den Geschlechtern hinsichtlich des primären Endpunktes bestand nicht. Bei den Frauen erlitten 12,2% (38 Patientinnen) ein Ereignis, bei den Männern waren es 14,1% (96 Patienten,  $p=0,484$ ; siehe Tabelle 1: *Verteilung des Geschlechts und des Alters in Bezug auf das Erreichen des primären Endpunktes*)

Das Alter der Patienten war im Median 69 Jahre (Minimum 32 Jahre und im Maximum 88 Jahre). In der Ereignisgruppe waren die Patienten im Median 2,5 Jahre älter als die Patienten ohne Ereignis (kein Ereignis 69 Jahre vs. 71,5 Jahre;  $p=0,002$ ;). Die Altersdifferenz fand sich insbesondere bei den Frauen, so waren die Frauen in der Ereignisgruppe mit im Median 75,5

Jahren gut fünf Jahre älter als die Frauen in der ereignisfreien Gruppe mit im Median 70 Jahren ( $p=0,002$ ). Bei den Männern hingegen zeigte sich lediglich ein Trend mit im Median 68 Jahren in der ereignisfreien Gruppe und 70 Jahren in der Gruppe mit Ereignis ( $p=0,083$ ; Vgl. Tabelle 1).

Tabelle 1: Verteilung des Geschlechts und des Alters in Bezug auf das Erreichen des primären Endpunktes

	<b>Gesamt</b>	<b>Kein Ereignis</b>	<b>Ereignis</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Frauen</b>	311 (31,3%)	273 (87,8%)	38 (12,2%)	0,484
<b>Männer</b>	683 (68,7%)	587 (85,9%)	96 (14,1%)	
<b>Alter in Jahren</b> (Minimum/Maximum)	32/88	32/88	41/88	0,002
<b>Alter in Jahren</b> (Median, Q1/Q3)	69,0 (62/75)	69,0 (62/75)	71,5 (64/78)	
<b>Alter nach Geschlecht</b> <b>in Jahren</b> (Median, Q1/Q3)	♂ 68 (60/75)	♂ 68 (60/74)	♂ 70 (61,5/77)	0,083
	♀ 71 (65/77)	♀ 70 (65/76)	♀ 75,5 (69/80)	0,002

#### 4.2.2 Risikofaktoren

Das Vorliegen eines Diabetes mellitus konnte bei 428 von 994 Patienten dokumentiert werden. Im Vergleich hatten deutlich mehr Patienten mit einem Diabetes mellitus ein Ereignis als Patienten ohne Diabetes mellitus (77 Patienten bzw. 18% vs. 57 Patienten bzw. 10,1%;  $p<0,001$ ). Bei isolierter Betrachtung des Risikofaktors arterielle Hypertonie bestand bezüglich des Auftretens des primären Endpunktes kein Unterschied zwischen den Gruppen (mit arterieller Hypertonie 114 Patienten (13%) vs. 20 Patienten (18%) ohne arteriellen Hypertonus;  $p=0,143$ ). Eine positive kardiovaskuläre Familienanamnese erbrachte keinen Zusammenhang mit dem Auftreten des primären Endpunktes. So hatten 52 (12,3%) Patienten mit positiver Familienanamnese ein Ereignis, während 79 (14,4%) Patienten ohne positive Familienanamnese ein Ereignis zeigten ( $p=0,394$ ).

Ein aktiver Nikotinabusus führte tendenziell zu mehr Ereignissen (29 Patienten bzw. 17,3%) als ein nicht (mehr) aktiv betriebener Nikotinabusus (103 Patienten bzw. 12,7%;  $p=0,136$ ). Erwähnenswert bleibt hier, dass sieben Patienten im Nachbeobachtungszeitraum das Rauchen wieder angefangen hatten und sich von den 110 aktiven Rauchern, bei welchen ein Raucherstatus in der Nachbeobachtung bekannt ist, nur noch 46 als aktive Raucher klassifizierten.

Anteilig hatten tendenziell weniger Patienten mit Dyslipoproteinämie (80 Patienten bzw. 12,0%) ein Ereignis im Follow-up-Zeitraum als Patienten ohne Dyslipoproteinämie (50 Patienten bzw. 16,4%;  $p=0,067$ ; siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Unterteilung nach klassischen Risikofaktoren und Erreichen des primären Endpunktes

	<b>Risikofaktor vorhanden</b>	<b>Ereignisse mit Risikofaktor</b>	<b>Risikofaktor nicht vorhanden</b>	<b>Ereignisse ohne Risikofaktor</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Diabetes mellitus</b>	428 (43,1%)	77 (18,0%)	566 (56,9%)	57(10,1%)	<0,001
<b>Arterielle Hypertonie</b>	879 (88,8%)	114 (13,0%)	111 (11,2%)	20 (18,0%)	0,143
<b>Familienanamnese</b>	423 (43,5%)	52 (12,3%)	549 (56,5%)	79 (14,4%)	0,394
<b>Nikotinabusus</b>	168 (17,2%)	29 (17,3%)	809 (82,8%)	103 (12,7%)	0,136
<b>Dyslipo-proteinämie</b>	669 (68,8%)	80 (12,0%)	304 (31,2%)	50 (16,4%)	0,067

Bei Betrachtung des Body-mass-Index (BMI) ergab sich in der Ereignisgruppe mit im Median 26,5 kg/m<sup>2</sup> (Interquartilbereich 24,1/30,9 kg/m<sup>2</sup>) ein niedrigerer Wert als in der Gruppe ohne Ereignis mit im Median 27,8 kg/m<sup>2</sup> (Interquartilbereich 25,3/31,1 kg/m<sup>2</sup>; p=0,025). Betrachtet man diesen Unterschied nochmals nach Geschlechtern differenziert, so bestand kein Unterschied bei den Männern (26,7 kg/m<sup>2</sup> vs. 27,7 kg/m<sup>2</sup>; p=0,243), jedoch fand sich dafür bei den Frauen ein umso deutlicherer Unterschied (25,7 kg/m<sup>2</sup> vs. 28,3 kg/m<sup>2</sup>; p=0,033).

Der Vergleich der Gruppen bezüglich der Waist-Hip-Ratio (WHR) zeigte keinen Unterschied (0,98 vs. 0,97; p=0,572). Auch eine nach Geschlechtern differenzierte Betrachtung blieb ohne Differenz (Männer: 1,0 vs. 1,0; p=0,649; Frauen 0,91 vs. 0,91; p=0,666; siehe Tabelle 3).

Tabelle 3: Vergleich des BMI/WHR nach Erreichen des primären Endpunktes

	Dokumentiert (n)	Gesamt	Kein Ereignis	Ereignis	p-Wert
<b>BMI in kg/m<sup>2</sup></b> (Median, Q1/Q3)	977	27,7 (25,2/31,1)	27,8 (25,3/31,1)	26,5 (24,1/30,9)	0,025
<b>BMI nach Geschlecht</b> (Median, Q1/Q3)	♂673	♂27,7 (25,3/30,7)	♂27,7 (25,5/30,7)	♂26,7 (24,4/31,0)	0,243
	♀304	♀28,0 (24,6/31,6)	♀28,3 (24,8/31,8)	♀25,7 (23,4/30,9)	0,033
<b>WHR</b> (MW±sd)	940	0,97 (±0,08)	0,97 (±0,08)	0,98 (±0,08)	0,572
<b>WHR nach Geschlecht</b> (MW±sd)	♂646	♂1,00 (±0,06)	♂1,00 (±0,06)	♂1,00 (±0,07)	0,649
	♀289	♀0,91 (±0,07)	♀0,91 (±0,07)	♀0,91 (±0,08)	0,666

BMI: Body Mass Index; WHR: Waist-Hip-Ratio

#### 4.2.3 Aufnahmediagnose / Schweregrad der KHK

Die Analyse der Aufnahmediagnosen in Bezug auf die Häufigkeit des primären Endpunktes zeigt eine deutlich erhöhte Ereignisrate in der Patientengruppe mit NSTEMI als Aufnahmediagnose: Die Ereignisrate lag mit 24,2% im Vergleich zu stabiler AP (12,1%), instabiler AP (12,1%) und STEMI (11,1%; p=0,001; Vgl. Tabelle 4) höher.

Tabelle 4: Unterteilung der Aufnahmediagnosen und Erreichen des primären Endpunktes

	Gesamt	Kein Ereignis	Ereignis
<b>Stabile Angina pectoris</b>	488 (49,2%)	429 (87,9%)	59 (12,1%)
<b>Instabile Angina pectoris</b>	307 (31,0%)	270 (87,9%)	37 (12,1%)
<b>Nicht-ST-Hebungsinfarkt</b>	124 (12,5%)	94 (75,8%)	30 (24,2%)
<b>ST-Hebungsinfarkt</b>	72 (7,3%)	64 (88,9%)	8 (11,1%)

Ein Vergleich der Gruppen untereinander spiegelt diesen Unterschied in den p-Werten wider. So zeigte sich ein deutlicher Unterschied in der Anzahl der Ereignisse im Vergleich der NSTEMI-Gruppe zu jeweils allen anderen Gruppen (NSTEMI vs. stabile AP  $p < 0,001$ ; vs. instabile AP  $p = 0,001$ ; vs. STEMI  $p = 0,010$ ). Die anderen Gruppen zeigten untereinander keinen relevanten Unterschied.

#### 4.2.4 Klinische Parameter

Die echokardiographisch bestimmte Ejektionsfraktion war im Median 50% (Interquartilbereich 40% / 57%). In der Ereignisgruppe betrug sie im Median 45% (Interquartilbereich 28% / 52%), in der ereignisfreien Gruppe hingegen im Median 50% (Interquartilbereich 42% / 58%;  $p < 0,001$ ). In der Gruppe der Patienten mit koronarer Eingefäßerkrankung erreichten 19 Patienten (7,4%) den primären Endpunkt, während in der Gruppe der Patienten mit koronarer Zweigefäßerkrankung 24 (10,8%) der Patienten ein Ereignis aufzeigten. Die Patienten mit koronarer Dreigefäßerkrankung hatten 83 (17,0%;  $p = 0,001$ ) Ereignisse.

*Tabelle 5: Häufigkeiten der Anzahl der betroffenen Gefäße unterteilt nach Erreichen des primären Endpunktes*

	<b>Gesamt</b>	<b>Kein Ereignis</b>	<b>Ereignis</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Eingefäß-KHK</b>	256 (26,5%)	237 (92,6%)	19 (7,4%)	<i>0,001</i>
<b>Zweigefäß-KHK</b>	223 (23,1%)	199 (89,2%)	24 (10,8%)	
<b>Dreigefäß-KHK</b>	487 (50,4%)	404 (83,0%)	83 (17,0%)	

*KHK: koronare Herzerkrankung*

In Betrachtung der Schwere der klinisch bestehenden Angina pectoris zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie zeigte sich kein wesentlicher Unterschied. So hatten in der CCS 0-Gruppe 60 Patienten (13,9%), der CCS I-Gruppe sieben Patienten (15,9%), der CCS II-Gruppe 15 Patienten (10,5%), der CCS III-Gruppe 18 Patienten (15,4%) und der CCS IV-Gruppe 23 Patienten (11,4%) ein Ereignis im Sinne des primären Endpunktes ( $p = 0,650$ ; Vgl. Tabelle 6)



*Tabelle 6: Häufigkeiten der CCS-Stadien unterteilt nach Erreichen des primären Endpunktes*

	<b>Gesamt</b>	<b>Kein Ereignis</b>	<b>Ereignis</b>	<b>p-Wert</b>
<b>CCS 0</b>	431 (46,0%)	371 (86,1%)	60 (13,9%)	0,650
<b>CCS I</b>	44 (4,7%)	37 (84,1%)	7 (15,9%)	
<b>CCS II</b>	143 (15,3%)	128 (89,5%)	15 (10,5%)	
<b>CCS III</b>	117 (12,5%)	99 (84,6%)	18 (15,4%)	
<b>CCS IV</b>	202 (21,6%)	179 (88,6%)	23 (11,4%)	

*CCS: Canadian Cardiovascular Society*

In der Unterteilung des Patientenkollektivs nach der NYHA Klassifikation zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie zeigen sich deutlich mehr Ereignisse mit steigender Schwere der Symptomatik. So hatten in der NYHA 0 - Gruppe 36 Patienten (9,0%), in NYHA I zwei Patienten (8,3%) und in NYHA II 31 Patienten (11,9%) ein Ereignis. In den höheren Klassen zeigte sich eine deutliche Zunahme der Ereignisse (NYHA III 38 Patienten (20,9%) und NYHA IV 21 Patienten (21,0%;  $p < 0,001$ ; Vgl. Tabelle 7)

*Tabelle 7: Häufigkeiten der NYHA-Stadien unterteilt nach Erreichen des primären Endpunktes*

	<b>Gesamt</b>	<b>Kein Ereignis</b>	<b>Ereignis</b>	<b>p-Wert</b>
<b>NYHA 0</b>	399 (41,3%)	363 (91,0%)	36 (9,0%)	<0,001
<b>NYHA I</b>	24 (2,5%)	22 (91,7%)	2 (8,3%)	
<b>NYHA II</b>	260 (26,9%)	229 (88,1%)	31 (11,9%)	
<b>NYHA III</b>	182 (18,9%)	144 (79,1%)	38 (20,9%)	
<b>NYHA IV</b>	100 (10,4%)	79 (79,0%)	21 (21,0%)	

*NYHA: New York Heart Association*

Bei isolierter Betrachtung der Patienten mit pAVK und Unterteilung nach Stadien (Fontaine-Klassifikation) zeigt sich keine schlüssige Zunahme (bei geringer Patientenzahl) der Ereignisrate bei schwererem Erkrankungsstadium (Fontaine I: 20,6% vs. Fontaine IIa: 25,0% vs. Fontaine IIb: 14,5% vs. Fontaine III: 37,5% vs. Fontaine IV: 25,0%;  $p=0,478$ ; Vgl. Tabelle 8).

*Tabelle 8: Häufigkeiten der Fontaine-Stadien unterteilt nach Erreichen des primären Endpunktes*

	<b>Gesamt</b>	<b>Kein Ereignis</b>	<b>Ereignis</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Fontaine I</b>	30 (19,2%)	23 (76,7%)	7 (20,6%)	<b>0,478</b>
<b>Fontaine IIa</b>	48 (30,8%)	36 (75,0%)	12 (25,0%)	
<b>Fontaine IIb</b>	62 (39,7%)	53 (85,5%)	9 (14,5%)	
<b>Fontaine III</b>	8 (5,1%)	5 (62,5%)	3 (37,5%)	
<b>Fontaine IV</b>	8 (5,1%)	6 (75,0%)	2 (25,0%)	

*pAVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit*

Während die Unterteilung nach Symptomen (Fontaine-Klassifikation) keine Unterschiede hinsichtlich des Erreichens des primären Endpunktes aufwies, konnte für den objektiven Parameter ABI eine Relevanz der pAVK hinsichtlich des Erreichens des definierten Endpunktes belegt werden. Bei Patienten mit Erreichen des primären kombinierten Endpunktes zeigte sich ein geringerer ABI-Wert als in der Gruppe ohne Ereignis (0,95 vs. 1,01;  $p=0,015$ ). Bei Unterteilung der gemessenen ABI-Werte in normwertig, V.a. pAVK und Mediasklerose zeigten sich in der Normwert-Gruppe weniger Ereignisse in der Gruppe mit Verdacht auf pAVK bzw. Mediasklerose (11,1% vs. 20,8% bzw. 13,0%;  $p=0,002$ ). Eine Analyse dieser drei Gruppen untereinander zeigte einen relevanten Unterschied zwischen der Normwert-Gruppe und der Verdacht auf pAVK-Gruppe hinsichtlich der Häufigkeit des Erreichens des primären Endpunktes ( $p<0,001$ ) sowie einen relevanten Unterschied zwischen der Normwert-Gruppe und der Mediasklerose-Gruppe ( $p=0,047$ ). Ein Unterschied zwischen der Verdacht-auf-pAVK-Gruppe und der Mediasklerose-Gruppe konnte hingegen nicht beobachtet werden ( $p=0,617$ ). Siehe Tabelle 9.

Tabelle 9: ABI-Werte im Vergleich der Gruppen nach Erreichen des primären Endpunktes

	Dokumentiert (n)	Gesamt	Kein Ereignis	Ereignis	p-Wert
<b>ABI</b> (MW $\pm$ sd)	900	1,00 ( $\pm$ 0,26)	1,01 ( $\pm$ 0,26)	0,95 ( $\pm$ 0,28)	0,015
<b>ABI &lt;0,9</b>	226	-	179 (79,2%)	47 (20,8%)	0,002
<b>ABI 0,9 bis 1,2</b>	561	-	499 (88,9%)	62 (11,1%)	
<b>ABI &gt;1,2</b>	108	-	94 (87%)	14 (13,0%)	

ABI: ankle brachial pressure index

#### 4.2.5 Entlassungsmedikation

Eine Medikation mittels  $\beta$ -Blockern bestand bei 94,5% der Patienten. Hiervon erlitten 13,3% ein Ereignis. Im Vergleich zu der Gruppe ohne  $\beta$ -Blocker (11,1% Ereignisrate) zeigte sich hier keine relevante Veränderung ( $p=0,836$ ).

Bei bestehender RAAS-Blockade (ACE-Hemmer oder ARB; 94,3% der Patienten) zeigte sich im Vergleich der Gruppe mit Medikation kein Unterschied zu der Gruppe ohne Medikation (13,4% vs. 10,7%;  $p=0,687$ ). Auch in den Subgruppen ACE-Hemmer oder Angiotensin II-Rezeptorantagonisten (ARB) bestand kein Unterschied zwischen Einnahme der Medikation oder fehlender entsprechender Medikation (ACE-Hemmer  $p=0,093$ ; ARB  $p=0,385$ ).

Statine (Hydroxymethylglutaryl-Coenzym-A-Reduktasehemmer) nahmen 87,2% der Patienten ein. Hiervon zeigten 12,6% der Patienten ein Ereignis, während in der Gruppe ohne Statin (19,7%) deutlich mehr Ereignisse zu beobachten waren ( $p=0,037$ ).

Bezüglich der Antikoagulation bzw. Thrombozytenaggregationshemmung ergaben sich ebenfalls Unterschiede in der Ereignisrate. So zeigte sich in der Gruppe, welche ASS oder Clopidogrel in der Dauermedikation aufwiesen (388 Patienten), eine 10,8% Ereignisquote, während in der Gruppe ohne Plättchenaggregationshemmung eine 18,6% Ereignisquote zu beobachten war ( $p=0,019$ ). Bei den Patienten, welche Clopidogrel und ASS als duale Thrombozytenaggregationshemmung einnahmen (433 Patienten bzw. 43,7%) konnte zwischen den Gruppen mit Medikation (13,5% Ereignisrate) kein bedeutender Unterschied zu den Patienten ohne duale Thrombozytenaggregationshemmung (18,6% Ereignisquote) gesehen werden ( $p=0,125$ ).

Die Patienten, welche eine therapeutische Antikoagulation in Form von Phenprocoumon oder niedermolekularen Heparinen (LMWH) subkutan erhielten, hatten im Beobachtungszeitraum mehr Ereignisse als die Patienten ohne therapeutische Antikoagulation (19% vs. 10,5%;  $p<0,001$ ).

Lag eine Kombinationstherapie aus therapeutischer Antikoagulation und

Thrombozytenaggregationshemmung vor, zeigten sich ebenfalls mehr Ereignisse im Vergleich zu den anderen Patienten (19,4% vs. 11,9%; p=0,010; siehe Tabelle 10).

Tabelle 10: Verteilung der Medikation nach Erreichen des primären Endpunktes

	<b>Medikation vorhanden</b>	<b>Ereignis mit Medikation</b>	<b>Medikation nicht vorhanden</b>	<b>Ereignis ohne Medikation</b>	<b>p-Wert</b>
<b>β-Blocker</b>	932 (94,5%)	124 (13,3%)	54 (5,4%)	6 (11,1%)	0,836
<b>ACE-Hemmer</b>	758 (77,0%)	108 (14,2%)	228 (23,0%)	22 (9,7%)	0,093
<b>ARB</b>	247 (24,9%)	28 (11,3%)	744 (75,1%)	102 (13,8%)	0,385
<b>RAAS-Blockade</b>	933 (94,3%)	124 (13,4%)	57 (5,7%)	6 (10,7%)	0,687
<b>Statine</b>	869 (87,2%)	109 (12,6%)	128 (12,8%)	25 (19,7%)	0,037
<b>ASS <u>oder</u> Clopidogrel</b>	388 (39,1%)	42 (10,8%)	169 (17,0%)	31 (18,6%)	0,019
<b>ASS <u>und</u> Clopidogrel</b>	433 (43,7%)	58 (13,5%)	169 (17,0%)	31 (18,6%)	0,125
<b>Phenprocoumon oder LMWH</b>	336 (34,1%)	64 (19,0%)	654 (65,9%)	68 (10,5%)	<0,001
<b>OAK/LMWH und ASS/Clopidogrel</b>	180 (18,3%)	35 (19,4%)	806 (81,7%)	96 (11,9%)	0,010

ACE: angiotensin converting enzyme; ARB: Angiotensin-Rezeptor-Blocker; ASS: Acetylsalicylsäure; RAAS: Renin-Angiotensin-Aldosteron-System; LMWH: niedermolekulares Heparin; OAK: orale Antikoagulation

#### 4.2.6 Laborparameter

Bezüglich der International Normalized Ratio (INR) zeigte sich in der Ereignisgruppe eine höhere INR als in der Gruppe ohne Ereignis (Median 1,1 vs. 1,0; p<0,001).

Bei der Betrachtung des Kreatininwerts zeigte sich ein höherer Wert in der Ereignisgruppe (111 vs. 89 µmol/l; p<0,001). In der errechneten GFR zeigte sich eine verringerte GFR bei den Patienten mit Ereignis (52,6 vs. 74,2 ml/min; p<0,001).

Die Albumin-Creatinine-Ratio (ACR) war bei den Patienten mit Ereignis im Median 30,2mg/g (Interquartilbereich 8,3/75,3) höher als bei den Patienten ohne Ereignis (Median 7,3 mg/g; Interquartilbereich 4,2/21,2; p<0,001).

Der Hb-Wert zeigte sich in der Ereignisgruppe niedriger als in der Gruppe ohne Ereignis (7,7 vs. 8,2 mmol/l; p<0,001).

Bezüglich der Fettstoffwechselfparameter bestand ein niedrigerer Gesamtcholesterinwert in der Ereignisgruppe (4,3 vs. 4,5 mmol/l;  $p=0,019$ ). Ein ähnliches Bild zeigte sich bei den Triglyceriden mit verminderten Werten in der Ereignisgruppe (1,2 vs. 1,4 mmol/l;  $p=0,011$ ). Sowohl bei Betrachtung des HDL-C (0,9 vs. 1,0 mmol/l;  $p=0,004$ ) als auch bei der Betrachtung des LDL-C (2,5 vs. 2,7 mmol/l;  $p=0,041$ ) zeigten sich ebenfalls verminderte Werte in der Ereignisgruppe. In der Gruppe mit Ereignis konnte ein höheres CRP als in der Gruppe ohne Ereignis gesehen werden (13,1 vs. 7,1 mg/l;  $p<0,001$ ).

Eine deutliche Erhöhung des BNP-Werts konnte in der Ereignisgruppe ebenfalls beobachtet werden (679 vs. 162 pg/ml;  $p<0,001$ ; Vgl. Tabelle 11).

Tabelle 11: Unterteilung der Laborwerte nach Erreichen des primären Endpunktes

	<b>dokumentiert (n)</b>	<b>Gesamt</b>	<b>Kein Ereignis</b>	<b>Ereignis</b>	<b>p-Wert</b>
<b>INR</b> (Median, Q1/Q3)	987	1,0 (0,95/1,14)	1,0 (0,94/1,1)	1,1 (0,99/1,34)	<0,001
<b>Kreatinin</b> In µmol/l; (Median, Q1/Q3)	990	91 (77/117)	89 (76/112)	111 (83/144)	<0,001
<b>eGFR</b> in ml/min (Median, Q1/Q3)	990	72,0 (50,0/94,5)	74,2 (53,4/96,2)	52,6 (37,0/77,8)	<0,001
<b>ACR</b> in mg/g (Median, Q1/Q3)	680	7,9 (4,3/29,8)	7,3 (4,2/21,2)	30,2 (8,3/75,3)	<0,001
<b>Hämoglobin</b> in mmol/l (MW±sd)	997	8,1 (±1,2)	8,2 (±1,2)	7,7 (±1,3)	<0,001
<b>Gesamtcholesterin</b> in mmol/l (Median, Q1/Q3)	771	4,4 (3,7/5,2)	4,5 (3,8/5,2)	4,3 (3,3/5,0)	0,019
<b>Triglyceride</b> in mmol/l (Median, Q1/Q3)	742	1,4 (1,0/2,0)	1,4 (1,1/2,1)	1,2 (0,9/1,9)	0,011
<b>HDL-Cholesterin</b> in mmol/l (Median, Q1/Q3)	740	1,0 (0,8/1,2)	1,0 (0,8/1,2)	0,9 (0,7/1,1)	0,004
<b>LDL-Cholesterin</b> in mmol/l (Median, Q1/Q3)	739	2,7 (2,1/3,3)	2,7 (2,2/3,3)	2,5 (1,8/3,3)	0,041
<b>C-reaktives Protein</b> in mg/l (Median, Q1/Q3)	979	8,0 (5,0/25,1)	7,1 (5,0/23,8)	13,1 (5,5/34,2)	<0,001
<b>BNP</b> in pg/ml (Median, Q1/Q3)	632	201 (66/544)	162 (59/417)	679 (268/1391)	<0,001

INR: international normalized ratio; eGFR: errechnete glomeruläre Filtrationsrate; ACR: Albumin Creatinine Ratio; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; Brain natriuretic Peptide

#### 4.2.7 Blutbild und Differentialblutbild – Monozytensubpopulationen

Bezüglich der Leukozyten zeigte sich kein relevanter Unterschied in Bezug auf das Erreichen des primären Endpunktes (7,8 vs. 7,5 GPt/l; p=0,222). Bei den neutrophilen Granulozyten konnte in der Ereignisgruppe eine Erhöhung des relativen Anteils gesehen werden (66,0% vs. 63,3%; p=0,003). Lymphozyten zeigten sich in der Ereignisgruppe erniedrigt (20,8% vs. 23,9%; p<0,001). Die Betrachtung der eosinophilen Granulozyten erbrachte keinen Unterschied zwischen den beiden Gruppen (3% vs. 3%; p=0,968). Auch bei den Monozyten als Gesamtpopulation in relativen Zahlen konnte kein Unterschied im Vergleich der beiden Gruppen gesehen werden (9% vs. 9%; p=0,392). Bei Betrachtung der absoluten Zahlen der

Monozytengesamtpopulation zeigte sich eine Tendenz zu einer höheren Monozytenkonzentration in der Ereignisgruppe (683 vs. 640 Partikel/ $\mu$ l;  $p=0,061$ ). Siehe Tabelle 12.

*Tabelle 12: Unterteilung des Differentialblutbildes und der Monozytenanzahl nach Erreichen des primären Endpunktes*

	<b>Gesamt</b>	<b>Kein Ereignis</b>	<b>Ereignis</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Leukozyten</b> in Gpt/l (Median, Q1/Q3)	7,5 (6,2/9,2)	7,5 (6,2/9,1)	7,8 (6,3/10,0)	0,222
<b>Neutrophile</b> in % (MW $\pm$ sd)	63,6 ( $\pm$ 9,7)	63,3 ( $\pm$ 9,5)	66,0 ( $\pm$ 10,8)	0,003
<b>Lymphozyten</b> in % (MW $\pm$ sd)	23,5 ( $\pm$ 8,3)	23,9 ( $\pm$ 8,2)	20,8 ( $\pm$ 9,1)	<0,001
<b>Eosinophile</b> in % (Median, Q1/Q3)	3 (2/4)	3 (2/4)	3 (2/4)	0,968
<b>Monozyten</b> in % (Median, Q1/Q3)	9 (7/11)	9 (7/11)	9 (7/11)	0,392
<b>Monozyten</b> in Partikel/ $\mu$ l (Median, Q1/Q3)	649 (512/852)	640 (499/846)	683 (557/882)	0,061

### 4.3 Monozytensubpopulationen

#### 4.3.1 Betrachtung des primären Endpunktes

Bei Betrachtung der relativen Monozytenanzahl zeigten sich mehr klassische Monozyten (Mo1) in der Ereignisgruppe (50,2%) im Vergleich zu der Gruppe ohne Ereignis (46,1%;  $p=0,043$ ). Weiterhin konnten in der Ereignisgruppe weniger intermediäre Monozyten (Mo2) gesehen werden (27,6% vs. 31,4%;  $p=0,035$ ). Hinsichtlich der nichtklassischen Monozyten (Mo3) zeigte sich zwischen den beiden Gruppen kein relevanter Unterschied (22,2% vs. 22,5%;  $p=0,787$ ).

Die Betrachtung der absoluten Zahlen zeigte ein etwas anderes Bild. So ergab sich zwar der in den relativen Zahlen gesehene Unterschied der klassischen Monozyten in der Ereignisgruppe auch bei den absoluten Zahlen (337 Partikel/ $\mu$ l vs. 268 Partikel/ $\mu$ l;  $p=0,004$ ). Jedoch konnte der zuvor in den relativen Zahlen beschriebene Unterschied der intermediären Population in den absoluten Zahlen nicht mehr relevant beobachtet werden (161 Partikel/ $\mu$ l vs. 187 Partikel/ $\mu$ l;  $p=0,539$ ). Bei den nichtklassischen Monozyten zeigte sich auch in den absoluten Zahlen kein Unterschied in den Gruppen bezüglich des primären Endpunktes (135 Partikel/ $\mu$ l vs. 131 Partikel/ $\mu$ l mit Ereignis;  $p=0,576$ , siehe Tabelle 13 und Abbildung 9)

*Tabelle 13: Unterteilung der Monozytensubpopulationen nach Erreichen des primären Endpunktes*

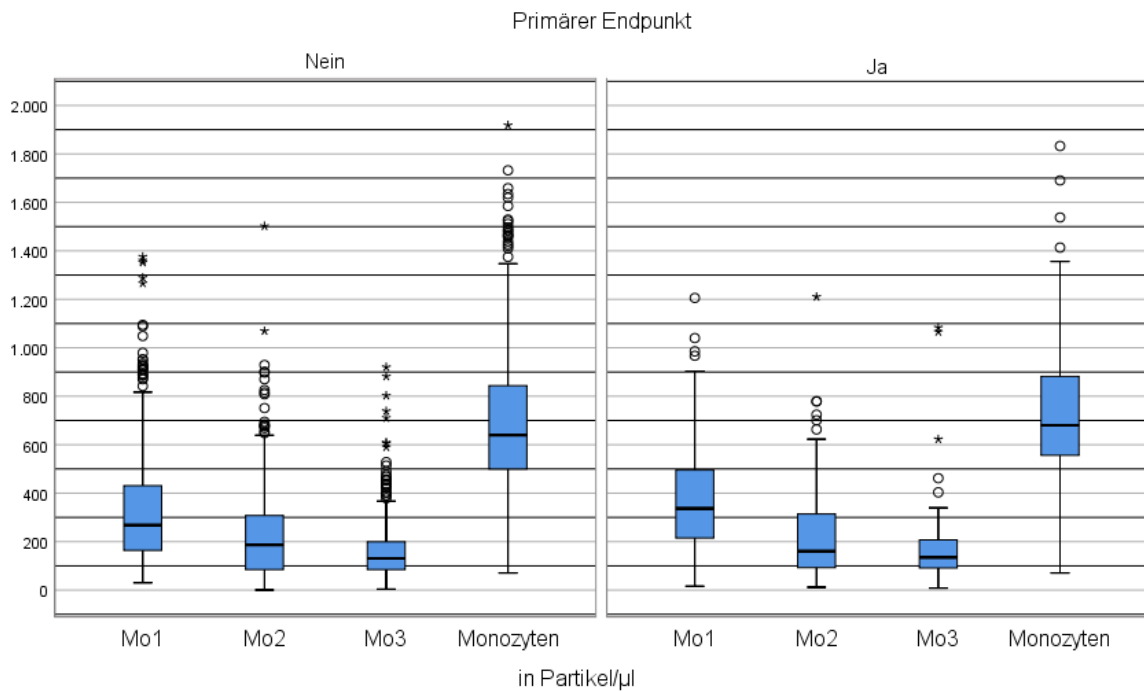
	<b>Gesamt</b>	<b>Kein Ereignis</b>	<b>Ereignis</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Mo1</b> in % (MW±sd)	46,7 (±21,4)	46,1 (±21,6)	50,2 (±19,5)	0,043
<b>Mo2</b> in % (MW±sd)	30,8 (±19,0)	31,4 (±19,3)	27,6 (±17,2)	0,035
<b>Mo3</b> in % (MW±sd)	22,4 (±11,5)	22,5 (±11,4)	22,2 (±12,1)	0,787
<b>Mo1</b> in Partikel/μl (Median, Q1/Q3)	275 (170/440)	268 (164/431)	337 (211/498)	0,004
<b>Mo2</b> in Partikel/μl (Median, Q1/Q3)	183 (84/308)	187 (85/308)	161 (92/319)	0,539
<b>Mo3</b> in Partikel/μl (Median, Q1/Q3)	132 (85/200)	131 (84/199)	135 (90/208)	0,576

*Mo1=klassische Monozyten, Mo2=intermediäre Monozyten, Mo3=nichtklassische Monozyten*

Entsprechend vorhergehender Studien erfolgte die Unterteilung der Monozyten(-subpopulationen) in Tertile.

Bei Betrachtung des primären Endpunktes konnte hinsichtlich der relativen Gesamtmonozytenanzahl kein wegweisender Unterschied gesehen werden (1. Tertil 54 Ereignisse vs. 2. Tertil 34 Ereignisse vs. 3. Tertil 39 Ereignisse;  $p=0,626$ ). Bei der absoluten Gesamtmonozytenanzahl zeigte sich ein Trend zu mehr Ereignissen im zweiten und dritten Tertil (31 Ereignisse vs. 48 Ereignisse vs. 47 Ereignisse;  $p=0,074$ ). Bei Betrachtung der relativen Anzahl der klassischen Monozyten ergaben sich mehr Ereignisse im zweiten und dritten Tertil (31 Ereignisse vs. 53 Ereignisse vs. 46 Ereignisse;  $p=0,034$ ). Hierbei ist zu erwähnen, dass zwischen dem ersten und zweitem Tertil ein relevanter Unterschied bestand ( $p=0,014$ ), während sich zwischen dem ersten und dritten Tertil ( $p=0,069$ ) ein leichter, jedoch zwischen dem zweiten und dritten Tertil ( $p=0,514$ ) kein nennenswerter Unterschied zeigte.





*Abbildung 9: Boxplot der Monozytensubpopulationen unterteilt nach dem primären Endpunkt (Mo1: klassische Monozyten; Mo2: intermediäre Monozyten; Mo3: nichtklassische Monozyten)*

Bei Betrachtung der absoluten Zahlen dieser Subpopulation ergab sich ein ähnliches Bild mit mehr Ereignissen in den höheren Tertilen (28 Ereignisse vs. 45 Ereignisse vs. 50 Ereignisse;  $p=0,021$ ), wobei auch hier zwischen dem ersten und zweiten Tertil ( $p=0,046$ ) sowie auch zwischen dem ersten und dritten Tertil ( $p=0,008$ ) ein deutlicher Unterschied bestand, dieser jedoch nicht zwischen dem zweiten und dritten Tertil ( $p=0,578$ ) zu finden war.

In der Unterteilung der intermediären Monozyten zeigte sich in der relativen Anzahl in den höheren Tertilen ein Trend zu einer Abnahme der Ereignisse (50 vs. 46 vs. 34;  $p=0,152$ ). Allerdings offenbarte sich im Vergleich der jeweiligen Tertile untereinander kein deutlicher Unterschied. Unter Verwendung der absoluten Anzahl der intermediären Monozyten in Tertilen zeigte sich der fehlende Unterschied zwischen den Tertilen in der Anzahl der Ereignisse noch deutlicher. So waren hier die Gruppen nahezu identisch (42 vs. 43 vs. 38;  $p=0,813$ ). Ein ähnliches Bild bestand bei der Betrachtung der nichtklassischen Monozyten. So war hier bei den Tertilen der relativen Anzahl kein wesentlicher Unterschied zu erkennen (46 vs. 46 vs. 38;  $p=0,562$ ) und auch bei Verwendung der absoluten Anzahl blieb dies ohne relevanten Unterschied zwischen den Tertilen (38 vs. 40 vs. 45;  $p=0,725$ ). Auch im Vergleich des ersten zum dritten Tertil bestand kein deutlicher Unterschied ( $p=0,480$ , siehe Tabelle 14).

Tabelle 14: Anzahl der Ereignisse bezüglich der Monozytensubpopulationen nach Tertilen

	<b>Gesamt- ereignisse</b>	<b>1. Tertil</b>	<b>2. Tertil</b>	<b>3. Tertil</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Monozyten in %</b> n=959	127	54 (12,6%)	34 (12,9%)	39 (15,1%)	0,626
<b>Mo1 in %</b> n=992	130	31 (9,4%)	53 (16,1%)	46 (14,1%)	0,034
<b>Mo2 in %</b> n=992	130	50 (15,3%)	46 (13,9%)	34 (10,3%)	0,152
<b>Mo3 in %</b> n= 992	130	46 (14,0%)	46 (14,0%)	38 (11,6%)	0,562
<b>Monozyten in Partikel/<math>\mu</math>l</b> n=951	126	31 (9,7%)	48 (15,2%)	47 (14,8%)	0,074
<b>Mo1 in Partikel/<math>\mu</math>l</b> n=951	123	28 (8,9%)	45 (14,2%)	50 (16%)	0,021
<b>Mo2 in Partikel/<math>\mu</math>l</b> n=951	123	42 (13,5%)	43 (13,6%)	38 (12,0%)	0,813
<b>Mo3 in Partikel/<math>\mu</math>l</b> n=951	123	38 (12,1%)	40 (12,7%)	45 (14,2%)	0,725

*Mo1=klassische Monozyten, Mo2=intermediäre Monozyten, Mo3=nichtklassische Monozyten; n: Anzahl der dokumentierten Fälle*

#### 4.3.2 Betrachtung der sekundären Endpunkte

Hinsichtlich der sekundären Endpunkte ergaben sich bezüglich der neutrophilen Granulozyten bei den Patienten mit kardiovaskulärem Tod höhere Werte als im Gesamtkollektiv. Auch bei nicht spezifizierter Todesursache konnte dieser Unterschied gesehen werden. (Gesamtpopulation 63,6 % vs. kardiovaskulärer Tod 67,8%;  $p < 0,001$ ) vs. nicht spezifizierter Tod 67,5%;  $p < 0,001$ ).

Bezüglich der Lymphozyten präsentierte sich ein umgekehrtes Bild, so zeigten sich hinsichtlich des kardiovaskulären Todes und des nicht spezifizierten Todes anteilig weniger Lymphozyten als bei den Patienten ohne ein entsprechendes Ereignis. (Gesamtpopulation 23,5% vs. Kardiovaskulärer Tod 19,1%;  $p < 0,001$  vs. nicht spezifizierter Tod 18,0%;  $p < 0,001$ ).

Sowohl bei den eosinophilen Granulozyten ( $p = 0,391$ ) als auch hinsichtlich der Gesamtmonozyten in relativen Zahlen konnte kein Unterschied zwischen den Gruppen gesehen werden.

Nach Unterteilung der Monozyten in Subpopulationen zeigten sich in den relativen Zahlen (Gesamtpopulation im Mittelwert 46,7%) tendenziell mehr klassische Monozyten bei den Patienten mit kardiovaskulärem Tod (50,6%;  $p = 0,052$ ) bzw. nicht spezifizierter Tod (49,9;  $p = 0,056$ ). Bezüglich der intermediären Monozyten offenbarten sich weniger bei den Patienten mit nichttödlichem Myokardinfarkt ( $23,7\% \pm 15,7$ ;  $p = 0,033$ ).

In der Population der nichtklassischen Monozyten zeigten sich keine relevanten Differenzen. Die Relationen der Monozyten in absoluten Zahlen ergaben im Vergleich mit der Gesamtpopulation in den Gruppen mit kardiovaskulärem Tod bzw. nicht spezifiziertem Tod eine Erhöhung (Gesamtpopulation 649 Pt/ $\mu$ l vs. kardiovaskulärer Tod 709 Pt/ $\mu$ l vs. nicht spezifizierter Tod 716 Pt/ $\mu$ l;  $p=0,037$  bzw.  $p=0,022$ ).

Es bestand eine Erhöhung der absoluten Anzahl der klassischen Monozyten bezüglich des kardiovaskulären Todes bzw. des nicht spezifizierten Todes (Gesamtpopulation 275 Pt/ $\mu$ l vs. kardiovaskulärer Tod 339 Pt/ $\mu$ l vs. nicht spezifizierter Tod 328 Pt/ $\mu$ l;  $p=0,003$  bzw.  $p=0,005$ ).

In der Subpopulation der intermediären-Monozyten war kein Unterschied zur Gesamtpopulation bezüglich der sekundären Endpunkte zu erkennen. In der Subpopulation der nichtklassischen-Monozyten zeigte sich unter den Gruppen ebenfalls kein Unterschied. (Vgl. Tabelle 15)

Tabelle 15: Sekundäre Endpunkte hinsichtlich Differentialblutbild/Monozytensubpopulationen

	<b>Gesamt</b>	<b>Kardio- vaskulärer Tod</b>	<b>Nichttödlicher Myokardinfarkt</b>	<b>Cerebraler Insult</b>	<b>Nicht spezifizierter Tod</b>
<b>Neutrophile</b> in % n=958 (MW±sd)	63,6 (±9,7)	67,8 (±9,3) <i>p</i> <0,001	63,0 (±7,6) <i>p</i> =0,714	62,2 (±8,8) <i>p</i> =0,659	67,5 (±12,4) <i>p</i> <0,001
<b>Lymphozyten</b> in % n=959 (MW±sd)	23,5 (±8,3)	19,1 (±9,3) <i>p</i> <0,001	23,4 (±7,1) <i>p</i> =0,983	24,9 (±7,6) <i>p</i> =0,656	18,0 (12/25) <i>p</i> <0,001
<b>Monozyten</b> in % n=959 (MW±sd)	9,2 (±4,3)	9,0 (±2,9) <i>p</i> =0,504	9,6 (±2,9) <i>p</i> =0,612	9,0 (7/11) <i>p</i> =0,357	8,9 (±3,2) <i>p</i> =0,340
<b>Mo1</b> in % n=992 (MW±sd)	46,7 (±21,4)	50,6 (±19,4) <i>p</i> =0,052	51,2 (±19,5) <i>p</i> =0,238	49,9 (±20,6) <i>p</i> =0,471	49,9 (±21,2) <i>p</i> =0,056
<b>Mo2</b> in % n=992 (MW±sd)	30,8 (±19,0)	27,8 (±17,5) <i>p</i> =0,090	23,7 (±15,7) <i>p</i> =0,033	30,6 (±16,4) <i>p</i> =0,905	28,7 (±17,9) <i>p</i> =0,134
<b>Mo3</b> in % n= 992 (Median, Q1/Q3)	20,3 (13,9/28,9)	18,8 (12,9/26,4) <i>p</i> =0,263	20,4 (15,9/29,7) <i>p</i> =0,285	16,0 (13,4/27,4) <i>p</i> =0,123	18,3 (12,5/27,2) <i>p</i> =0,090
<b>Monozyten</b> in Partikel/μl n=951 (Median, Q1/Q3)	649 (512/852)	709 (559/911) <i>p</i> =0,037	648 (508/818) <i>p</i> =0,923	648 (543/799) <i>p</i> =0,820	716 (551/930) <i>p</i> =0,022
<b>Mo1</b> in Partikel/μl n=951 (Median, Q1/Q3)	275 (170/440)	339 (221/535) <i>p</i> =0,003	330 (212/459) <i>p</i> =0,291	327 (180/395) <i>p</i> =0,711	328 (200/531) <i>p</i> =0,005
<b>Mo2</b> in Partikel/μl n=951 (Median, Q1/Q3)	183 (84/308)	158 (86/326) <i>p</i> =0,703	134 (58/234) <i>p</i> =0,068	195 (117/337) <i>p</i> =0,362	185 (82/314) <i>p</i> =0,970
<b>Mo3</b> in Partikel/μl n=951 (Median, Q1/Q3)	132 (85/200)	134 (88/204) <i>p</i> =0,952	149 (98/210) <i>p</i> =0,307	109 (84/207) <i>p</i> =0,761	132 (80/207) <i>p</i> =0,870

Mo1=klassische Monozyten, Mo2=intermediäre Monozyten, Mo3=nichtklassische Monozyten

Unter ausschließlicher Betrachtung des **kardiovaskulären Todes** zeigte sich zwischen den Tertilen der absoluten Anzahl der Monozyten tendenziell eine Zunahme der Ereignisse in den höheren Tertilen (21 vs. 31 vs. 36;  $p=0,109$ ; erstes gegen drittes Tertial  $p=0,054$ ).

Der Vergleich der Tertile der klassischen Monozyten zeigte bei der relativen Anzahl eine Zunahme der Ereignisse in den höheren Tertilen (19 vs. 39 vs. 31;  $p=0,023$ ), wobei dieses im Wesentlichen auf den Unterschied zwischen dem ersten und zweiten Tertil zurückzuführen ist ( $p=0,022$ ), während zwischen erstem und drittem ( $p=0,166$ ) sowie zweitem und drittem Tertil ( $p=0,545$ ) kein nachhaltiger Unterschied zu erkennen war. Im Vergleich der Tertile der absoluten Anzahl ergaben sich wiederum mehr Ereignisse in den höheren Tertilen (18 vs. 31 vs. 36;  $p=0,035$ ). Hier besteht ein Unterschied vor allem zwischen dem ersten und dritten Tertil ( $p=0,029$ ), während sich zwischen erstem und zweitem ( $p=0,154$ ) sowie zweitem und drittem Tertil ( $p=0,589$ ) kein relevanter Unterschied mehr ergab.

Ähnlich zum primären Endpunkt zeigte sich in Betrachtung der intermediären Monozyten in der relativen Anzahl ein Trend zu weniger Ereignissen in den höheren Tertilen (33 vs. 31 vs. 25;  $p=0,534$ ), sowie bei Betrachtung der absoluten Anzahl kein Unterschied mehr zwischen den Tertilen (29 vs. 28 vs. 28;  $p=0,983$ ; siehe Tabelle 16).

Tabelle 16: Häufigkeit des kardiovaskulären Todes nach Tertilen der Monozytensubpopulationen

	<b>Gesamt- ereignisse</b>	<b>1. Tertil</b>	<b>2. Tertil</b>	<b>3. Tertil</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Monozyten in %</b> n=959	88	39 (9,0%)	24 (9,0%)	25 (9,6%)	0,965
<b>Mo1 in %</b> n=992	89	19 (5,7%)	39 (11,8%)	31 (9,4%)	0,023
<b>Mo2 in %</b> n=992	89	33 (10,0%)	31 (9,4%)	25 (7,6%)	0,534
<b>Mo3 in %</b> n= 992	89	31 (9,4%)	35 (10,6%)	23 (7,0%)	0,256
<b>Monozyten in Partikel/μl</b> n=951	88	21 (6,6%)	31 (9,7%)	36 (11,3%)	0,109
<b>Mo1 in Partikel/μl</b> n=951	85	18 (5,7%)	31 (9,8%)	36 (11,4%)	0,035
<b>Mo2 in Partikel/μl</b> n=951	85	29 (9,2%)	28 (8,8%)	28 (8,8%)	0,983
<b>Mo3 in Partikel/μl</b> n=951	85	26 (8,2%)	29 (9,2%)	30 (9,4%)	0,848

*Mo1=klassische Monozyten, Mo2=intermediäre Monozyten, Mo3=nichtklassische Monozyten*

Die Analyse der Patienten mit im Nachbeobachtungszeitraum stattgehabtem **nichttödlichem Myokardinfarkt** erbrachte unter den Tertilen der klassischen Monozyten weder in der relativen Anzahl (6 vs. 14 vs. 11; p=0,196) noch in der absoluten Anzahl (6 vs. 11 vs. 12; p=0,332) einen deutlichen Unterschied. Zwischen dem ersten und dritten Tertil der absoluten Anzahl zeigte sich ein Trend mit Zunahme der Ereignisse um 100%, jedoch statistische Relevanz (p=0,102). Im Blick auf die intermediären Monozyten war ebenfalls eine Abnahme der Ereignisse in den höheren Tertilen zu sehen (15 vs. 11 vs. 5; p=0,081; erstes vs. Drittes Tertil p=0,038). Ähnlich zeigte sich dieses auch tendenziell in der absoluten Anzahl der intermediären Monozyten (13 vs. 12 vs. 4; p=0,073; siehe Tabelle 17).

Tabelle 17: Nichttödlicher Myokardinfarkt nach Tertilen der Monozytensubpopulationen

	<b>Gesamt- ereignisse</b>	<b>1. Tertil</b>	<b>2. Tertil</b>	<b>3. Tertil</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Monozyten</b> in % n=959	30	11 (2,6%)	8 (3,0%)	11 (4,2%)	0,472
<b>Mo1</b> in % n=992	31	6 (1,8%)	14 (4,2%)	11 (3,3%)	0,196
<b>Mo2</b> in % n=992	31	15 (4,5%)	11 (3,3%)	5 (1,5%)	0,081
<b>Mo3</b> in % n= 992	31	8 (2,4%)	11 (3,3%)	12 (3,6%)	0,645
<b>Monozyten</b> in Partikel/ $\mu$ l n=951	29	9 (2,8%)	12 (3,8%)	8 (2,5%)	0,628
<b>Mo1</b> in Partikel/ $\mu$ l n=951	29	6 (1,9%)	11 (3,5%)	12 (3,8%)	0,332
<b>Mo2</b> in Partikel/ $\mu$ l n=951	29	13 (4,1%)	12 (3,8%)	4 (1,3%)	0,073
<b>Mo3</b> in Partikel/ $\mu$ l n=951	29	8 (2,5%)	8 (2,5%)	13 (4,1%)	0,418

*Mo1=klassische Monozyten, Mo2=intermediäre Monozyten, Mo3=nichtklassische Monozyten*

Ein deutlicher Unterschied bezüglich des Auftretens eines **nichttödlichen nichthämorrhagischen cerebralen Insults** konnte zwischen den Tertilen der Monozyten und deren Subpopulationen nicht beobachtet werden (siehe Tabelle 18).

Tabelle 18: Nichttödlicher cerebraler Insult nach Tertilen der Monozytensubpopulationen

	<b>Gesamt- ereignisse</b>	<b>1. Tertil</b>	<b>2. Tertil</b>	<b>3. Tertil</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Monozyten in %</b> n=959	17	7 (1,6%)	5 (1,9%)	5 (1,9%)	0,951
<b>Mo1 in %</b> n=992	18	6 (1,8%)	5 (1,5%)	7 (2,1%)	0,841
<b>Mo2 in %</b> n=992	18	5 (1,5%)	8 (2,4%)	5 (1,5%)	0,603
<b>Mo3 in %</b> n= 992	18	10 (3,0%)	3 (0,9%)	5 (1,5%)	0,111
<b>Monozyten in Partikel/<math>\mu</math>l</b> n=951	17	4 (1,3%)	8 (2,5%)	5 (1,6%)	0,457
<b>Mo1 in Partikel/<math>\mu</math>l</b> n=951	17	5 (1,6%)	7 (2,2%)	5 (1,6%)	0,787
<b>Mo2 in Partikel/<math>\mu</math>l</b> n=951	17	4 (1,3%)	6 (1,9%)	7 (2,2%)	0,664
<b>Mo3 in Partikel/<math>\mu</math>l</b> n=951	17	7 (2,2%)	5 (1,6%)	5 (1,6%)	0,787

*Mo1=klassische Monozyten, Mo2=intermediäre Monozyten, Mo3=nichtklassische Monozyten*

Unter alleiniger Berücksichtigung des **nicht spezifizierten Todes** der Patienten im Nachbeobachtungszeitraum zeigte sich zwischen den Tertilen der absoluten Gesamtmonozytenanzahl ein Trend zu mehr Ereignissen in den höheren Tertilen (35 vs. 43 vs. 55;  $p=0,067$ ). Der Unterschied zwischen dem ersten und dem dritten Tertil zeigte sich deutlich ( $p=0,023$ ).

Bei Betrachtung der Subpopulationen ergab sich bei den klassischen Monozyten kein Unterschied zwischen den Tertilen der relativen Monozytenanzahl (34 vs. 54 vs. 49;  $p=0,066$ ). Zwischen den Tertilen der absoluten Anzahl bestand jedoch ein klarer Unterschied mit mehr Ereignissen in den höheren Tertilen (32 vs. 44 vs. 53;  $p=0,046$ ).



*Tabelle 19: Häufigkeit von nicht spezifizierten Todesfällen nach Tertilen der Monozytensubpopulationen*

	<b>Gesamt- ereignisse</b>	<b>1. Tertil</b>	<b>2. Tertil</b>	<b>3. Tertil</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Monozyten in %</b> n=959	133	62 (14,4%)	32 (12,2%)	39 (15,1%)	0,607
<b>Mo1 in %</b> n=992	137	34 (10,4%)	54 (16,4%)	49 (15,0%)	0,066
<b>Mo2 in %</b> n=992	137	48 (14,7%)	50 (15,2%)	39 (11,9%)	0,436
<b>Mo3 in %</b> n= 992	137	55 (16,8%)	44 (13,4%)	38 (11,6%)	0,151
<b>Monozyten in Partikel/μl</b> n=951	133	35 (11,0%)	43 (13,7%)	55 (17,4%)	0,067
<b>Mo1 in Partikel/μl</b> n=951	129	32 (10,2%)	44 (13,9%)	53 (17,0%)	0,046
<b>Mo2 in Partikel/μl</b> n=951	129	42 (13,5%)	43 (13,6%)	44 (14,0%)	0,977
<b>Mo3 in Partikel/μl</b> n=951	129	43 (13,7%)	41 (13,1%)	45 (14,3%)	0,904

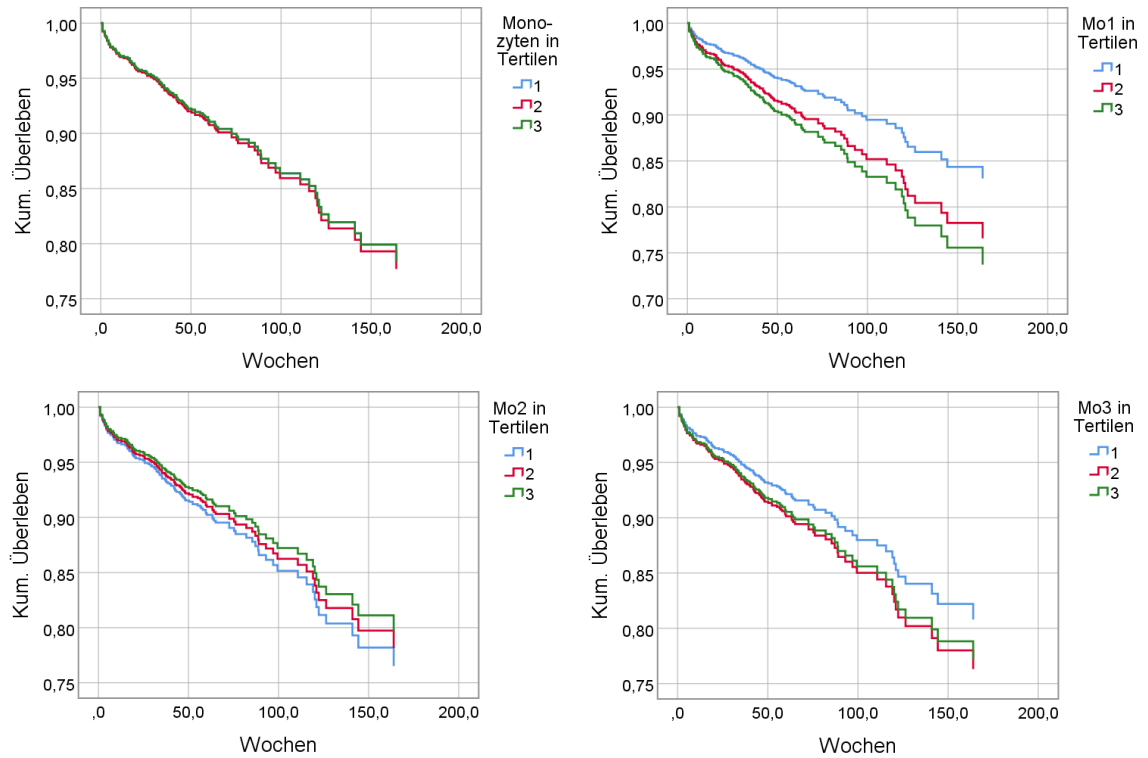
*Mo1=klassische Monozyten, Mo2=intermediäre Monozyten, Mo3=nichtklassische Monozyten*

### **4.3.3 Multivariable Cox Regression**

In der durchgeführten multivariablen Analyse (Cox-Regression) erfolgte die Hinzunahme der klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren, sowie des BMI, Vorliegen eines akuten Koronarsyndroms und Schwere der koronaren Herzerkrankung (Anzahl der erkrankten Gefäße) sowie zuvor erkannter relevanter Einflussfaktoren (linksventrikuläre Ejektionsfraktion, Serumkreatinin, Hämoglobin und CRP).

In der multivariablen Analyse zeigten sich aktives Rauchen (HR=1,995; p=0,016), Diabetes mellitus (HR=2,357; p=0,001), das Vorliegen eines akuten Koronarsyndroms (HR=1,978; p=0,007), die reduzierte linksventrikuläre Pumpfunktion (HR=0,070; p=0,002), das Serumkreatinin (HR=1,003; p=0,006) sowie das C-reaktive Protein (HR=1,007; p=0,003) als die wesentlichen Risikofaktoren. Dahingegen wiesen das Lebensalter (HR=1,015; p=0,294), männliches Geschlecht (HR=0,938; p=0,820), eine positive Familienanamnese (HR=0,702; p=0,149), eine Dyslipoproteinämie (HR=0,857; p=0,550), eine arterielle Hypertonie (HR=0,642; p=0,263), Hämoglobin (HR=0,824; p=0,076), BMI (HR=0,958; p=0,117) sowie die Anzahl der erkrankten Koronargefäße (p=0,240) keinen deutlichen Einfluss auf das Auftreten des primären Endpunktes auf.

Die Betrachtung der Monozyten und deren Subpopulationen zeigte in der multivariablen Analyse einen Einfluss der Anzahl der klassischen Monozyten im Vergleich des dritten mit dem ersten Tertil (HR=2,013; p=0,027) auf das Auftreten des primären Endpunktes (siehe Tabelle 20 und 21).



*Abbildung 10: Kaplan-Meier-Kurven der multivariablen Cox-Regression bezüglich der Monozytensubpopulationen in Tertilen (Mo1: klassische Monozyten; Mo2: intermediäre Monozyten; Mo3: nichtklassische Monozyten; Kum.Überleben: kumulatives Überleben)*

Tabelle 20: Multivariable Analyse der Risikofaktoren und relevanten Einflussfaktoren in Hinsicht auf den kombinierten primären Endpunkt.

	<b>Hazard-Ratio</b>	<b>95% Konfidenzintervall</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Männliches Geschlecht</b>	0,935	0,538-1,632	0,820
<b>Alter</b>	1,015	0,988-1,042	0,294
<b>Aktives Rauchen</b>	<i>1,995</i>	<i>1,139-3,491</i>	<i>0,016</i>
<b>Familienanamnese</b>	0,702	0,434-1,135	0,149
<b>Dyslipoproteinämie</b>	0,857	0,516-1,423	0,550
<b>Diabetes mellitus</b>	<i>2,357</i>	<i>1,444-3,847</i>	<i>0,001</i>
<b>Arterielle Hypertonie</b>	0,642	0,295-1,395	0,263
<b>BMI</b>	0,958	0,908-1,011	0,117
<b>Akutes Koronarsyndrom</b>	<i>1,978</i>	<i>1,206-3,243</i>	<i>0,007</i>
<b>Anzahl der erkrankten Gefäße</b>			0,240
Tertil 2 vs. Tertil 1	1,205	0,576-2,520	0,620
Tertil 3 vs. Tertil 1	1,650	0,872-3,124	0,124
<b>Klassische Monozyten (Mo1)</b>			0,078
Tertil 2 vs. Tertil 1	1,780	0,950-3,336	0,072
Tertil 3 vs. Tertil 1	<i>2,013</i>	<i>1,082-3,745</i>	<i>0,027</i>
<b>Intermediäre Monocyten (Mo2)</b>			0,658
Tertil 2 vs. Tertil 1	0,826	0,463-1,472	0,516
Tertil 3 vs. Tertil 1	0,756	0,411-1,390	0,368
<b>Nichtklassische Monozyten (Mo3)</b>			0,111
Tertil 2 vs. Tertil 1	1,648	0,928-2,925	0,088
Tertil 3 vs. Tertil 1	0,756	0,411-1,390	0,368
<b>Linksventrikuläre Ejektionsfraktion</b>	<i>0,070</i>	<i>0,013-0,370</i>	<i>0,002</i>
<b>Kreatinin</b>	<i>1,003</i>	<i>1,001-1,005</i>	<i>0,006</i>
<b>Hämoglobin</b>	0,824	0,665-1,020	0,076
<b>CRP</b>	<i>1,007</i>	<i>1,002-1,011</i>	<i>0,003</i>

BMI: Body-Mass-Index; CRP: C-reaktives Protein

Tabelle 21: Korrelation der Laborparameter mit den Monozytensubpopulationen

	Monozyten gesamt		klassische Monozyten		Intermediäre Monozyten		Nichtklassische Monozyten	
	r	p	r	p	r	p	r	p
<b>C-reaktives Protein</b>	<b>0.284</b>	<i>&lt;0.001</i>	<b>0.111</b>	<i>0.001</i>	<b>0.171</b>	<i>&lt;0.001</i>	<b>0.136</b>	<i>&lt;0.001</i>
<b>Kreatinin</b>	<b>0.112</b>	<i>0.001</i>	0.097	<i>0.003</i>	-0.034	0.295	0.093	<i>0.004</i>
<b>Glomeruläre Filtrationsrate</b>	-0.072	<i>0.026</i>	-0.020	0.542	-0.026	0.420	-0.016	0.626
<b>Hämoglobin</b>	0.016	0.628	0.063	0.054	-0.047	0.146	0.076	<i>0.019</i>
<b>Triglyceride</b>	0.033	0.378	-0.028	0.461	0.029	0.449	0.079	<i>0.036</i>
<b>Gesamtcholesterin</b>	0.001	0.974	0.008	0.831	-0.026	0.484	0.034	0.364
<b>HDL-Cholesterin</b>	-0.089	<i>0.017</i>	-0.050	0.180	-0.031	0.418	-0.057	0.128
<b>LDL-Cholesterin</b>	-0.002	0.948	0.035	0.360	-0.057	0.127	0.040	0.288
<b>Leukozyten</b>	<b>0.606</b>	<i>&lt;0.001</i>	<b>0.351</b>	<i>&lt;0.001</i>	<b>0.305</b>	<i>&lt;0.001</i>	<b>0.275</b>	<i>&lt;0.001</i>
<b>Lymphozyten</b>	<b>-0.251</b>	<i>&lt;0.001</i>	<b>-0.126</b>	<i>&lt;0.001</i>	<b>-0.134</b>	<i>&lt;0.001</i>	<b>-0.113</b>	<i>&lt;0.001</i>

*HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein; r: Korrelationswert;  
p: Signifikanzwert*

## 5 Diskussion

### 5.1 Monozytensubpopulationen und der primäre Endpunkt

In dieser Arbeit konnte erstmalig gezeigt werden, dass eine erhöhte Anzahl von klassischen Monozyten bei hospitalisierten Patienten mit bekannter koronarer Herzerkrankung mit einer erhöhten Rate eines kombinierten primären Endpunktes, bestehend aus kardialem Tod, nichttödlichem Myokardinfarkt und nichthämorrhagischem cerebrovaskulären Insult, innerhalb eines medianen Nachbeobachtungseitraums von 68,4 Wochen einhergeht.

In einer multivariablen Analyse unter Einbeziehung der klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren sowie in den Studiendaten identifizierter Einflussfaktoren (BMI, Vorliegen eines akuten Koronarsyndroms, Anzahl der erkrankten Koronargefäße, linksventrikuläre Ejektionsfraktion, Serumkreatinin, Hämoglobin und CRP) ergab sich eine Hazard-Ratio von 2,013 ( $p=0,027$ ) im Vergleich zwischen erstem und drittem Tertil der absoluten Anzahl der klassischen Monozyten.

Zwischen dem primären Endpunkt und der Anzahl der intermediären und nicht klassischen Monozyten im Vollblut zeigte sich kein Zusammenhang, wie zuvor andere Studien vermuten ließen [80, 81].

So zeigten Berg et al., dass auch in der Allgemeinbevölkerung erhöhte klassische Monozyten mit einer Risikoerhöhung für kardiovaskuläre Ereignisse einhergingen. Hier zeigte sich in der multivariablen Cox-Regression eine Hazard-Ratio von 1,66 im Vergleich des ersten zum dritten Tertil, welches konkordant zu dem hier gezeigten Ergebnis ist. Auch die Gesamtzahl der klassischen Monozyten zeigte ähnliche Werte zu den in dieser Studie gemessenen Werten (344 [251 bis 419] Zellen/ $\mu$ l in der Ereignisgruppe gegenüber 297 [212 bis 384] Zellen/ $\mu$ l im Patientenkollektiv ohne Ereignis) [82].

Diese Ergebnisse erscheinen besonders interessant vor dem Hintergrund, dass nach akutem Myokardinfarkt klassische und intermediäre Monozyten in erhöhter Anzahl nachgewiesen werden konnten [73, 83]. In der Grenze des infarzierten Myokardareals reichern sich klassische Monozyten an [84]. Dies erscheint schlüssig, nachdem de Lemos et al. nachweisen konnten, dass nach akutem Koronarsyndrom erhöhte MCP-I-Level im Serum bestehen, woraufhin eine verstärkte Migration von klassischen Monozyten zum Herzen stattfindet, welches mit einer schlechteren Prognose der Patienten verbunden zu sein scheint [85].

Auch wurde eine inverse Korrelation zwischen dem Spitzenwert der klassischen Monozyten und der linksventrikulären Ejektionsfraktion nach Infarkt gezeigt [73, 86]. Hieraus ergibt sich ein Kritikpunkt der hier vorgestellten Studie, da aus den Daten nicht genau erfasst werden konnte, wie viele Tage nach Myokardinfarkt die Blutentnahme durchgeführt wurde, sodass zu diesen Ergebnissen kein näherer Bezug dargestellt werden kann. Bei 196 (19,8%) Studienteilnehmern mit Aufnahmediagnose eines akuten Myokardinfarktes könnte dies einen möglichen Bias

darstellen. Im Jahr 2013 veröffentlichten Wrigley et al. hierüber Daten, die erkennen ließen, dass eine akute ischämische Herzinsuffizienz mit einer erhöhten Anzahl an klassischen Monozyten im Blut einhergeht [87, 88]. Ein Zusammenhang zwischen der linksventrikulären Ejektionsfraktion und der Anzahl der klassischen Monozyten konnte in diesem Patientenkollektiv, bei jedoch unbekanntem zeitlichem Verlauf der Ejektionsfraktion, nicht gesehen werden.

## **5.2 Monozytensubpopulationen und sekundäre Endpunkte**

Eine erhöhte Anzahl der Gesamtmonozyten imponierte bei Betrachtung des kardiovaskulären Todes ( $p=0,037$ ) und des nicht spezifizierten Todes ( $p=0,022$ ). Weiterhin war eine erhöhte Anzahl der klassischen Monozyten bei Betrachtung des kardiovaskulären Todes ( $p=0,003$ ) und des nicht spezifizierten Todes ( $p=0,005$ ; siehe Tabelle 15) zu beobachten. Ein relevanter Unterschied bei den ebenfalls hoch inflammatorisch aktiven, intermediären Monozyten zeigte sich nicht. In der Einzelbetrachtung des kardiovaskulären Todes nach Häufigkeit in den Tertilen der Monozytenpopulationen zeigte sich bei den Gesamtmonozyten kein deutlicher Unterschied mehr ( $p=0,109$ ), wohingegen bei den klassischen Monozyten mehr Ereignisse in den höheren Tertilen zu beobachten waren ( $p=0,035$ ). Bei dem Endpunkt nicht spezifizierter Tod zeigte sich ein ähnliches Bild. Interessanterweise konnte diese Beobachtung bei Einzelbetrachtung des nichttödlichen Myokardinfarktes und des nichttödlichen nichthämorrhagischen cerebralen Insults nicht nachvollzogen werden. Hier zeigten sich keine relevanten Unterschiede im Bereich der Monozytensubpopulation bzw. Anzahl der Ereignisse in den verschiedenen Tertilen. Dies ist möglicherweise der kleinen Ereignisanzahl (nichttödlicher Myokardinfarkt 31, nichttödlicher nichthämorrhagischer Insult 19) geschuldet. Allerdings erwies sich bei dem Endpunkt nichttödlicher Myokardinfarkt ein Trend zu mehr Ereignissen in den höheren Tertilen. Ob sich hier ein deutlicherer Unterschied bei einer größeren Patientenpopulation zeigen würde, bleibt ungeklärt.

Reiner et al. konnten in einer großen Studie mit ca. 5000 Teilnehmern beobachten, dass eine erhöhte Konzentration an löslichem CD14, produziert durch die Leber und durch Abspaltung von Monozyten und Makrophagen (Spaltprodukt eines CD14-Rezeptor-Lipopolysaccharid-Komplexes [89]) mit einer erhöhten nicht spezifizierten Mortalität bei Patienten mit einem Alter über 65 Jahren einherging [90]. Somit kann vermutet werden, dass bei diesen Patienten eine vermehrte Aktivität der klassischen Monozyten bestanden haben könnte, was die Ergebnisse der hier vorgestellten Studie bestätigen würde.

Ergänzend konnte die Forschungsgruppe um Ammirati zeigen, dass die Anzahl der klassischen Monozyten bei Patienten mit mittelgradiger Carotisstenose und Zeichen der Neovaskularisation verringert war [91]. Diesbezüglich stellt sich in diesem Kontext die noch ungeklärte Frage, ob eine distal der Stenosierung gelegene Ischämie eine Erhöhung der klassischen Monozyten bedingt

und somit die Komplikationsrate im Sinne des hier verwendeten kombinierten primären Endpunktes steigert.

### **5.3 Monozytensubpopulationen und Laborparameter**

In den gemessenen Laborparametern zeigt sich lediglich eine sehr schwache Korrelation zwischen CRP und allen Monozytenpopulationen, sowie zwischen Kreatinin und klassischen Monozyten.

Eine Erhöhung der Monozytenzahlen unter erhöhtem CRP erscheint pathophysiologisch schlüssig bei Aktivierung der humoralen Immunabwehr. In mehreren Arbeiten konnte gezeigt werden, dass Monozyten unter erhöhten CRP-Spiegeln chemotaktisch aktiviert werden [92–94]. Aus früheren Arbeiten der Arbeitsgruppe Rothe et al. ging hervor, dass die Anzahl der CD16 positiven Monozyten mit einer Erniedrigung des HDL-C-Spiegels bei Patienten mit Hypercholesterinämie und bei gesunden Probanden assoziiert war [95]. Die selbe Arbeitsgruppe sah in einer späteren Arbeit bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung und Dyslipidämie keine Assoziation zwischen HDL und den Monozytensubpopulationen mehr, dafür zeigte sich eine Assoziation zu Triglyceriden und Gesamtcholesterin [96]. Insgesamt erscheinen diese Zusammenhänge eher multifaktoriell determiniert zu sein. In dieser Studie konnte keine Korrelation zwischen einer Monozytensubpopulation und den Laborparametern des Lipidstoffwechsels gesehen werden. Insgesamt erscheint der Erkenntnisstand über den Zusammenhang der Monozytenpopulationen mit dem Lipidstoffwechsel sehr inhomogen.

Hinsichtlich der schwachen Korrelation zwischen dem Serum-Kreatininspiegel und der Gesamtmonozytenzahl besteht eine inhomogene Datenlage bei jedoch kleinen Fallzahlen der vorliegenden Studien [97, 98]. Allerdings wurde eine Zunahme von CD16 positiven Monozyten bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz gesehen [98]. Bei in der hier vorgestellten Studie vorliegendem inhomogenem Kollektiv hinsichtlich der Nierenfunktion und deutlich größerer Fallzahl erscheint die Korrelation des Kreatininspiegels mit der Gesamtmonozytenzahl möglich, die weitere Klärung des detaillierten Zusammenhangs der Nierenfunktion, chronischer Inflammation und Monozytenpopulationen bleibt Gegenstand weiterer Studien.

## 5.4 Monozyten unter dem Einfluss von Begleiterkrankungen oder Medikation

### 5.4.1 Monozytensubpopulationen und Begleiterkrankungen

Bei ambulanten Patienten mit **chronischer Niereninsuffizienz** zeigte Rogacev et al. einen Zusammenhang zwischen einer erhöhten Anzahl von intermediären Monozyten und einem erhöhten Risiko für den, auch in der hier vorgestellten Studie, kombinierten primären Endpunkt [98]. Ein direkter Vergleich dieser Daten zu der hier vorgestellten Studie ist nicht möglich, da in der Publikation von Rogacev et al. keine spezifischen Angaben zu der numerischen Größe der Monozytenpopulationen gemacht wurden. Analysiert man jedoch in der hier vorgestellten Studie die eGFR in den Gruppen mit einer eGFR >60ml/min (chronische Niereninsuffizienz Stadium 2 und besser) und einer eGFR <60ml/min (chronische Niereninsuffizienz Stadium 3 und schlechter) hinsichtlich der Monozytensubpopulationen, so zeigt sich eine höhere Anzahl der intermediären Monozyten bei den Patienten mit einer höhergradigeren Niereninsuffizienz (239 vs. 210 Zellen/ $\mu$ l;  $p=0,019$ ). Bezüglich der anderen Monozytensubpopulationen zeigte sich kein Unterschied. Dies deckt sich mit den Erkenntnissen der Studie von Rogacev et al.

Ein gleicher Effekt auf die Veränderung der Monozytensubpopulationen konnte bei dialysepflichtigen Patienten gesehen werden [81]. So zeigte sich in der Arbeit von Heine et al. im Vergleich der Dialysepatienten zu den Kontrollen 53 vs. 29 Zellen/ $\mu$ l bei den intermediären Monozyten. Die in der hier vorgestellten Studie analysierten Patienten waren jedoch nicht dialysepflichtig, so dass ein direkter Vergleich der Populationen nicht sinnvoll erscheint. Hinsichtlich der Veränderung der Subpopulationen hin zu mehr intermediären Monozyten zeigen sich die Ergebnisse der vorhergehenden Studien konkordant zu der hier vorgestellten Studie. Allerdings deckt sich bei Patienten mit vorhandener Niereninsuffizienz die bestehende prognostische Bedeutung der intermediären Monozyten nicht mit den Ergebnissen der hier vorgestellten Studie.

Patienten mit **Vorhofflimmern** wiesen in einer Arbeit von Suzuki et al. einen erhöhten relativen Anteil an intermediären Monozyten auf, dieses wurde als Ausdruck eines atrialen Remodellings interpretiert [99]. In der hier erörterten Arbeit konnte zwischen den verschiedenen Patientengruppen bezüglich der Komorbidität Vorhofflimmern kein deutlicher Unterschied bei den klassischen Monozyten (kein Vorhofflimmern vs. Vorhofflimmern; 268 vs. 298 Zellen/ $\mu$ l im Median;  $p=0,150$ ), den intermediären Monozyten (188 vs. 207 Zellen/ $\mu$ l im Median;  $p=0,341$ ) und den nichtklassischen Monozyten (138 vs. 129 Zellen/ $\mu$ l im Median;  $p=0,443$ ) gesehen werden. Auch im Vergleich der Patienten mit paroxysmalem Vorhofflimmern versus permanentem Vorhofflimmern (218 vs. 233 Zellen/ $\mu$ l im Median;  $p=0,085$ ) ergab sich kein deutlicher Unterschied hinsichtlich der intermediären Monozyten. In Betrachtung der Patienten ohne Vorhofflimmern zu den Patienten mit permanentem Vorhofflimmern konnten jedoch mehr



intermediäre Monozyten bei den Patienten mit permanentem Vorhofflimmern gesehen werden (188 vs. 238 Zellen/ $\mu$ l im Median;  $p=0,038$ ). Bei anderen Monozytensubpopulationen bestand kein Unterschied.

Auch bei Patienten mit einem bestehendem **Diabetes mellitus Typ 2** wurde eine höhere CD16 Intensität in allen Monozytenpopulationen beschrieben, dort wurde allerdings auf die Unterteilung in die bekannten Subpopulationen bewusst verzichtet auf Grund der nach Meinung der Autoren genaueren Erfassung mittels Signalintensität statt der Zellzahl. [100]. In der hier präsentierten Studie wurde die Signalintensität als einzelner Parameter nicht erfasst, jedoch zeigten sich bei Diabetikern mehr nichtklassische Monozyten (kein Diabetes vs. Diabetes, 122 vs. 146 Zellen/ $\mu$ l im Median;  $p=0,002$ ), welche per Definition die höchste CD16-Signalintensität aufweisen.

Zusammenfassend zeigt die hier vorgestellte Studie hinsichtlich der Assoziationen der Monozytensubpopulationen mit Begleiterkrankungen bei Patienten mit KHK ähnliche Erkenntnisse im Vergleich zu anderen Studien.

#### **5.4.2 Monozytensubpopulationen und Medikation**

Interessanterweise konnte nachgewiesen werden, dass die regelmäßige Einnahme von Hydroxymethylglutaryl-Coenzym-A-Hemmern (Statine) die Expression der Monozyten von TNF- $\alpha$  und IL1- $\beta$  verringerte [101]. In der bereits zuvor erwähnten Arbeit von Rothe et al. wurde eine Modifikation der Monozyten von klassischen hin zu intermediären und nichtklassischen Monozyten unter Statintherapie beobachtet [96]. Diese Ergebnisse zeigen sich konkordant mit den hier gewonnenen Daten eines erhöhten Risikos für den primären Endpunkt bei erhöhten klassischen Monozyten. Unter Statintherapie verringert sich das Risiko eines Reinfarktes [8], womöglich unter erwähnter Modifikation der Monozytenpopulationen als ein weiterer Effekt einer Statineinnahme über die eigentliche Beeinflussung der Cholesterinspiegel hinaus. Im Vergleich der Gruppen ohne und mit Statin konnte in der hier vorgestellten Studie kein relevanter Unterschied zwischen den Monozytensubpopulationen (klassische Monozyten  $p=0,095$ ; intermediäre Monozyten  $p=0,261$  und nichtklassische Monozyten  $p=0,702$ ) beobachtet werden. Jedoch war die von Rothe et al. durchgeführte Studie durch Messungen am Individuum vor und nach Initiierung einer Statintherapie für 52 Wochen und zusätzlichen diätetischen Maßnahmen (Interventionsstudie) entstanden, welches nicht dem hier analysierten Studienkollektiv (nichtinterventionelle Kohortenstudie) entspricht.

Ein deutlicher Unterschied war jedoch bei den Patienten unter einer zusätzlichen Therapie mittels Ezetimib zu beobachten: so zeigten sich hier deutlich weniger klassische Monozyten im Vergleich

zu Patienten ohne entsprechende Therapie. Im Vergleich zu Patienten unter Monotherapie mittels Statin zeigten sich hier ebenfalls weniger klassische Monozyten. Ergänzend fanden sich mehr intermediäre Monozyten und nichtklassische Monozyten in der Gruppe unter Ezetimibtherapie (Vgl. Tabelle 22).

*Tabelle 22: Vergleich der Medianwerte der numerischen Größe der Monozytensubpopulationen zu der Therapie mittels Statinen und Ezetimib (in Zellen/ $\mu$ l)*

	<b>Keine Therapie</b>	<b>Statin</b>	<b>Zusätzlich Ezetimib</b>
<b>Mo1</b>	296 (192/482) <i>p=0,003</i>	274 (168/434) <i>p=0,014</i>	191 (111/374)
<b>Mo2</b>	158 (66/273) <i>p=0,001</i>	180 (86/305) <i>p=0,001</i>	291 (173/445)
<b>Mo3</b>	124 (81/194) <i>p=0,001</i>	131 (85/198) <i>p&lt;0,001</i>	209 (133/254)

*p-Werte beziehen sich auf den Vergleich zur Ezetimibgruppe  
Mo1=klassische Monozyten, Mo2=intermediäre Monozyten, Mo3=nichtklassische Monozyten*

Bei ähnlicher Beeinflussung des LDL-C und HDL-C durch Statine und Ezetimib, sowie gezeigtem Zusatznutzen von Ezetimib [102] ist eine weitere Differenzierung der Monozyten hin zu intermediären und nichtklassischen Monozyten zu vermuten, bleibt jedoch Gegenstand weiterer Interventionsstudien und kann auf Grund des Studiencharakters der hier vorgestellten Studie nicht beantwortet werden .

Eine Therapie mittels ACE-Hemmern verursachte eine Reduktion von Tissue factor und MCP-I im Serum nach akutem Myokardinfarkt [103]. Auch unter einer Therapie mittels Aliskiren konnte eine Reduktion der klassischen Monozyten und eine bessere myokardiale Erholung nach akutem Myokardinfarkt gezeigt werden [104]. In der hier vorgestellten Studie zeigte sich ein ähnliches Bild mit im Median erhöhter Anzahl von intermediären Monozyten (112(58/214) vs. 189(87/316); *p=0,001*) und im Median vermehrten nichtklassischen Monozyten (119(61/174 vs. 134(88/203); *p=0,043*) in der Gruppe mit medikamentöser RAAS-Blockade im Vergleich zu Patienten ohne entsprechende medikamentöse Therapie.

Zudem konnte im Mausmodell durch die Arbeitsgruppe von Leuschner et al. gezeigt werden, dass die Rekrutierung von inflammatorisch aktiven Monozyten aus dem Milzreservoir der Monozyten unter der Gabe von Enalapril gehemmt wurde und somit bei verringerter inflammatorischer Reaktion im Bereich der Infarktnabe eine verbesserte Heilung zu beobachten war [105]. Eine RAAS-Blockade vermindert somit die Anzahl der klassischen Monozyten und verbessert unter

anderem hierüber, in Einklang mit den Ergebnissen der hier vorgestellten Studie, das Risiko für das Auftreten des primären Endpunktes.

Die Einnahme von  $\beta$ -Blockern vor einem klinisch auftretendem akutem Koronarsyndrom (ACS) führte im Vergleich zu Patienten ohne entsprechende Medikation zu einer verringerten Anzahl an Leukozyten und Monozyten nach dem Ereignis [106]. Diese Veränderung konnte hier nicht beurteilt werden, da, diese Dynamik anhand des hier bestehenden Studiendesigns nicht rekonstruiert werden konnte. Allerdings zeigte sich im Vergleich der Patienten mit bzw. ohne  $\beta$ -Blockermedikation mehr nichtklassische Monozyten in der Gruppe der Patienten unter  $\beta$ -Blockertherapie (134 vs. 158 Zellen/ $\mu$ l;  $p=0,018$ ). Ob hier möglicherweise eine ähnliche Modifikation der Monozytensubpopulationen wie unter Therapie mittels Statinen eine Rolle spielt, bleibt Gegenstand weiterer Untersuchungen, würde aber die prognostisch günstigere Monozytendifferenzierung unter dieser Medikation bekräftigen und den Stellenwert der Betablocker hinsichtlich einer Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse weiter untermauern.

## 5.5 Bedeutung der Monozyten in der Pathogenese der Atherosklerose

Ergänzend zu den in der Einleitung erwähnten Erkenntnissen konnte durch andere Forschungsergebnisse gezeigt werden, dass sich nichtklassische Monozyten (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>++</sup>) aus klassischen Monozyten (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup>) über intermediäre Monozyten (CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup>) entwickeln [107–110].

Klassische und intermediäre Monozyten haben eine kurze Lebensdauer, transportieren Gewebsantigene zu Lymphknoten [111] und akkumulieren in inflammatorischen Geweben, wo sie sich zu Makrophagen und dendritischen Zellen differenzieren [112]. Nichtklassische Monozyten haben eine längere Lebensdauer, reagieren früh auf Infektionen [113] und überwachen die endotheliale Funktion [114]. Weiterhin wurde festgestellt, dass bei einer Zunahme der Atheroskleroselast im Mausmodell eine Zunahme der klassischen und intermediären Monozyten im Blut zu beobachten ist [115–117], welche schließlich in die Gefäßwand migrieren, sich zu Makrophagen differenzieren und somit einen wesentlichen Teil zur Plaquelast beitragen.

Die Funktion von nichtklassischen Monozyten ist hingegen weniger klar. So können diese ebenfalls oxidierte Lipoproteine phagozytieren [118], tragen allerdings nicht im Wesentlichen zum Makrophagenanteil in der atheromatösen Plaque bei [108, 119, 120].

Wie bereits zuvor erwähnt, gehen erhöhte klassische Monozyten in der Allgemeinbevölkerung mit einer Risikoerhöhung für kardiovaskuläre Ereignisse und einer erniedrigten linksventrikulären Ejektionsfraktion einher, zudem zeigten diese sich mit intermediären Monozyten nach Myokardinfarkt und lokal in der Grenze des infarzierten Myokards angereichert. Weiterhin kommt es zu erhöhten MCP-I-Leveln mit erhöhter Migration von klassischen Monozyten in die Gefäßwand und konsekutiv verschlechterter Prognose nach akutem Koronarsyndrom.

Die Anzahl der intermediären und nichtklassischen Monozyten erbrachte in anderen Untersuchungen eine inverse Korrelation zur Dicke der „fibrous cap“ in der Pathogenese der Atherosklerose [121, 122].

Insgesamt kann jedoch festgehalten werden, dass klassische und intermediäre Monozyten der frühen proinflammatorischen Phase angehören [123]. Unter deren Migration in die Gefäßwand kommt es teilweise zu einem Zelltod der Monozyten, teils durch Apoptose, teils durch Onkose [124, 125] und Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen (z.B. Tissue factor und IL-1 $\alpha$ ). Weiterhin erfolgt eine Phagozytose und Efferozytose der abgestorbenen Monozyten durch verbliebene Monozyten, welche bei der Atherosklerose gestört erscheint, wodurch ein nekrotischer lipidreicher Kern der atherosklerotischen Plaque entsteht (vgl. Abbildung 1), sowie Mikroverkalkungen beginnen, welche die biomechanische Stabilität der Plaque vermindern [126–

128]. Auch eine Migration der Monozyten zurück aus der Gefäßwand in das Blutsystem ist beschrieben [129].

Im Mausmodell konnten bei CD16 positiven Monozyten (Ly6C<sup>low</sup>) reparierende Eigenschaften nachgewiesen werden, so produzieren diese IL-10, VEGF und TGF-β [130]. Aus diesen Erkenntnissen kommt man zu der Schlussfolgerung, dass es nach einem Myokardinfarkt zunächst zu einer Aktivierung des Monozytenreservoirs aus dem Knochenmark und der Milz, sowie Einwanderung von inflammatorisch hochaktiven klassischen und intermediären Monozyten (Ly6C<sup>high</sup>) kommt. Diese Monozyten treiben eine Zersetzung und den Abbau des nekrotischen bzw. infarzierten Myokardgewebes voran. Anschließend kommt es zu einer Differenzierung der Monozyten hin zu CD16 positiven (Ly6C<sup>low</sup> bzw. intermediären und nichtklassischen Monozyten) mit Beginn der Reparatur des Gewebsdefektes mittels Kollagenen bzw. Bindegewebe [131, 132]. Eine Hemmung der proinflammatorischen Einwanderung der Monozyten über den CCR2-Rezeptor im Mausmodell führte zu einer verbesserten Infarktheilung [133].

Ohne bestehendes Akutereignisse zeigen sich in der atheromatösen Plaque beide Mechanismen (Inflammation und Destruktion vs. Hemmung der Inflammation und Reparatur) gegenüber agierend [132]. Allerdings kommt es unter anderem durch Aktivierung des sympathischen Nervensystems zu einer Mobilisierung und Aktivierung der proinflammatorischen Monozyten und somit zu einer Vergrößerung des nekrotischen Kerns und einer Verdünnung der fibrösen Kappe der Plaque. Daher vermutet man eine Aktivierung der Inflammationsprozesse einer vorbestehenden Atherosklerose durch einen akuten Myokardinfarkt [106].

Bei dem Vergleich der Monozytensubpopulationen mit dem CT-morphologischen Kalzifizierungsgrad von Plaques konnte eine Korrelation der Anzahl der klassischen Monozyten mit dem Ausmaß von nicht kalzifizierten Plaques und der Anzahl von intermediären Monozyten mit dem Ausmaß von kalzifizierten Stenosen festgestellt werden [134]. Diese Erkenntnisse sind konkordant zu einem erhöhten Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis bei erhöhten klassischen Monozyten, wie in der hier vorgestellten Studie gezeigt.

Daher kann eine voranschreitende Atherosklerose durch eine aktivierte Signalkaskade des sympathischen Nervensystems mit erhöhter Migration und Rekrutierung von klassischen Monozyten begründet werden.

Es ist zu schlussfolgern, dass Risikofaktoren wie psychosozialer Stress mit konsekutiver Aktivierung des sympathischen Nervensystems eine vorbestehende endotheliale Dysfunktion bzw. Atherosklerose in ihrem Verlauf verschlechtern kann.

Wenn klassische Monozyten im peripheren Blut erhöht sind, ist dies möglicherweise verursacht durch eine Aktivierung dieser Signalkaskade mit konsekutiv zunehmender Migration der

Monozyten in die atheromatöse Plaque, die hierdurch bedingte Destabilisierung dieser und folglich Erhöhung des Risikos für das Auftreten des primären Endpunktes.

Konklusiv mit oben genannten Studien ergibt sich für Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, bei denen vor allem intermediäre Monozyten in der Ereignisgruppe erhöht waren, ein inhomogenes Bild. Möglicherweise kommt es bei chronischer Aktivierung des Monozyten-Makrophagensystems und bestehender Knochenmarkinsuffizienz zu einer Verschiebung der Verteilung der Monozytensubpopulationen. Anhand der aktuellen Literatur ist diese Vermutung bisher noch nicht abschließend geklärt.

Insgesamt erscheint eine Assoziation zwischen klassischen sowie intermediären Monozyten mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko naheliegend. Allerdings bleiben die verschiedenen Charakteristika und funktionellen Unterschiede insbesondere zwischen klassischen und intermediären Monozyten noch teilweise ungeklärt. Viele Erkenntnisse entstammen aus Mausmodellen, deren Unterteilung der Monozyten (Ly6C<sup>high/low</sup>) nicht ohne weiteres auf die Unterteilung der Monozyten beim Menschen in klassisch, intermediär und nicht klassisch zu übertragen ist.

## **5.6 Ansatzpunkte zur medikamentösen Behandlung**

Medikamentös therapeutische Ansätze in der Behandlung der KHK sind einerseits in Form einer  $\beta$ -Blockade, RAAS-Blockade oder Statinen möglich und bereits in den Leitlinien der medikamentösen Therapie der koronaren Herzerkrankung implementiert. Die in dieser Studie vorgestellten Daten (siehe 5.4.2 „Monozytensubpopulationen und Medikation“) decken sich mit den Empfehlungen dieser Therapie und zeigt deren Wichtigkeit.

Weiterhin könnten Schlüsselpunkte der Monozytenmigration einen interessanten Ansatzpunkt für medizinische Interventionen darstellen. Hier ist der CCR-2 Rezeptor zu erwähnen, welcher sich auf klassischen und intermediären Monozyten findet. Der Rezeptor bindet an von den Endothelzellen und Myozyten der Gefäßwand gebildetes MCP-I. Dieses wird nach Kontakt der Monozyten mit oxidiertem LDL ausgeschüttet [135]. Durch Blockierung oder Herabregulung des CCR-2 Rezeptors kommt es somit zu einer verminderten Bindung der Monozyten an MCP-I und somit zu einer Hemmung der Migration der Monozyten in die Intima. Dies zeigte am Mausmodell eine verringerte Infarktgröße und verbesserte Infarktheilung bei verminderter Monozytenmigration im Initialstadium nach koronarer Ligatur[133], sowie ein verringertes Risiko einer Entstehung einer Intimahyperplasie [135].

Interessant ist ebenfalls der CCR-5 Rezeptor, welcher auf intermediären Monozyten nachzuweisen ist. Er wird unter anderem durch Zytokine wie CCL5 (Exkretion durch zytotoxische T-Zellen) und MCP-2 stimuliert [136]. Eine Hemmung von CCR-5 zeigte ebenfalls eine Verlangsamung der Plaqueprogression im Mausmodell [137]. Interessant an diesem Ansatz ist, dass bereits ein selektiver CCR-5-Hemmer (Maraviroc) zur Behandlung von HIV zugelassen

ist, da das HI-Virus diesen Rezeptor zur Zellinfiltration nutzt. Studien an Mausmodellen zeigten eine deutlich verzögerte Plaqueprogression unter Therapie mittels Maraviroc [138].

CX3CR1 ist ein Rezeptor, welcher auf intermediären Monozyten zu finden ist. Dieser wird durch das Zytokin Fraktalkine, welches durch Endothelzellen nach Stimulus mittels IL-1 und TNF $\alpha$  gebildet wird, aktiviert und unterstützt somit die Migration von intermediären Monozyten[98]. Eine Therapie mittels des monoklonalen Antikörpers Canakinumab, welcher gegen Interleukin 1 $\beta$  gerichtet ist, zeigte bei Patienten nach Myokardinfarkt eine Reduktion von 15% des kombinierten Endpunktes aus nichttödlichem Myokardinfarkt, nichttödlichem cerebralem Insult und kardiovaskulärem Tod in einem Nachbeobachtungszeitraum von 48 Monaten [139].

Eine weitere Möglichkeit besteht in der Hemmung von Interferon regulatory factor 5 (IRF5). Dieser Transkriptionsfaktor funktioniert als eine Art molekularer Schalter, welcher für eine Aktivierung der inflammatorischen Komponenten von Monozyten und Makrophagen wirksam ist. Eine Hemmung von IRF5 im Mausmodell zeigte nach Myokardinfarkt eine beschleunigte Heilung und verminderte Ausprägung einer Herzinsuffizienz [140].

Ein weiterer interessanter Ansatzpunkt für eine mögliche medikamentöse Therapie ist die Beschreibung des Transkriptionsfaktors Nr4a1, einem nukleären Hormonrezeptor, welcher die Genexpression der Monozyten zu einer verminderten inflammatorischen und erhöhten reparativen Funktion moduliert [108].

## 5.7 Einordnung zu anderen Studien

Tabelle 23: Vergleich der absoluten Monozytenanzahl zwischen ähnlichen Studien in Mittelwerten der absoluten Anzahl in Partikel/ $\mu$ l

	Vorliegende Studie		Rogacev et al. 2011[97]		Berg et al. 2012 [82]	
	Ereignis	Ø Ereignis	Ereignis	Ø Ereignis	Ereignis	Ø Ereignis
<b>n</b>	134	860	93	858	123	536
<b>Absolute Monozyten</b>	683	640	633	577	503	466
<b>Mo1</b>	337	275	466	508	344	297
<b>Mo2</b>	161	187	41	47	19	17
<b>Mo3</b>	135	131	70	77	34	32

*Mo1=klassische Monozyten, Mo2=intermediäre Monozyten, Mo3=nichtklassische Monozyten.*

Auffallend ist nicht nur ein deutlicher Unterschied in den Größenordnungen der intermediären und nichtklassischen Monozytensubpopulationen, sondern auch in den Ereignisraten. So ergibt sich in der hier durchgeführten Studie eine 13,5% Ereignisrate nach einem mittlerem Follow-up von 1,31 Jahren, während sich bei vergleichbar großem Patientenkollektiv in der Studie von Rogacev et al. eine 9,8% Ereignisrate zeigt bei einem mittlerem Follow-up Zeitraum von 2,6 Jahren. In der Studie von Berg et al. [82] wurde eine Ereignisrate von 18,7% in einem Follow-up Zeitraum von 17 Jahren angegeben. Ein weiterer wesentlicher Unterschied ist die Inhomogenität der Patientenkollektive. So befanden sich in der hier beschriebenen Studie ausschließlich hospitalisierte Patienten mit bekannter koronarer Gefäßerkrankung, in der Studie von Rogacev et al. [97] elektive Patienten vor Koronarangiographie mit einer Rate von 53,9% bezüglich der Diagnose einer koronaren Herzerkrankung. In der Studie von Berg et al. wurden Patienten aus der Allgemeinbevölkerung eingeschlossen, sowie solche mit bekannter kardiovaskulärer Erkrankung ausgeschlossen. Man kann mutmaßen, dass die Patienten in der hier gezeigten Studie deutlich morbider waren als die Patientin in den beiden anderen Studien. Auffallend steigt die Anzahl der intermediären und nichtklassischen Monozyten mit dem mutmaßlichen Krankheitsgrad der Patienten. Eine Gruppe um Cappellari et al. zeigte 2017 eine Verdopplung der intermediären Monozyten bei Patienten mit KHK [100]. Auch dieses ist als Hinweis auf eine Zunahme des CD16 Antigens bei steigender Morbidität in Hinblick auf eine koronare Herzerkrankung zu deuten und bestätigt die Unterschiede in den Subpopulation zwischen den oben angeführten Studien. Ob dies schlussendlich sicher durch die Morbidität der Patienten bedingt ist bleibt jedoch offen. Die Gruppe um Cappellari et al. kritisiert die starre Einteilung der



Monozyten in Populationen und beschreibt Monozyten eher als Kontinuum und verweist auf die Fluoreszenzintensität als möglicherweise valideren Marker und bezieht damit auch zeitgleich Stellung zu den teilweise sehr heterogenen Ergebnissen der verschiedenen Studien bezüglich der Quantität einzelner Populationen [100].

Methodische Fehler scheinen nicht ursächlich, da in der Studie von Rogacev et al. und der hier gezeigten Studie eine nahezu identische Laboranalytik durchgeführt wurde. Als einziger Unterschied verbleibt ein anderer Antikörper für CD16. Wie bereits zuvor erwähnt gibt es multiple Einflussfaktoren auf die Verteilung der Monozytensubpopulationen, von denen viele in diesen Studien nicht berücksichtigt wurden.

## **5.8 Limitationen der Studie**

Da hier ein gemischtes Patientenkollektiv bezüglich der Diagnose Koronare Herzerkrankung und Myokardinfarkt vorliegt, ist ein möglicher Bias bei mittlerweile bekannter Erhöhung der klassischen Monozyten im peripheren Blut in der Akutphase nach Herzinfarkt gegeben. Dies zeigt sich im Vergleich zu anderen Studien, welche Monozytenpopulationen bei Patienten mit stabiler KHK oder V.a. KHK untersucht haben (s. 5.7 Einordnung zu anderen Studien ). Weitere Studien sollten diesen Fakt grundsätzlich beachten und entsprechende Subpopulationen unter Erfassung des zeitlichen Abstands zu einem Myokardinfarkt berücksichtigen.

Weiterhin wurden in der vorliegenden Arbeit Begleiterkrankungen wie rheumatoide Arthritis, Lupus erythematodes, chronisch entzündliche Darmerkrankungen, Asthma bronchiale und maligne Grunderkrankungen nicht systematisch erfasst.

## 6 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit war eine erhöhte Anzahl an klassischen Monozyten mit einer erhöhten Rate des primären Endpunktes aus kardiovaskulärem Tod, nichttödlichem Myokardinfarkt und nichthämorrhagischem cerebrovaskulären Insult bei Patienten mit manifester koronarer Herzerkrankung assoziiert (Hazard-Ratio 2,013;  $p=0,027$ ). Die hier gezeigte prognostische Aussagekraft der Monozytenpopulationen bei hospitalisierten Patienten mit bekannter koronarer Herzerkrankung konnte in dieser Form erstmalig gezeigt werden.

Die Ergebnisse dieser Studie sind konkordant zu zahlreichen anderen Studien zu Begleiterkrankungen und Risikofaktoren der KHK. Die hier vorgestellte Studie zeigte, dass eine zusätzliche Medikation mittels Ezetimib eine deutliche Erhöhung der Anzahl der intermediären und nichtklassischen Monozyten bedingt und somit hypothetisch zu einer Stabilisierung der Plaque beitragen kann. Ergebnisse dieser Studie zu einer Beeinflussung der Subpopulationen hin zu vermehrt nachweisbaren intermediären Monozyten bzw. nichtklassischen Monozyten unter RAAS-Blockade, permanentem Vorhofflimmern und höhergradiger Niereninsuffizienz zeigen sich konkordant zu den Beobachtungen anderer Studien [82, 85, 87, 88, 90, 91, 96, 98–100, 103–106, 115–117]. Erkenntnisse hinsichtlich der Funktionsweise und des Nutzens der etablierten medikamentösen Therapie der koronaren Herzerkrankung werden hierdurch untermauert.

Zusammenfassend ordnet sich das Ergebnis dieser Studie in bisher bestehende Erkenntnisse ein. Allerdings zeigen sich Grenzen der kompletten Abbildung von möglichen Confoundern und Begleiterkrankungen, welche in Ihrer Komplexität in klinischen Studien nur schwer komplett zu erfassen sind.

## 7 Literatur

1. Steffel J, Lüscher T (2014) Herz-Kreislauf, 2. Aufl. Springer-Lehrbuch. Springer, Berlin, Heidelberg, S. 57-81
2. Erdmann E (Hrsg) (2011) Klinische Kardiologie. Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße, 8. Aufl. Springer, Berlin, S. 13-70
3. Libby P, Theroux P (2005) Pathophysiology of coronary artery disease. *Circulation* 111(25):3481–3488.
4. Libby P, Ridker PM, Maseri A (2002) Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 105(9):1135–1143
5. Bundesärztekammer (BÄK), Kassenärztliche Bundesvereinigung (KBV), Arbeitsgemeinschaft der Wissenschaftlichen Medizinischen Fachgesellschaften Nationale VersorgungsLeitlinie Chronische KHK. Langfassung, 5. Auflage Version 1.2019. <http://www.khk.versorgungsleitlinien.de>. Zugegriffen: 10. November 2020
6. (NaN) Statistisches Bundesamt Deutschland - GENESIS-Online: Ergebnis 23211-0001. <https://www-genesis.destatis.de/genesis/online?operation=abruftabelleBearbeiten&levelindex=1&levelid=1602068070342&auswahloperation=abruftabelleAuspraegungAuswaehlen&auswahlverzeichnis=ordnungsstruktur&auswahlziel=werteabruf&code=23211-0001&auswahltext=&werteabruf=starten#abreadcrumb>. Zugegriffen: 07. Oktober 2020
7. Robert Koch Institut Lebenszeitprävalenz von koronaren Herzerkrankungen bei Männern und Frauen 2009. In Statista - Das Statistik-Portal. <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/166914/umfrage/lebenszeitpraevalenz-von-koronaren-herzerkrankungen-nach-geschlecht/>. Zugegriffen: 07. April 2015
8. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, Prescott E, Storey RF, Deaton C, Cuisset T, Agewall S, Dickstein K, Edvardsen T, Escaned J, Gersh BJ, Svitil P, Gilard M, Hasdai D, Hatala R, Mahfoud F, Masip J, Muneretto C, Valgimigli M, Achenbach S, Bax JJ (2020) 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur. Heart J.* 41(3):407–477.
9. Bayturan O, Tuzcu EM, Uno K, Lavoie AJ, Hu T, Shreevatsa A, Wolski K, Schoenhagen P, Kapadia S, Nissen SE, Nicholls SJ (2010) Comparison of rates of progression of coronary atherosclerosis in patients with diabetes mellitus versus those with the metabolic syndrome. *Am. J. Cardiol.* 105(12):1735–1739.
10. Otaki Y, Gransar H, Berman DS, Cheng VY, Dey D, Lin FY, Achenbach S, Al-Mallah M, Budoff MJ, Cademartiri F, Callister TQ, Chang H-J, Chinnaiyan K, Chow, Benjamin J W,

- Delago A, Hadamitzky M, Hausleiter J, Kaufmann P, Maffei E, Raff G, Shaw LJ, Villines TC, Dunning A, Min JK (2013) Impact of family history of coronary artery disease in young individuals (from the CONFIRM registry). *Am. J. Cardiol.* 111(8):1081–1086.
11. Chhatrwalla AK, Nicholls SJ, Wang TH, Wolski K, Sipahi I, Crowe T, Schoenhagen P, Kapadia S, Tuzcu EM, Nissen SE (2009) Low levels of low-density lipoprotein cholesterol and blood pressure and progression of coronary atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 53(13):1110–1115.
  12. Frey P, Waters DD, DeMicco DA, Breazna A, Samuels L, Pipe A, Wun C-C, Benowitz NL (2011) Impact of smoking on cardiovascular events in patients with coronary disease receiving contemporary medical therapy (from the Treating to New Targets [TNT] and the Incremental Decrease in End Points Through Aggressive Lipid Lowering [IDEAL] trials). *Am. J. Cardiol.* 107(2):145–150.
  13. Pekkanen J, Linn S, Heiss G, Suchindran CM, Leon A, Rifkind BM, Tyroler HA (1990) Ten-year mortality from cardiovascular disease in relation to cholesterol level among men with and without preexisting cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.* 322(24):1700–1707.
  14. Arastéh K, Baenkler H-W (2013) *Innere Medizin, 3. Aufl. Duale Reihe.* Thieme, Stuttgart, S. 57-63
  15. Kronmal RA, McClelland RL, Detrano R, Shea S, Lima JA, Cushman M, Bild DE, Burke GL (2007) Risk factors for the progression of coronary artery calcification in asymptomatic subjects: results from the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Circulation* 115(21):2722–2730.
  16. Perk J, Backer G de, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren, W M Monique, Albus C, Benlian P, Boysen G, Cifkova R, Deaton C, Ebrahim S, Fisher M, Germano G, Hobbs R, Hoes A, Karadeniz S, Mezzani A, Prescott E, Ryden L, Scherer M, Syväne M, Op Reimer, Wilma J M Scholte, Vrints C, Wood D, Zamorano JL, Zannad F (2012) European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The fifth joint task force of the European society of cardiology and other societies on cardiovascular disease prevention in clinical practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Int J Behav Med* 19(4):403–488.
  17. Assmann G (2002) Simple Scoring Scheme for Calculating the Risk of Acute Coronary Events Based on the 10-Year Follow-Up of the Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) Study. *Circulation* 105(3):310–315.
  18. Thomsen T (2005) HeartScore(R): a new web-based approach to European cardiovascular disease risk management. *European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation* 12(5):424–426.

19. Lenz M, Mühlhauser I (2004) Kardiovaskuläre Risikoschätzung für eine informierte Patientenentscheidung Wie valide sind die Prognoseinstrumente? *Med. Klin. (Munich)* 99(11):651–661.
20. Falk E, Shah PK, Fuster V (1995) Coronary Plaque Disruption. *Circulation* 92(3):657–671.
21. Chrysant SG, Chrysant GS (2015) Dual renin-angiotensin-aldosterone blockade: promises and pitfalls. *Curr. Hypertens. Rep.* 17(1):511.
22. Harris PJ, Harrell FE, Lee KL, Behar VS, Rosati RA (1979) Survival in medically treated coronary artery disease. *Circulation* 60(6):1259–1269.
23. Mock MB, Ringqvist I, Fisher LD, Davis KB, Chaitman BR, Kouchoukos NT, Kaiser GC, Alderman E, Ryan TJ, Russell RO, Mullin S, Fray D, Killip T (1982) Survival of medically treated patients in the coronary artery surgery study (CASS) registry. *Circulation* 66(3):562–568.
24. Battaggia A, Donzelli A, Font M, Molteni D, Galvano A (2015) Clinical efficacy and safety of ezetimibe on major cardiovascular endpoints: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *PLoS ONE* 10(4):e0124587.
25. Nicholls SJ, Ballantyne CM, Barter PJ, Chapman MJ, Erbel RM, Libby P, Raichlen JS, Uno K, Borgman M, Wolski K, Nissen SE (2011) Effect of two intensive statin regimens on progression of coronary disease. *N. Engl. J. Med.* 365(22):2078–2087.
26. Robinson JG, Farnier M, Krempf M, Bergeron J, Luc G, Averna M, Stroes ES, Langslet G, Raal FJ, El Shahawy M, Koren MJ, Lepor NE, Lorenzato C, Pordy R, Chaudhari U, Kastelein, John J P (2015) Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events. *N. Engl. J. Med.* 372(16):1489–1499.
27. Andersson C, Shilane D, Go AS, Chang TI, Kazi D, Solomon MD, Boothroyd DB, Hlatky MA (2014)  $\beta$ -blocker therapy and cardiac events among patients with newly diagnosed coronary heart disease. *J. Am. Coll. Cardiol.* 64(3):247–252.
28. Li Y-H, Lin G-M, Lai C-P, Lin C-L, Wang J-H (2013)  $\beta$ -Blocker use in angiographic coronary artery disease patients without myocardial infarction or heart failure: a report from the ET-CHD registry, 1997-2006. *Int. J. Cardiol.* 168(5):4817–4819.
29. Tardy Y, Resnick N, Nagel T, Gimbrone MA, Dewey CF (1997) Shear stress gradients remodel endothelial monolayers in vitro via a cell proliferation-migration-loss cycle. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 17(11):3102–3106
30. Bevilacqua MP, Poher JS, Mendrick DL, Cotran RS, Gimbrone MA (1987) Identification of an inducible endothelial-leukocyte adhesion molecule. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 84(24):9238–9242

31. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA, Libby P (1993) An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler. Thromb.* 13(2):197–204
32. Fujita H (1993) [Molecular biology of adhesion molecules--structure, expression and function of ICAM-1 and ELAM-1]. *Nippon Rinsho* 51(6):1643–1649
33. Rubanyi GM (1993) The role of endothelium in cardiovascular homeostasis and diseases. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 22 Suppl 4:S1-14
34. Gu L, Okada Y, Clinton SK, Gerard C, Sukhova GK, Libby P, Rollins BJ (1998) Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. *Mol. Cell* 2(2):275–281
35. Witztum JL, Berliner JA (1998) Oxidized phospholipids and isoprostanes in atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* 9(5):441–448
36. Smith JD, Trogan E, Ginsberg M, Grigaux C, Tian J, Miyata M (1995) Decreased atherosclerosis in mice deficient in both macrophage colony-stimulating factor (op) and apolipoprotein E. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 92(18):8264–8268
37. Ross R (1999) Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 340(2):115–126.
38. Libby P, Okamoto Y, Rocha VZ, Folco E (2010) Inflammation in Atherosclerosis. *Circ J* 74(2):213–220.
39. Moore KJ, Sheedy FJ, Fisher EA (2013) Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance. *Nat. Rev. Immunol.* 13(10):709–721.
40. Weissberg PL (2000) Atherogenesis: current understanding of the causes of atheroma. *Heart* 83(2):247–252
41. Libby P, Simon DI (2001) Inflammation and thrombosis: the clot thickens. *Circulation* 103(13):1718–1720
42. van der Wal, A C, Becker AE, van der Loos, C M, Das PK (1994) Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation* 89(1):36–44
43. Sukhova GK, Schönbeck U, Rabkin E, Schoen FJ, Poole AR, Billingham RC, Libby P (1999) Evidence for increased collagenolysis by interstitial collagenases-1 and -3 in vulnerable human atheromatous plaques. *Circulation* 99(19):2503–2509
44. Quillard T, Tesmenitsky Y, Croce K, Travers R, Shvartz E, Koskinas KC, Sukhova GK, Aikawa E, Aikawa M, Libby P (2011) Selective inhibition of matrix metalloproteinase-13 increases collagen content of established mouse atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 31(11):2464–2472.

45. Libby P, Geng YJ, Aikawa M, Schoenbeck U, Mach F, Clinton SK, Sukhova GK, Lee RT (1996) Macrophages and atherosclerotic plaque stability. *Curr. Opin. Lipidol.* 7(5):330–335
46. Groß U (2009) *Kurzlehrbuch Medizinische Mikrobiologie und Infektiologie*. 238 Abbildungen, 129 Tabellen, 2. Aufl. Thieme, Stuttgart, S. 10-11
47. Schütt C, Bröker B (2006) *Grundwissen Immunologie*, 1. Aufl. Elsevier, Spektrum Akad. Verl., München, S. 2, S. 108
48. Lüllmann-Rauch R (2006) *Histologie*, 2. Aufl. Thieme, Stuttgart, S. 270-273
49. Pezzutto A, Ulrichs T, Burmester G-R, Wirth J (2007) *Taschenatlas der Immunologie. Grundlagen - Labor - Klinik*, 2. Aufl. Thieme, Stuttgart, New York, S. 50 ff.
50. van Furth R, Cohn ZA (1968) The origin and kinetics of mononuclear phagocytes. *J. Exp. Med.* 128(3):415–435
51. Schiebler TH, Korf H-W (2007) *Anatomie. Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie*, 10. Aufl. Steinkopff Verlag, Berlin, Heidelberg, S. 34,35, S. 129-145
52. Roitt IM, Brostoff J, Male DK (1995) *Kurzes Lehrbuch der Immunologie*, 3. Aufl. Thieme, Stuttgart, S. 2-3, S. 23-25
53. Setoguchi M, Nasu N, Yoshida S, Higuchi Y, Akizuki S, Yamamoto S (1989) Mouse and human CD14 (myeloid cell-specific leucine-rich glycoprotein) primary structure deduced from cDNA clones. *Biochim. Biophys. Acta* 1008(2):213–222
54. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS, Ulevitch RJ, Mathison JC (1990) CD14, a receptor for complexes of lipopolysaccharide (LPS) and LPS binding protein. *Science* 249(4975):1431–1433
55. Gupta D, Kirkland TN, Viriyakosol S, Dziarski R (1996) CD14 is a cell-activating receptor for bacterial peptidoglycan. *J. Biol. Chem.* 271(38):23310–23316
56. Jersmann, Hubertus P A (2005) Time to abandon dogma: CD14 is expressed by non-myeloid lineage cells. *Immunol. Cell Biol.* 83(5):462–467.
57. Antal-Szalmas P, Striijp JA, Weersink AJ, Verhoef J, Van Kessel, K P (1997) Quantitation of surface CD14 on human monocytes and neutrophils. *J. Leukoc. Biol.* 61(6):721–728
58. Yang RB, Mark MR, Gray A, Huang A, Xie MH, Zhang M, Goddard A, Wood WI, Gurney AL, Godowski PJ (1998) Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signalling. *Nature* 395(6699):284–288.
59. Rivest S, Lacroix S, Vallières L, Nadeau S, Zhang J, Laflamme N (2000) How the blood talks to the brain parenchyma and the paraventricular nucleus of the hypothalamus during systemic inflammatory and infectious stimuli. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 223(1):22–38

60. Murphy (2018) Janeway Immunologie. Springer, Berlin Heidelberg, S. 345, S. 518
61. Baumgartner I, Scheiner O, Holzinger C, Boltz-Nitulescu G, Klech H, Lassmann H, Rumpold H, Förster O, Kraft D (1988) Expression of the VEP13 antigen (CD16) on native human alveolar macrophages and cultured blood monocytes. *Immunobiology* 177(3):317–326.
62. Moldovan I, Galon J, Maridonneau-Parini I, Roman Roman S, Mathiot C, Fridman WH, Sautès-Fridman C (1999) Regulation of production of soluble Fc gamma receptors type III in normal and pathological conditions. *Immunol. Lett.* 68(1):125–134
63. PE Mouse Anti-Human CD86 Clone 2331 (FUN-1) (RUO).  
<http://wwwbdbiosciences.com/eu/applications/research/b-cell-research/surface-markers/non-human-primates/pe-mouse-anti-human-cd86-2331-fun-1/p/557344>.  
Zugegriffen: 12. Mai 2015
64. Chen C, Gault A, Shen L, Nabavi N (1994) Molecular cloning and expression of early T cell costimulatory molecule-1 and its characterization as B7-2 molecule. *J. Immunol.* 152(10):4929–4936
65. Chen L, Flies DB (2013) Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition. *Nat. Rev. Immunol.* 13(4):227–242.
66. Passlick B, Flieger D, Ziegler-Heitbrock HW (1989) Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. *Blood* 74(7):2527–2534
67. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, Leenen, Pieter J M, Liu Y-J, MacPherson G, Randolph GJ, Scherberich J, Schmitz J, Shortman K, Sozzani S, Strobl H, Zembala M, Austyn JM, Lutz MB (2010) Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood* 116(16):e74-80.
68. Ziegler-Heitbrock HW, Ulevitch RJ (1993) CD14: cell surface receptor and differentiation marker. *Immunol. Today* 14(3):121–125.
69. Fingerle G, Pforte A, Passlick B, Blumenstein M, Ströbel M, Ziegler-Heitbrock HW (1993) The novel subset of CD14+/CD16+ blood monocytes is expanded in sepsis patients. *Blood* 82(10):3170–3176
70. Nockher WA, Scherberich JE (1998) Expanded CD14+ CD16+ monocyte subpopulation in patients with acute and chronic infections undergoing hemodialysis. *Infect. Immun.* 66(6):2782–2790
71. Belge K-U, Dayyani F, Horelt A, Siedlar M, Frankenberger M, Frankenberger B, Espevik T, Ziegler-Heitbrock L (2002) The proinflammatory CD14+CD16+DR++ monocytes are a major source of TNF. *J. Immunol.* 168(7):3536–3542



72. Frankenberger M, Sternsdorf T, Pechumer H, Pforte A, Ziegler-Heitbrock HW (1996) Differential cytokine expression in human blood monocyte subpopulations: a polymerase chain reaction analysis. *Blood* 87(1):373–377
73. Tsujioka H, Imanishi T, Ikejima H, Kuroi A, Takarada S, Tanimoto T, Kitabata H, Okochi K, Arita Y, Ishibashi K, Komukai K, Kataiwa H, Nakamura N, Hirata K, Tanaka A, Akasaka T (2009) Impact of Heterogeneity of Human Peripheral Blood Monocyte Subsets on Myocardial Salvage in Patients With Primary Acute Myocardial Infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 54(2):130–138.
74. Sester U (2001) Strong depletion of CD14+CD16+ monocytes during haemodialysis treatment. *Nephrology Dialysis Transplantation* 16(7):1402–1408.
75. Ziegler-Heitbrock HW, Fingerle G, Ströbel M, Schraut W, Stelter F, Schütt C, Passlick B, Pforte A (1993) The novel subset of CD14+/CD16+ blood monocytes exhibits features of tissue macrophages. *Eur. J. Immunol.* 23(9):2053–2058.
76. Libby P (2012) Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 32(9):2045–2051.
77. Schlitt A, Heine GH, Blankenberg S, Espinola-Klein C, Dopheide JF, Bickel C, Lackner KJ, Iz M, Meyer J, Darius H, Rupprecht HJ (2004) CD14+CD16+ monocytes in coronary artery disease and their relationship to serum TNF-alpha levels. *Thromb. Haemost.* 92(2):419–424.
78. Deutsche Diabetes Gesellschaft (2013) Nationale VersorgungsLeitlinie - Therapie des Typ-2-Diabetes. [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/nvl-001gl\\_S3\\_Typ-2-Diabetes-Therapie\\_2014-11-abgelaufen.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/nvl-001gl_S3_Typ-2-Diabetes-Therapie_2014-11-abgelaufen.pdf). Zugegriffen: 07. Oktober 2020
79. Deutsche Adipositas Gesellschaft DAG) Interdisziplinäre Leitlinie der Qualität S3 zur „Prävention und Therapie der Adipositas.“ [https://www.awmf.org/uploads/tx\\_szleitlinien/050-001l\\_S3\\_Adipositas\\_Pr%C3%A4vention\\_Therapie\\_2014-11-abgelaufen.pdf](https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/050-001l_S3_Adipositas_Pr%C3%A4vention_Therapie_2014-11-abgelaufen.pdf). Zugegriffen: 07. Oktober 2020
80. Schlitt A, Heine GH, Blankenberg S, Espinola-Klein C, Dopheide JF, Bickel C, Lackner KJ, Iz M, Meyer J, Darius H, Rupprecht HJ (2004) CD14+CD16+ monocytes in coronary artery disease and their relationship to serum TNF-alpha levels. *Thromb. Haemost.* 92(2):419–424.
81. Heine GH, Ulrich C, Seibert E, Seiler S, Marell J, Reichart B, Krause M, Schlitt A, Köhler H, Girndt M (2008) CD14(++)CD16+ monocytes but not total monocyte numbers predict cardiovascular events in dialysis patients. *Kidney Int.* 73(5):622–629.

82. Berg KE, Ljungcrantz I, Andersson L, Bryngelsson C, Hedblad B, Fredrikson GN, Nilsson J, Björkbacka H (2012) Elevated CD14<sup>++</sup>CD16<sup>-</sup> monocytes predict cardiovascular events. *Circ Cardiovasc Genet* 5(1):122–131.
83. Tapp LD, Shantsila E, Wrigley BJ, Pamukcu B, Lip, G Y H (2012) The CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte subset and monocyte-platelet interactions in patients with ST-elevation myocardial infarction. *J. Thromb. Haemost.* 10(7):1231–1241.
84. van der Laan, Anja M, Ter Horst, Ellis N, Delewi R, Begieneman, Mark P V, Krijnen, Paul A J, Hirsch A, Lavaei M, Nahrendorf M, Horrevoets AJ, Niessen, Hans W M, Piek JJ (2014) Monocyte subset accumulation in the human heart following acute myocardial infarction and the role of the spleen as monocyte reservoir. *Eur. Heart J.* 35(6):376–385.
85. de Lemos, James A, Morrow DA, Blazing MA, Jarolim P, Wiviott SD, Sabatine MS, Califf RM, Braunwald E (2007) Serial measurement of monocyte chemoattractant protein-1 after acute coronary syndromes: results from the A to Z trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 50(22):2117–2124.
86. van der Laan, Anja M, Hirsch A, Robbers, Lourens F H J, Nijveldt R, Lommerse I, Delewi R, van der Vleuten, Pieter A, Biemond BJ, Zwaginga JJ, van der Giessen, Wim J, Zijlstra F, van Rossum, Albert C, Voermans C, van der Schoot, C Ellen, Piek JJ (2012) A proinflammatory monocyte response is associated with myocardial injury and impaired functional outcome in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: monocytes and myocardial infarction. *Am. Heart J.* 163(1):57-65.e2.
87. Wrigley BJ, Shantsila E, Tapp LD, Lip, Gregory Y H (2013) CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> monocytes in patients with acute ischaemic heart failure. *Eur. J. Clin. Invest.* 43(2):121–130.
88. Wrigley BJ, Shantsila E, Tapp LD, Lip, Gregory Y H (2013) Increased expression of cell adhesion molecule receptors on monocyte subsets in ischaemic heart failure. *Thromb. Haemost.* 110(1):92–100.
89. Behnes M, Bertsch T, Lepiorz D, Lang S, Trinkmann F, Brueckmann M, Borggreffe M, Hoffmann U (2014) Diagnostic and prognostic utility of soluble CD 14 subtype (presepsin) for severe sepsis and septic shock during the first week of intensive care treatment. *Critical care (London, England)* 18(5):507.
90. Reiner AP, Lange EM, Jenny NS, Chaves PHM, Ellis J, Li J, Walston J, Lange LA, Cushman M, Tracy RP (2013) Soluble CD14: genomewide association analysis and relationship to cardiovascular risk and mortality in older adults. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 33(1):158–164.
91. Ammirati E, Moroni F, Magnoni M, Di Terlizzi S, Villa C, Sizzano F, Palini A, Garlaschelli K, Tripiciano F, Scotti I, Catapano AL, Manfredi AA, Norata GD, Camici PG (2016)

- Circulating CD14+ and CD14<sup>high</sup>CD16- classical monocytes are reduced in patients with signs of plaque neovascularization in the carotid artery. *Atherosclerosis* 255:171–178.
92. Meng S, Zhang L, Yang H, Wu Y-F, Ge S, Zhao L (2009) Effects of C-reactive protein on chemotaxis ability of monocytes in vitro. *Hua xi kou qiang yi xue za zhi = Huaxi kouqiang yixue zazhi = West China journal of stomatology* 27(6):673–675
93. Ramírez R, Carracedo J, Merino A, Soriano S, Ojeda R, Alvarez-Lara MA, Martín-Malo A, Aljama P (2011) CD14+CD16+ monocytes from chronic kidney disease patients exhibit increased adhesion ability to endothelial cells. *Contrib Nephrol* 171:57–61.
94. Trial J, Cieslik KA, Entman ML (2016) Phosphocholine-containing ligands direct CRP induction of M2 macrophage polarization independent of T cell polarization: Implication for chronic inflammatory states. *Immun Inflamm Dis* 4(3):274–288.
95. Rothe G, Gabriel H, Kovacs E, Klucken J, Stohr J, Kindermann W, Schmitz G (1996) Peripheral blood mononuclear phagocyte subpopulations as cellular markers in hypercholesterolemia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 16(12):1437–1447
96. Rothe G, Herr AS, Stohr J, Abletshauser C, Weidinger G, Schmitz G (1999) A more mature phenotype of blood mononuclear phagocytes is induced by fluvastatin treatment in hypercholesterolemic patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 144(1):251–261
97. Rogacev KS, Cremers B, Zawada AM, Seiler S, Binder N, Ege P, Große-Dunker G, Heisel I, Hornof F, Jeken J, Rebling NM, Ulrich C, Scheller B, Böhm M, Fliser D, Heine GH (2012) CD14<sup>++</sup>CD16+ monocytes independently predict cardiovascular events: a cohort study of 951 patients referred for elective coronary angiography. *J. Am. Coll. Cardiol.* 60(16):1512–1520.
98. Rogacev KS, Seiler S, Zawada AM, Reichart B, Herath E, Roth D, Ulrich C, Fliser D, Heine GH (2011) CD14<sup>++</sup>CD16+ monocytes and cardiovascular outcome in patients with chronic kidney disease. *Eur. Heart J.* 32(1):84–92.
99. Suzuki A, Fukuzawa K, Yamashita T, Yoshida A, Sasaki N, Emoto T, Takei A, Fujiwara R, Nakanishi T, Yamashita S, Matsumoto A, Konishi H, Ichibori H, Hirata K-I (2016) Circulating intermediate CD14<sup>++</sup>CD16+ monocytes are increased in patients with atrial fibrillation and reflect the functional remodelling of the left atrium. *Europace*.
100. Cappellari R, D'Anna M, Bonora BM, Rigato M, Cignarella A, Avogaro A, Fadini GP (2017) Shift of monocyte subsets along their continuum predicts cardiovascular outcomes. *Atherosclerosis* 266:95–102.

101. Ferro D, Parrotto S, Basili S, Alessandri C, Violi F (2000) Simvastatin inhibits the monocyte expression of proinflammatory cytokines in patients with hypercholesterolemia. *J. Am. Coll. Cardiol.* 36(2):427–431
102. Spinar J, Spinarova L, Vitovec J (2014) IMProved Reduction of Outcomes: Vytorin Efficacy International Trial (studie IMPROVE-IT). *Vnitr Lek* 60(12):1095–1101
103. Soejima H, Ogawa H, Yasue H, Kaikita K, Takazoe K, Nishiyama K, Misumi K, Miyamoto S, Yoshimura M, Kugiyama K, Nakamura S, Tsuji I (1999) Angiotensin-converting enzyme inhibition reduces monocyte chemoattractant protein-1 and tissue factor levels in patients with myocardial infarction. *J. Am. Coll. Cardiol.* 34(4):983–988
104. Ozaki Y, Imanishi T, Tanimoto T, Kashiwagi M, Tsujioka H, Sougawa H, Orii M, Shiono Y, Shimamura K, Ishibashi K, Komukai K, Ino Y, Kitabata H, Akasaka T (2012) Effect of direct renin inhibitor, aliskiren, on peripheral blood monocyte subsets and myocardial salvage in patients with primary acute myocardial infarction. *Circ. J.* 76(6):1461–1468
105. Leuschner F, Panizzi P, Chico-Calero I, Lee WW, Ueno T, Cortez-Retamozo V, Waterman P, Gorbatov R, Marinelli B, Iwamoto Y, Chudnovskiy A, Figueiredo J-L, Sosnovik DE, Pittet MJ, Swirski FK, Weissleder R, Nahrendorf M (2010) Angiotensin-converting enzyme inhibition prevents the release of monocytes from their splenic reservoir in mice with myocardial infarction. *Circ. Res.* 107(11):1364–1373.
106. Dutta P, Courties G, Wei Y et al (2012) Myocardial infarction accelerates atherosclerosis. *Nature* 487(7407):325–329.
107. Korkosz M, Bukowska-Strakova K, Sadis S, Grodzicki T, Siedlar M (2012) Monoclonal antibodies against macrophage colony-stimulating factor diminish the number of circulating intermediate and nonclassical (CD14(++)CD16+)/CD14(+)CD16(++) monocytes in rheumatoid arthritis patient. *Blood* 119(22):5329–5330.
108. Hilgendorf I, Gerhardt, Louisa M S, Tan TC, Winter C, Holderried, Tobias A W, Chousterman BG, Iwamoto Y, Liao R, Zirlik A, Scherer-Crosbie M, Hedrick CC, Libby P, Nahrendorf M, Weissleder R, Swirski FK (2014) Ly-6Chigh monocytes depend on Nr4a1 to balance both inflammatory and reparative phases in the infarcted myocardium. *Circ. Res.* 114(10):1611–1622.
109. Sunderkötter C, Nikolic T, Dillon MJ, van Rooijen N, Stehling M, Drevets DA, Leenen, Pieter J M (2004) Subpopulations of mouse blood monocytes differ in maturation stage and inflammatory response. *J. Immunol.* 172(7):4410–4417
110. Yona S, Kim K-W, Wolf Y, Mildner A, Varol D, Breker M, Strauss-Ayali D, Viukov S, Guilliams M, Misharin A, Hume DA, Perlman H, Malissen B, Zelzer E, Jung S (2013) Fate

- mapping reveals origins and dynamics of monocytes and tissue macrophages under homeostasis. *Immunity* 38(1):79–91.
111. Jakubzick C, Gautier EL, Gibbings SL, Sojka DK, Schlitzer A, Johnson TE, Ivanov S, Duan Q, Bala S, Condon T, van Rooijen N, Grainger JR, Belkaid Y, Ma'ayan A, Riches, David W H, Yokoyama WM, Ginhoux F, Henson PM, Randolph GJ (2013) Minimal differentiation of classical monocytes as they survey steady-state tissues and transport antigen to lymph nodes. *Immunity* 39(3):599–610.
112. Geissmann F, Jung S, Littman DR (2003) Blood monocytes consist of two principal subsets with distinct migratory properties. *Immunity* 19(1):71–82
113. Auffray C, Fogg D, Garfa M, Elain G, Join-Lambert O, Kayal S, Sarnacki S, Cumano A, Lauvau G, Geissmann F (2007) Monitoring of blood vessels and tissues by a population of monocytes with patrolling behavior. *Science* 317(5838):666–670.
114. Carlin LM, Stamatiades EG, Auffray C, Hanna RN, Glover L, Vizcay-Barrena G, Hedrick CC, Cook HT, Diebold S, Geissmann F (2013) Nr4a1-dependent Ly6C(low) monocytes monitor endothelial cells and orchestrate their disposal. *Cell* 153(2):362–375.
115. Swirski FK, Libby P, Aikawa E, Alcaide P, Luscinskas FW, Weissleder R, Pittet MJ (2007) Ly-6Chi monocytes dominate hypercholesterolemia-associated monocytosis and give rise to macrophages in atheromata. *J. Clin. Invest.* 117(1):195–205.
116. Swirski FK, Pittet MJ, Kircher MF, Aikawa E, Jaffer FA, Libby P, Weissleder R (2006) Monocyte accumulation in mouse atherogenesis is progressive and proportional to extent of disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103(27):10340–10345.
117. Tacke F, Alvarez D, Kaplan TJ, Jakubzick C, Spanbroek R, Llodra J, Garin A, Liu J, Mack M, van Rooijen N, Lira SA, Habenicht AJ, Randolph GJ (2007) Monocyte subsets differentially employ CCR2, CCR5, and CX3CR1 to accumulate within atherosclerotic plaques. *J. Clin. Invest.* 117(1):185–194.
118. Wu H, Perrard XD, Wang Q, Perrard JL, Polsani VR, Jones PH, Smith CW, Ballantyne CM (2010) CD11c expression in adipose tissue and blood and its role in diet-induced obesity. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 30(2):186–192.
119. Hamers, Anouk A J, Vos M, Rassam F, Marinković G, Marincovic G, Kurakula K, van Gorp, Patrick J, de Winther, Menno P J, Gijbels, Marion J J, Waard V de, de Vries, Carlie J M (2012) Bone marrow-specific deficiency of nuclear receptor Nur77 enhances atherosclerosis. *Circ. Res.* 110(3):428–438.
120. Hanna RN, Shaked I, Hubbeling HG, Punt JA, Wu R, Herrley E, Zaugg C, Pei H, Geissmann F, Ley K, Hedrick CC (2012) NR4A1 (Nur77) deletion polarizes

- macrophages toward an inflammatory phenotype and increases atherosclerosis. *Circ. Res.* 110(3):416–427.
121. Imanishi T, Ikejima H, Tsujioka H, Kuroi A, Ishibashi K, Komukai K, Tanimoto T, Ino Y, Takeshita T, Akasaka T (2010) Association of monocyte subset counts with coronary fibrous cap thickness in patients with unstable angina pectoris. *Atherosclerosis* 212(2):628–635.
  122. Yamamoto H, Yoshida N, Shinke T, Otake H, Kuroda M, Sakaguchi K, Hirota Y, Toba T, Takahashi H, Terashita D, Uzu K, Tahara N, Shinkura Y, Kuroda K, Nagasawa Y, Nagano Y, Tsukiyama Y, Yanaka K-I, Emoto T, Sasaki N, Yamashita T, Ogawa W, Hirata K-I (2018) Impact of CD14++CD16+ monocytes on coronary plaque vulnerability assessed by optical coherence tomography in coronary artery disease patients. *Atherosclerosis* 269:245–251.
  123. Stansfield BK, Ingram DA (2015) Clinical significance of monocyte heterogeneity. *Clin Transl Med* 4:5.
  124. Majno G, Joris I (1995) Apoptosis, oncosis, and necrosis. An overview of cell death. *Am J Pathol* 146(1):3–15
  125. Geng YJ, Libby P (1995) Evidence for apoptosis in advanced human atheroma. Colocalization with interleukin-1 beta-converting enzyme. *Am J Pathol* 147(2):251–266
  126. Littlewood TD, Bennett MR (2003) Apoptotic cell death in atherosclerosis. *Curr. Opin. Lipidol.* 14(5):469–475.
  127. Thorp E, Cui D, Schrijvers DM, Kuriakose G, Tabas I (2008) Mertk receptor mutation reduces efferocytosis efficiency and promotes apoptotic cell accumulation and plaque necrosis in atherosclerotic lesions of apoe<sup>-/-</sup> mice. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 28(8):1421–1428.
  128. Vengrenyuk Y, Carlier S, Xanthos S, Cardoso L, Ganatos P, Virmani R, Einav S, Gilchrist L, Weinbaum S (2006) A hypothesis for vulnerable plaque rupture due to stress-induced debonding around cellular microcalcifications in thin fibrous caps. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 103(40):14678–14683.
  129. Randolph GJ (2014) Mechanisms that regulate macrophage burden in atherosclerosis. *Circ. Res.* 114(11):1757–1771.
  130. Libby P, Nahrendorf M, Swirski FK (2013) Monocyte heterogeneity in cardiovascular disease. *Semin Immunopathol* 35(5):553–562.
  131. Nahrendorf M, Swirski FK, Aikawa E, Stangenberg L, Wurdinger T, Figueiredo J-L, Libby P, Weissleder R, Pittet MJ (2007) The healing myocardium sequentially

- mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions. *J. Exp. Med.* 204(12):3037–3047.
132. Libby P, Nahrendorf M, Swirski FK (2016) Leukocytes Link Local and Systemic Inflammation in Ischemic Cardiovascular Disease: An Expanded "Cardiovascular Continuum". *J. Am. Coll. Cardiol.* 67(9):1091–1103.
133. Leuschner F, Dutta P, Gorbatov R, Novobrantseva TI, Donahoe JS, Courties G, Lee KM, Kim JI, Markmann JF, Marinelli B, Panizzi P, Lee WW, Iwamoto Y, Milstein S, Epstein-Barash H, Cantley W, Wong J, Cortez-Retamozo V, Newton A, Love K, Libby P, Pittet MJ, Swirski FK, Kotliansky V, Langer R, Weissleder R, Anderson DG, Nahrendorf M (2011) Therapeutic siRNA silencing in inflammatory monocytes in mice. *Nat Biotechnol* 29(11):1005–1010.
134. Lo S-C, Lee W-J, Chen C-Y, Lee B-C (2017) Intermediate CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> monocyte predicts severe coronary stenosis and extensive plaque involvement in asymptomatic individuals. *Int J Cardiovasc Imaging* 33(8):1223–1236.
135. Charo IF, Taubman MB (2004) Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ. Res.* 95(9):858–866.
136. Murphy PM, Baggiolini M, Charo IF, Hebert CA, Horuk R, Matsushima K, Miller LH, Oppenheim JJ, Power CA (2000) International union of pharmacology. XXII. Nomenclature for chemokine receptors. *Pharmacol Rev* 52(1):145–176
137. Veillard NR, Kwak B, Pelli G, Mulhaupt F, James RW, Proudfoot AEI, Mach F (2004) Antagonism of RANTES receptors reduces atherosclerotic plaque formation in mice. *Circ. Res.* 94(2):253–261.
138. Cipriani S, Francisci D, Mencarelli A, Renga B, Schiaroli E, D'Amore C, Baldelli F, Fiorucci S (2013) Efficacy of the CCR5 antagonist maraviroc in reducing early, ritonavir-induced atherogenesis and advanced plaque progression in mice. *Circulation* 127(21):2114–2124.
139. 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 (2017) Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N. Engl. J. Med.* 377(12):1119–1131.
140. Courties G, Heidt T, Sebas M, Iwamoto Y, Jeon D, Truelove J, Tricot B, Wojtkiewicz G, Dutta P, Sager HB, Borodovsky A, Novobrantseva T, Klebanov B, Fitzgerald K, Anderson DG, Libby P, Swirski FK, Weissleder R, Nahrendorf M (2014) In vivo

silencing of the transcription factor IRF5 reprograms the macrophage phenotype and improves infarct healing. *J. Am. Coll. Cardiol.* 63(15):1556–1566.



## 8 Thesen

1. Eine erhöhte Anzahl klassischer Monozyten zum Zeitpunkt der Hospitalisation geht bei Patienten mit KHK mit einer erhöhten Rate des primären kombinierten Endpunktes (kardiovaskulärer Tod, nichttödlicher Myokardinfarkt und nichthämorrhagischer nichttödlicher cerebraler Insult) einher.
2. Eine Medikation mittels Ezetimib führt zu einer Verringerung der klassischen Monozytenanzahl und einer Erhöhung der intermediären und nicht klassischen Monozytenanzahl.
3. Klassische Monozyten induzieren durch ihre proinflammatorische Aktivität die Destabilisierung von Koronarplaques
4. CD16-positive Monozyten bewirken eine vermehrte Kalzifikation vorliegender Koronarplaques.
5. Eine Erhöhung CD16 positiver Monozyten kann durch eine RAAS-Blockade, permanentes Vorhofflimmern oder eine höhergradige Niereninsuffizienz bedingt sein.
6. Genderspezifische Unterschiede in der Subpopulationsverteilung (weder klassische Monozyten noch intermediäre oder nicht klassische Monozyten) konnten nicht nachgewiesen werden.
7. Aufgrund ihrer Schlüsselrolle bei der Plaquestabilisierung und -kalzifizierung wäre eine medikamentöse Beeinflussung von Monozytenrezeptoren ein interessanter Ansatz zur Behandlung der KHK.

## Erklärungen

1. Ich erkläre, dass ich mich an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen bzw. eine Promotion begonnen habe.
2. Ich erkläre, die Angaben wahrheitsgemäß gemacht und die wissenschaftliche Arbeit an keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht zu haben.
3. Ich erkläre an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe. Alle Regeln der guten wissenschaftlichen Praxis wurden eingehalten; es wurden keine anderen als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt und die den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht.

Datum, Unterschrift

## **Danksagung**

Mein Dank gilt meiner Familie, insbesondere meiner Frau Linda Höpfner für Ihr Verständnis, ihre Unterstützung und Nachsicht sowie meinen Kindern Ludwig, Jonathan, Wilma und Justus für ihr Interesse und vor allem die viele Zeit, die wir nicht gemeinsam verbringen konnten.

Herrn apl. Prof. Dr. med. habil. Konstantin Heinroth, Herrn Dr. med. Andreas Fahrig und meinem Vater Herrn Dr. med. Volker Höpfner für die Unterstützung, Kritik, stetiges Ermahnen, Rat und Beharrlichkeit.

Nicht zuletzt danke ich Herrn apl. Prof. Dr. med. habil. Axel Schlitt für die Ermöglichung der Promotion, konstruktive Kritik bei der Durchsicht der Promotion und Geduld bis zur Einreichung.