

**Untersuchung der Glutaminyl-Cyclase-Aktivität im Serum von Patienten nach  
Gefäßoperation oder Gefäßintervention und deren Bedeutung als Prädiktor für  
Restenose**

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt  
der Medizinischen Fakultät  
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Isabel Hesse  
geboren am 26.04.1978 in Querfurt

Betreuer:  
Prof. Dr. Guido Posern

Gutachter:  
Frau PD J. Schumacher, Halle (Saale)  
Prof. S. von Hörsten, Erlangen

21.01.2021  
13.07.2022

## Referat

Glutaminyl-Cyclasen (QCs) sind an der Entstehung entzündlicher Erkrankungen beteiligt, indem sie die Reifung von potentiell pathologischen Peptiden, wie zum Beispiel des CCL2, fördern. Die QC-Familie besteht aus 2 Schwesterenzymen, QC und isoQC, mit nahezu identischen katalytischen Eigenschaften aber unterschiedlichen subzellulären Lokalisationen.

CCL2 und verwandte Chemokine (CCL7, CCL8, CCL13) sind Zytokine, welche hauptsächlich die Chemotaxis von Monozyten/Makrophagen induzieren. Dabei hat sich deren Migration und Aktivierung als ein Schlüsselereignis im Inflammationsprozess der Restenose operierter Gefäßsegmente erwiesen.

Die isoQC-katalysierte Bildung eines Pyroglutamats aus Glutamin am N-Terminus dieser Chemokine ist eine wichtige Voraussetzung für ihre Stabilität und ihre biologische Funktion. Diese Zyklisierung wird während ihrer Reifung im Golgi-Apparat katalysiert. Unter entzündlichen Bedingungen wird jedoch insbesondere die QC, im Gegensatz zur isoQC, verstärkt gebildet und in den Extrazellulärraum sezerniert. Daher könnte die QC-Aktivität im Serum einen neuen Biomarker für entzündliche Prozesse darstellen.

Um das Potential der QCs im Serum als einen Marker für Gefäßentzündung und Gefäßtrauma sowie als Prädiktor der Restenoserate zu untersuchen, wurden die QC-Aktivität und verschiedene QC-Substrate bei Patienten nach gefäßchirurgischem Eingriff (OP-Gruppe) oder minimalinvasiver perkutaner transluminaler Angioplastie (PTA-Gruppe) analysiert.

Das Ziel war die Darstellung der Veränderung der QC-Aktivität nach 2 Arten von Gefäßeingriffen, wenn die bedeutenden QC/isoQC-Substrate CCL2 und CRP aufgrund des Operationstraumas verstärkt gebildet werden. Darüber hinaus wurde der zeitliche Verlauf der QC-Aktivität und weiterer Mediatoren über einen Zeitraum von 90 Tagen untersucht und die Restenoseereignisse über einen Zeitraum von 1100 Tagen erfasst.

Wichtigstes Ergebnis der Studie ist die postoperativ für mindestens 90 Tage erhöhte QC/isoQC-Aktivität, obwohl sich klassische Marker der Akuten-Phase-Reaktion innerhalb des Messzeitraums normalisieren. Eine erhöhte QC-Aktivität steht scheinbar mit einer erhöhten Rate an Wiederverschlüssen behandelter Gefäßsegmente im Zusammenhang. Im Hinblick auf die zentrale Rolle der QCs bei entzündlichen Erkrankungen könnte diese Arbeit eine erste Begründung für den Anstieg der QC-Aktivitäten bei solchen Patienten liefern.

Hesse, Isabel: Untersuchung der Glutaminyl-Cyclase-Aktivität im Serum von Patienten nach Gefäßoperation oder Gefäßintervention und deren Bedeutung als Prädiktor für Restenose, Halle (Saale), Univ., Med. Fak., Diss., 67 Seiten, 2020

## Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis .....	I
Abkürzungen .....	III
1 Einleitung .....	1
1.1 Theorien zur Pathogenese der Atherosklerose .....	1
1.2 Risikofaktoren der Arteriosklerose .....	3
1.3 Arteriosklerotische Läsion .....	3
1.4 Entzündungsreaktion und entzündliche Signalmoleküle in der Atherosklerose .....	4
1.5 Glutaminyl-Cyclasen .....	6
1.6 Restenosierung .....	7
1.7 Einführung zur Studie und Untersuchungsansätze .....	9
2 Zielsetzung .....	11
3 Material und Methoden .....	12
3.1 Patientenkollektiv .....	12
3.2 Erhobene Patientendaten .....	12
3.3 Blutentnahme .....	13
3.3.1 CRP-Bestimmung mittels eines partikelverstärkten immunologischen Trübungstests .....	14
3.3.2 Fibrinogenbestimmung mit der Methode nach Clauss .....	14
3.3.3 BSR Bestimmung nach der Westergren-Methode .....	14
3.3.4 Zytokin Analyse mittels Multiplex .....	14
3.3.5 Messung der QC-Aktivität mittels HPLC-Analyse .....	16
3.4 Statistische Auswertung .....	16
4 Ergebnisse .....	18
4.1 Demographie des Patientenkollektivs .....	18
4.1.1 Risikofaktoren und Komorbidität .....	18
4.1.2 Komorbidität im Falle der Restenose .....	19
4.2 Verlauf der Entzündungswerte im Serum .....	19
4.2.1 Vergleich von CRP, Fibrinogen und BSR zwischen den beiden Gruppen PTA und OP .....	19
4.2.2 Vergleich der Zytokine zwischen PTA- und OP-Gruppe .....	21
4.2.3 Vergleich der QC-Aktivität im Serum zwischen den beiden Gruppen PTA und OP .....	24
4.3 Bestimmung der Restenoseereignisse .....	27
4.3.1 Bestimmung der Restenoseereignisse und ihre Beziehung zu CRP, Fibrinogen und BSR .....	27
4.3.2 Bestimmung der Restenoseereignisse und ihrer Korrelation zum Spiegel von Zytokinen .....	30
4.3.3 Bestimmung der Restenoseereignisse und ihrer Korrelation zur Serum-QC- Aktivität .....	36

4.3.4 Zeitverlauf der Restenoseereignisse in der PTA-Gruppe.....	39
5 Diskussion.....	41
5.1 Demographie .....	41
5.2 Risikofaktoren und Komorbidität .....	41
5.3 Entzündungsmarker im Serum.....	43
5.4 Entzündungsmarker und Restenose.....	45
5.5 QC-Aktivität.....	47
6 Zusammenfassung .....	50
7 Literaturverzeichnis.....	51
8 Thesen .....	63
9 Anhänge.....	65

## Abkürzungen

aHT	arterielle Hypertonie
APR	Akute-Phase-Reaktion
AVCB	aortokoronarer Venenbypass(-operation)
BMI	<i>body mass index</i>
BSR	Blutkörperchensenkungsreaktion
CCL2	CC-Chemokin-Ligand-2 (auch MCP-1)
CCL3	CC-Chemokin-Ligand-3 (auch MCP-1 $\alpha$ )
CCL4	CC-Chemokin-Ligand-4 (auch MCP-1 $\beta$ )
CCL7	CC-Chemokin-Ligand-7 (auch MCP-3)
CCL8	CC-Chemokin-Ligand-8 (auch MCP-2)
CCL13	CC-Chemokin-Ligand-13 (auch MCP-4)
CCR2	<i>C-C chemokine receptor type 2</i>
CCR5	<i>C-C chemokine receptor type 5</i>
CRP	C-reaktives Protein
CXCL9	CXC-Ligand-9 (auch MIG)
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EDRF	<i>endothel derived relaxing factor</i> = NO
ELISA	<i>enzyme-linked immunosorbant assay</i> , enzymgekoppelter Immuntest
eNOS	endotheliale Stickstoffsynthetase
g	Erdbeschleunigung
Gln	Glutamin = E
Glu	Glutamat = Q
HDL	<i>high density lipoproteins</i>
HLP	Hyperlipoproteinämie
HPLC	<i>high performance liquid chromatography</i>
ICAM	<i>intercellular adhesion molecule</i>
IFN- $\gamma$	Interferon- $\gamma$
IL	Interleukin
IL-1 $\beta$	Interleukin-1 $\beta$
IL-6	Interleukin-6
IQR	Interquartilsabstand
isoQC	Isoenzym der Glutaminy-Cyclase
KHK	koronare Herzkrankheit
LDL	<i>low density lipoprotein</i>
MCP-1	<i>monocyte chemoattractant protein-1</i> (auch CCL2)

MCP-2	<i>monocyte chemoattractant protein-2</i> (auch CCL8)
MCP-3	<i>monocyte chemoattractant protein-3</i> (auch CCL7)
MIG	<i>monokine induced by gamma-interferon</i> (auch CXCL9)
MCP-1 $\alpha$	<i>macrophage inflammatory proteine-1 alpha</i> (auch CCL3)
MCP-1 $\beta$	<i>macrophage inflammatory proteine-1 beta</i> (auch CCL4)
NO	Stickstoffmonoxid (siehe auch: EDRF)
NOS	Stickstoffmonoxid-Synthase
OP	Operation
oxLDL	oxidiertes LDL
PAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDGF	<i>platelet derived growth factor</i>
pGlu	Pyroglutamat
PTA	perkutane transluminale Angioplastie
PTCA	perkutane transluminale Koronarangioplastie
QC	Glutaminyl-Cyclase
QCs	Glutaminyl-Cyclasen
rpm	engl.: <i>revolutions per minute</i> , Umdrehungen pro Minute
TEA	Thrombendarteriektomie
TGF	<i>transforming growth factor</i>
TGF- $\beta$	<i>transforming growth factor beta</i>
TNF- $\alpha$	Tumornekrosefaktor alpha
TNF-1 $\alpha$	Tumornekrosefaktor 1-alpha
VCAM-1	<i>vascular cell adhesion molecule-1</i>

### 1 Einleitung

Die periphere arterielle Verschlusskrankheit (PAVK) ist als Verschluss bzw. hochgradige Stenose peripherer Arterien definiert (Gämperli et al., 2014). Die Prävalenz der PAVK steigt mit höherem Lebensalter an (Criqui et al., 1985). Die PAVK betrifft circa 20 % aller Menschen, die ab einem Alter von 65 Jahren einen Hausarzt aufsuchen (Diehm et al., 2004).

Der ursächliche pathologische Prozess, der zur PAVK führt, ist eine arteriosklerotische Veränderung der Gefäßwand.

Der Begriff Arteriosklerose betont dabei die zur Verhärtung („*skleros*“) der Arterienwand führende Umgestaltung (Lobstein, 1833). Die Bezeichnung „Atherosklerose“ wurde erstmals von MARCHAND verwendet (Marchand, 1904). Die Begriffe Arteriosklerose und Atherosklerose grenzen sich dabei gegeneinander ab. Atherosklerose ist der Überbegriff für die Arteriosklerose, Arteriolosklerose, Kapillarsklerose und die kalzifizierende Mediasklerose (Thomas and Schmitz-Moormann, 2003). Atherosklerose kann bereits in der Jugend auftreten (Tuzcu et al., 2001). Arteriosklerose wird definiert als variable Kombination von Intimaveränderungen der Arterien, die aus einer fokalen Anhäufung von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutprodukten, fibrösem Gewebe und Kalkablagerungen besteht und mit Mediaveränderungen einhergehen (Thomas and Schmitz-Moormann, 2003).

In dem Zusammenhang gliedert sich der Aufbau der Arterienwand von innen nach außen in *Tunica intima* (Intima), *Tunica media* (Media) und *Tunica adventitia* (Adventitia).

Die Intima ist die innerste Schicht. Sie besteht aus einer Endothelschicht mit Barrierefunktion. Die Media besteht aus spiralförmig angeordneten glatten Muskelzellen und elastischen Fasern, welche Kontraktion und Dilatation bewirken können. Zwischen den Muskelzellen befinden sich Elastin, Kollagen und Proteoglykane. Die Adventitia ist die äußerste Schicht und besteht aus lockerem Bindegewebe, Lymphgefäßen, vegetativen Nerven und Gefäßen (Schiebler and Korf, 2007).

Arterien vom elastischen Typ sind die großen herznahen Gefäße mit Windkesselfunktion, deren Media mit einer Vielzahl konzentrisch angeordneter elastischer Fasern ausgestattet ist. Arterien vom muskulären Typ sind die mittleren und kleineren Arterien, deren Media zirkulär und schraubenförmig angeordnete glatte Muskelfasern enthält (Reuter, 2004).

#### 1.1 Theorien zur Pathogenese der Atherosklerose

Schon VIRCHOW ging von einer entzündlichen Genese der Arteriosklerose aus, welche zu einer fettigen Metamorphose der Gefäßwand führt (Virchow, 1856). Zur Pathogenese

der Atherosklerose gibt es eine Reihe von Theorien. Zu nennen wären hier z. B. die thrombogene Hypothese, die Infektionshypothese oder die Lipidhypothese.

Bei der Lipidhypothese spielen z. B. erhöhte Fettwerte als pathogener Faktor eine entscheidende Rolle. WINDAUS wies Cholesterinablagerung in atheromatösen Aorten nach (Windaus, 1910). ANITSCHKOW und CHALATOW fanden, dass durch übermäßige Zufuhr von Cholesterin im Tierversuch mit Kaninchen atheromatöse Veränderungen in den Gefäßen entstehen. Dafür ursächlich sahen sie eine Reizung der Gefäße durch eingelagerte Fette mit nachfolgender bindegewebsartiger Umbildung (Anitschkow and Chalатов, 1983). Kritisiert wurde diese Arbeit in ihrer Übertragbarkeit zum Menschen, da Kaninchen Pflanzenfresser und nicht wie Menschen Allesfresser sind (Steinberg, 2005).

Mit ihrer Oxydationshypothese erhielten GOLDSTEIN und BROWN den Nobelpreis für ihre weiterführenden Erkenntnisse in der Lipidhypothese und führten so zum Beginn der Entwicklung von Lipidsenkern. Sie zeigten, dass modifiziertes (autooxydiertes) *low density lipoprotein* (LDL) über den LDL-Rezeptor in Monozyten und Makrophagen aufgenommen wird. Dadurch kommt es zur Umwandlung dieser Zellen in Schaumzellen (Goldstein and Brown, 1977). Die Ursache der Entwicklung der Arteriosklerose wurde hier nicht in der Endothelschädigung, sondern im erhöhten Lipoproteinspiegel gesehen.

Im Rahmen der *Response to injury* - Hypothese von ROSS wurde die Arteriosklerose als „chronische Entzündung“ mit Myofibroblastenproliferation gesehen (Ross et al., 1977; Ross, 1999). Durch schädigende Einflüsse auf die Arterienwand kommt es zur Endotheldysfunktion (Ross et al., 1977; Ross, 1999). Auslöser dieser Schädigung können chemisch (Hypercholesterinämie, Homocystein), mechanisch (arterielle Hypertonie, Turbulenzen an Gefäßaufzweigungen) oder immunologisch sein (Ross et al., 1977; Ross, 1999). Durch die Endothelschädigung kommt es zur erhöhten Permeabilität und zum Eindringen von Blutbestandteilen in die Gefäßwand (Ross et al., 1977; Ross, 1999). Anschließend adhären Thrombozyten an die Läsion (Ross et al., 1977). Die Thrombozyten setzen „*platelet derived growth factor*“ (PDGF) frei (Ross et al., 1977; Ross, 1999). PDGF fördert wiederum die Myofibroblastenproliferation und die Migration und Vermehrung von glatten Muskelzellen in der Intima (Ross et al., 1977; Ross, 1999). Daraus folgt die Bildung von Bindegewebe und Einlagerung von Lipiden. Monozyten und Makrophagen nehmen diese Lipide auf und wandeln sich zu Schaumzellen um (Ross et al., 1977).

Im Fazit zeigt sich die Arteriosklerose als multifaktorielles Geschehen. Allen Theorien gemeinsam sind eine morphologische Veränderung der Intima und die Auslösung der Veränderung aus der Blutbahn heraus. Dafür ist die Passage der Endothelzellschranke notwendig.



### 1.2 Risikofaktoren der Arteriosklerose

Es gibt Risikofaktoren 1. Ordnung, welche für sich allein atherogen wirksam sind. Zu diesen zählen Hyperlipidämie (HLP), arterielle Hypertonie (aHT), Rauchen, Diabetes mellitus, Fettstoffwechselstörung sowie eine familiäre Disposition. Daneben gibt es Risikofaktoren 2. Ordnung, welche nur in Verbindung mit Faktoren aus der ersten Gruppe atherogen wirksam sind. Dazu gehören Bewegungsmangel, Adipositas, erhöhte Fibrinogenkonzentration im Blut, Hyperurikämie, psychosozialer Stress und die Einnahme von Ovulationshemmern. Diese Risikofaktoren wurden im Rahmen der Framingham-Studie und der Baseler Studie eruiert (Gordon et al., 1981; Frömke, 2006). Im Gegensatz zu potentiell beeinflussbaren bzw. reversiblen Faktoren, wie die Faktoren 1. und 2. Ordnung, gibt es zudem irreversible Faktoren, wie Alter, männliches Geschlecht und genetische Faktoren (Thomas and Gebert, 1996).

Atherogen wirken zudem ein hoher LDL- und ein niedriger HDL-Cholesterinwert (Sharrett et al., 1994). Weiterhin gibt es primäre, genetisch bedingte HLP, von denen aber nur einige das Arterioskleroserisiko erhöhen, sowie sekundäre HLP, die z. B. durch Ernährung oder Diabetes mellitus entstehen.

### 1.3 Arteriosklerotische Läsion

Die Endothelzelle und die Endotheldysfunktion spielen bei der Entstehung der arteriosklerotischen Läsion die entscheidende Rolle. Das Lumen der Gefäße wird von einer dünnen Schicht aus Endothelzellen ausgekleidet. Eine Dysfunktion dieser Schicht begünstigt die Entstehung der Arteriosklerose. Sie ist auf eine verminderte Aktivität von Stickstoffmonoxid (NO) zurückzuführen und bedingt eine verringerte endothelabhängige Vasodilatation. Mechanistisch führt dabei die Hemmung der endothelialen Stickstoffsynthetase (eNOS) über oxidiertes *low density lipoprotein* (oxLDL) zur Reduktion der Produktion von NO, welches in den Endothelzellen gebildet wird. Im Rahmen der endothelialen Aktivierung kommt es weiterhin zur Expression von Adhäsionsmolekülen, z. B. Selektine, *vascular cell adhesion molecule-1* (VCAM-1) und *intercellular adhesion molecule* (ICAM), welche zur Anheftung von Leukozyten an die Gefäßwand (Gearing and Newman, 1993) und zur Expression chemotaktischer Proteine wie CCL2 führen, welche die Transmigration von Leukozyten durch die Gefäßwand induzieren (Libby et al., 2002). Die Expression von Adhäsionsmolekülen und chemotaktischen Proteinen wird z. B. durch Zytokine (wie IL-1 und TNF), mechanische Intimaschädigungen oder freie Sauerstoffradikale begünstigt (Li et al., 1993; Krejcy et al., 1996). Ein aktiviertes Endothel bildet weiterhin Zytokine, Wachstumsfaktoren und freie Sauerstoffradikale, wodurch die Atheromatose zunimmt. Auch durch Gefäßoperationen und Interventionen, wie Thrombendarteriektomie und Angioplastie (Ballondilatation), kommt es zur endothelialen Dysfunktion (Meyne, 2003).

Die Angioplastie führt dabei durch Dissektion der Intima zur Endothelaktivierung mit anhaltender Dysfunktion (Weidinger et al., 1990).

### **1.4 Entzündungsreaktion und entzündliche Signalmoleküle in der Atherosklerose**

Unter normalen Umständen kommt es am Endothel nicht zur Leukozytenretention. Aber z. B. durch Reize wie eine atherogene Diät exprimieren Endothelzellen selektive Adhäsionsmoleküle, welche die Anhaftung von Leukozyten vermitteln (Libby et al., 2002). Das exprimierte Adhäsionsmolekül VCAM-1 bindet vor allem Monozyten und T-Lymphozyten, welche dann auch im frühen Atherom nachweisbar sind (Libby et al., 2002). Im frühen Atherom werden weiterhin proinflammatorische Zytokine exprimiert. Diese wirken unter anderem chemotaktisch auf die adhärenenten Leukozyten, wodurch diese zur Migration durch die Intima angeregt werden (Libby et al., 2002). Leukozyten, welche die Intima durchdrungen haben, sezernieren dann ihrerseits Zytokine und Wachstumsfaktoren (Libby et al., 2002), welche wiederum zur Proliferation von glatten Muskelzellen führen (Libby et al., 2002). Vor allem das CCL2 regt die Migration der Leukozyten durch die Intima an (Gu et al., 1998).

CCL2 wird vom *cc-chemokine receptor type 2* (CCR2) gebunden (Rossi and Zlotnik, 2000). Oxidiertes LDL (aber kein natives LDL) führt zur Produktion von CCL2 in den Zellen der Gefäßwand (Endothelzellen, glatte Muskelzellen) (Cushing et al., 1990). In Folge der CCL2-Ausschüttung kommt es zur Einwanderung von Monozyten in die Gefäßwand, welche sich dort zu Makrophagen differenzieren, die dann vermehrt Cholesterin aufnehmen (Libby et al., 2002). CCL2 aktiviert Monozyten, T-Zellen, natürliche Killerzellen und basophile Granulozyten (Rollins, 1997) und es spielt eine Schlüsselrolle bei der Rekrutierung von Monozyten aus dem Blut und dabei bei der Entwicklung früher arteriosklerotischer Läsionen (Charo and Taubman, 2004).

Bei der perkutanen transluminalen Koronarangioplastie (PTCA) eines stenosierten koronaren Gefäßes kommt es zur Verletzung des Endothels. Dies verursacht eine Entzündungsreaktion, bei der ebenfalls CCL2 freigesetzt wird (Cipollone et al., 2001). Auch bei Restenosierung einer Arterie erhöht sich der Spiegel von CCL2 in der Zirkulation (Cipollone et al., 2001). Vor allem bei Patienten, bei denen sich der CCL2-Spiegel nach 2 Wochen nicht normalisiert hat, zeigten sich vermehrt Stenosen (Cipollone et al., 2001). Mäuse, die aufgrund eines Gendefektes kein CCL2 bilden, entwickeln, trotz fettreicher Diät, seltener und geringere Arteriosklerose (Gosling et al., 1999). Das Gleiche gilt für Mäuse mit einem Gendefekt für den CCL2-Rezeptor CCR2, welche unter fettreicher Diät ebenso geringere arteriosklerotische Läsionen entwickeln (Boring et al., 1998). *In vivo* zeigt sich in symptomatischen Carotisplaques ein höherer Spiegel an CCL2 im Vergleich zu asymptomatischen Stenosen (Shalhoub et al., 2016).

Als weitere wichtige Chemokine im arteriosklerotischen Geschehen sind die Chemokine CCL3, CCL4, CCL7, CCL8 und CXCL9 zu nennen.

CCL3 wirkt beim Fortschreiten der Arteriosklerose mit (de Jager et al., 2013). Bei Patienten mit Arteriosklerose wurden erhöhte Plasmalevel von CCL3 und CCL4 gefunden (Cagnin et al., 2009). CCL4 spielt eine Rolle in der Entwicklung der Arteriosklerose (Reape and Groot, 1999). CCL4 kann allein (oder auch in Kombination mit Fibrinogen) als prognostischer Faktor für Arteriosklerose fungieren (Xu et al., 2012). CCL4 wird in arteriosklerotischen Plaques exprimiert (Schechter et al., 2000). Nach Angioplastie bei Mäusen kommt es zur Erhöhung von CCL7 in den glatten Muskelzellen der Gefäße (Wang et al., 2000). Es gibt Hinweise darauf, dass auch CCL7 in die Entwicklung der Arteriosklerose eingreift (Fu et al., 2015). CCL3, CCL7 und CCL8 sind Marker für Arteriosklerose (Ardigo et al., 2007). Die CXCL9-Serumspiegel korrelieren signifikant mit der Zunahme der Intima Media-Dicke der *Arteria carotis* (Yu et al., 2015). *In vivo* zeigt sich in symptomatischen Carotisplaques, im Vergleich zu asymptomatischen Stenosen, ein höherer Spiegel an CXCL9 (Shalhoub et al., 2016).

Die Akute-Phase-Reaktion (APR) ist eine Entzündungsreaktion, welche durch Gewebsschädigung hervorgerufen wird. Dabei setzen Endothelzellen Zytokine wie z. B. die Interleukine (IL) IL-1 und IL-6 frei (Pallua and von Bülow, 2002). Durch diese freigesetzten Zytokine wird in der Leber die Bildung von Akute-Phase-Proteinen angeregt (Heinrich et al., 1990). Akute-Phase-Proteine sind z. B. CRP und Fibrinogen, wobei CRP als Typ 1 Akute-Phase-Protein vor allem durch IL-1 und TNF- $\alpha$  angeregt wird, wohingegen Fibrinogen als Typ 2 Akute-Phase-Protein vor allem durch IL-6 stimuliert wird (Berg and Klein, 1998). Die Blutkörperchensenkungsreaktion (BSR) beschleunigt sich ebenfalls im Rahmen der APR. Das CRP lässt sich schon in frühen Stadien der Arteriosklerose in Plaques nachweisen (in Co-Lokalisation mit atherogenen Lipiden) (Torzewski et al., 1998). Möglicherweise wird es auch in der arteriosklerotischen Plaque gebildet (Yasojima et al., 2001). Es gibt einen Zusammenhang zwischen der Konzentrationserhöhung der CRP und dem Risiko für die Entwicklung einer PAVK (Ridker et al., 1998). Die Höhe des Spiegels korreliert mit dem Schweregrad der PAVK (De Haro et al., 2008). Bei Patienten mit PAVK beträgt die CRP durchschnittlich 4,9 mg/l im Vergleich zu 3,8 mg/l bei nicht PAVK Patienten (Sander et al., 2008). Über die CRP-abhängige Induktion von CCL2 kommt es zur Monozytenanlockung (Pasceri et al., 2001). Fibrinogen trägt maßgeblich zur BSR bei (Talstad and Haugen, 1979). Es steigert die Plasma- und Blutviskosität und führt zur Adhäsion von Erythrozyten und Thrombozyten an das Endothel (Seidel, 1993). Rauchen steigert die Fibrinogenkonzentration im Blut (Seidel, 1993).

IL-6 ist der Hauptauslöser der APR. Es induziert die Synthese vieler Akute-Phase-Proteine wie Fibrinogen und CRP *in vitro* (Castell et al., 1988). Unterschiede in den Fibrinogen-Genotypen korrelieren mit unterschiedlichem Risiko für Arteriosklerose (Lee et al., 1999). Fibrinogen fördert ebenfalls die Adhäsion von Leukozyten an das Endothel (Altieri et al., 1995). Zudem stellt eine erhöhte Fibrinogenkonzentration einen Risikofaktor für die Entwicklung einer cruralen Bypass-Stenose im ersten Jahr nach Operation dar (Hicks et al., 1995).

Die BSR ist ein unabhängiger Risikofaktor für Arteriosklerose (Carlson et al., 1979). Eine erhöhte BSR ist bei Männern ein signifikanter Risikofaktor für den Tod an einer Gefäßerkrankung (Böttiger and Carlson, 1980) und ein Prädiktor für den Tod am Myokardinfarkt (Erikssen et al., 2000).

### 1.5 Glutaminyl-Cyclasen

Eine Reihe der im vorhergehenden Abschnitt genannten inflammatorischen Mediatoren werden während der Reifung durch die Aktivität von Glutaminyl-Cyclase (QC) post-translational modifiziert.

Die QC (EC 2.3.2.5.) ist ein Enzym, welches die intramolekulare Zyklisierung von N-terminalem Glutamin (Gln, Q) bei Proteinen und Peptiden zu Pyroglutamat katalysiert und auf diesem Wege an der Proteinreifung beteiligt ist. Bei dieser Reaktion wird Ammoniak ( $\text{NH}_3$ ) frei (Schilling et al., 2004) (Abb. 1).

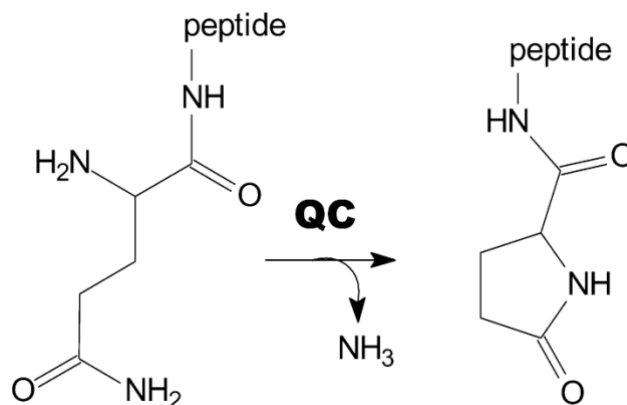


Abb. 1. Zyklisierung von N-terminalen Glutaminresten durch die QC. Produkt der Reaktion ist ein 5-gliedriger Lactamring (auch Pyroglutamat genannt). (modifiziert nach (Schilling et al., 2004)). Glutaminyl-Cyclase (QC), Ammoniak ( $\text{NH}_3$ )

Die QC katalysiert ebenso die intramolekulare Zyklisierung N-terminaler Glutamatreste (Glu, E) zu Pyroglutamat unter Freisetzung von Wasser ( $\text{H}_2\text{O}$ ) (Schilling et al., 2004) (Abb. 2).

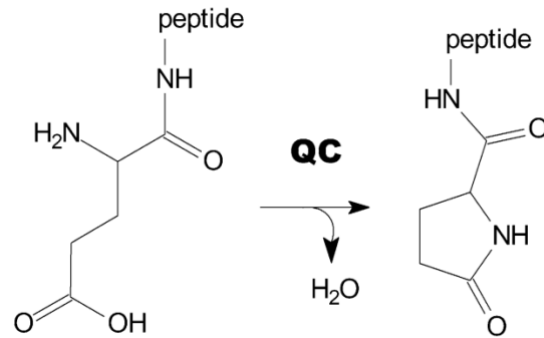


Abb. 2. Zyklisierung von N-terminalen Glutamatresten durch QC.  
Produkt der Reaktion ist ein 5-gliedriger Lactamring (auch Pyroglutamat genannt)  
(modifiziert nach (Schilling et al., 2004)).

Durch diese Zyklisierung von Glutamin geht die basische Eigenschaft des N-Terminus verloren und es kommt zur Zunahme der Stabilität und zum Schutz gegen den Abbau durch Aminopeptidasen (Cynis et al., 2011). 1987 gelang der Nachweis von QC beim Menschen z. B. in Lymphknoten (Busby et al., 1987). Das Enzym ist nach Passage des Golgi-Apparates in Sekretionsvesikeln nahe der Zellmembran lokalisiert (Böckers et al., 1995). Die QC wird in löslicher Form sezerniert (Cynis et al., 2008). Dagegen wird ihre Isoform (isoQC) nicht sezerniert. Sie verbleibt als membrangebundenes Enzym im Golgi-Apparat (Cynis et al., 2008). Diese beiden Formen der QC ähneln sich zu 45 % in ihrer Sequenz und verfügen über ähnliche katalytische Eigenschaften (Cynis et al., 2008). Die Bildung des Pyroglutamats durch die QC ist für die Funktion insbesondere der in der Arteriosklerose beteiligten Chemokine der MCP-Unterfamilie (CCL2, CCL7, CCL8, CCL13) entscheidend (Cynis et al., 2011; Van Coillie et al., 1998).

Die Reifung von CCL3, CCL4, CXCL9, IL-6, TNF-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  ist dagegen nicht von der Katalyse durch die QC abhängig. Die QCs haben somit über die posttranslationale Modifikation von Proteinen einen Einfluss auf die Entstehung insbesondere von entzündlichen Erkrankungen.

### 1.6 Restenosierung

Es gibt, je nach Lage und Länge der Stenose, unterschiedliche Methoden, ein verengtes (stenosiertes) Gefäß zu behandeln. Als minimalinvasives Verfahren steht hier an erster Stelle die perkutane transluminale Angioplastie (PTA). Bei dieser wird mittels eines über Punktion und über einen Führungsdraht in eine Arterie eingeführten Ballons eine Aufdehnung (Dilatation) der Stenose vorgenommen. Bei hochgradigen Stenosen, ausgeprägter Verkalkung und nach Dilatation unzureichendem Lumen kann dieses Verfahren mit einem Stent ergänzt werden. Bei langstreckigen Verschlüssen, Lage der Stenose in wichtigen Aufzweigungsbereichen (Bifurkationen) und Zustand nach frustraner Dilatation bleibt operative lokale Ausschälung der Stenose mittels Gefäßspatel aus dem Gefäß (Thrombendarteriektomie = TEA) oder die Umgehung der Stenose

mittels eines Bypasses. Bei Operationen spricht man in der Gefäßchirurgie von einem „Eingriff“, bei Zugang zum Gefäß über perkutane Punktion mit PTA und/oder Stentimplantation aber von einer „Intervention“.

Der Prozess der Restenosierung nach PTA, PTA mit Stent und nach Operation unterscheidet sich zumindest in seinen Anfängen von der primären Stenosierung der Arterien. Durch verschiedene Reaktionen kann es zur Wiederverengung (Restenose) im behandelten Gefäß kommen. Nach der Dilatation kommt es dabei zur Thrombozytenadhäsion und Thrombozytenaggregation im Bereich der gesetzten Intimaeinrisse mit Freisetzung von Entzündungsmediatoren. In deren Folge kommt es zur Ausbildung einer neointimalen Hyperplasie und Stenosierung durch negatives Gefäßremodeling (negatives Remodeling = Verkleinerung des Gefäßdurchmessers, Schrumpfung) (Liermann and Kickuth, 2003). Die PTA stellt für das Gefäß ein Barotrauma mit Zerstörung des Endothels und Intimaeinrissen bis hin zu Mediaeinrissen dar (Böger et al., 1996). Es kommt zur Trennung der Intima von der Tunica media (Böger et al., 1996) mit nachfolgendem Einsetzen der Fibrosierung. Durch das elastische *Recoil* kommt es schon direkt nach der PTA durch die Rückstellkräfte zur Verringerung des aufdilatierten Lumens und durch das Barotrauma zur Aktivierung des intrinsischen Gerinnungssystems (Lammer, 2001). Dies führt zur Freisetzung von Mediatoren aus Thrombozyten (Thromboxan, PDGF), zu einer Heraufregulation von Entzündungsmediatoren, wie CCL2 und darüber hinaus zur Vasokonstriktion (Lammer, 2001). Ein Stent verhindert zwar das elastische *Recoil*, jedoch wird die Gerinnungskaskade aktiviert (Lammer, 2001). Durch die Schädigung des Endothels fehlen vasoprotektive Substanzen, wie z. B. Prostazyklin und NO, welche normalerweise die Thrombozytenadhäsion und Thrombozytenaggregation hemmen (Minar, 2002). Im weiteren Verlauf kommt es zur Aktivierung und Proliferation von glatten Muskelzellen (z. B. durch PDGF und TGF- $\beta$ ) (Waltenberger, 1997). Die glatten Muskelzellen wachsen dann von der Media in die Neointima ein, ein Prozess, der ebenfalls von CCL2 mitverursacht wird (Schepers et al., 2006). Dies führt schlussendlich zur Restenosierung (Waltenberger, 1997). Die Muskelzellen wandeln sich zu Fibroblasten um und bilden so die Neointima mit (Liermann and Kickuth, 2003). Hinsichtlich femoropoplitealer Interventionen werden 95 % primäre technische Erfolgsrate angegeben (Lammer, 2001), bei jedoch letztlich nur einer Offenheit von 61 % nach einem Jahr, 51 % nach 2 Jahren und 48 % nach 5 Jahren (Lammer, 2001). Die Offenheit der Intervention ist natürlich auch abhängig von der Länge der behandelten Stenose, der Lage des Segmentes (z. B. Bewegungssegment), dem verwendeten Ballon (evtl. medikamentenbeschichtete Ballons oder *Cutting Ballons*), der Art des Stents, und von den Begleiterkrankungen. Das vaskuläre Remodeling tritt auf, wenn die Myofibroblasten der

Adventitia das Gefäß verengen, indem sie sich im Bereich der erfolgten PTA zu einer „Myofibroblastischen Narbe“ formen, ähnlich wie dies auch bei der Wundheilung im Bereich der Haut eintritt (Wilcox et al., 2001).

Die Restenosierung nach TEA und Bypassimplantation unterliegt nahezu den gleichen Mechanismen wie die Restenosierung nach PTA. Es kommt hierbei zwar nicht zu einer Überdehnung, wohl aber zu einer „Verletzung“ des Gefäßes. Durch das Herausschälen der Plaques bei der TEA aus dem Gefäß geht die Intima verloren. Es kommt in der Folge ebenso zur Neointimabildung. Der Prozess der neointimalen Neubildung findet auch im Bypass statt. Die in der Restenose bestehende hyperplastische Intima ist vor allem auf Migration und Proliferation der glatten Muskelzellen und Matrixakkumulation zurückzuführen (Ip et al., 1990; Swedberg et al., 1989). In koronaren Venenbypässen wurde z. B. nachgewiesen, dass es vor allem zur intimalen Hyperplasie, aber auch zur Fibrose der Media kommt (Kern et al., 1972).

### **1.7 Einführung zur Studie und Untersuchungsansätze**

Die Restenose stellt für Patienten, die sich einem Gefäßeingriff unterziehen, ein Risiko dar. Bei diesen Patienten wurden die Migration und Aktivierung von Monozyten/Makrophagen und glatten Muskelzellen als Schlüsselmediatoren identifiziert (Casscells, 1992; Kitamoto et al., 2003). Der Prozess wird durch die Wirkung einer Reihe von chemotaktischen Chemokinen, wie z. B. CCL2 als wichtiges Beispiel, gesteuert (Joner et al., 2007). CCL2 wird von Endothelzellen und glatten Gefäßmuskelzellen aufgrund der Strapazierung der Gefäßwand freigesetzt. Dies geschieht z. B. durch chemische Stimulation, durch oxidierte LDL-Partikel oder durch mechanische Stimulation sowie durch eine Operation, durch Ballondilatation oder Stentimplantation (Casscells, 1992; Furukawa et al., 1999; Shi et al., 2000). Dies führt zur Bildung eines Chemokin-Gradienten durch die Bindung von CCL2 an Glykosaminoglykane der extrazellulären Matrix, welcher die Monozyten an die Stelle der Entzündung führt (Lau et al., 2004; Proudfoot et al., 2003). CCL2 und seine Verwandten CCL7 und CCL8 sind potente chemische Lockstoffe für Monozyten und Makrophagen (Ugucioni et al., 1995, 1996). Darüber hinaus ist die CCL2-vermittelte Aktivierung und Reifung von Monozyten durch Hochregulierung von *Scavenger* Rezeptoren und die zusätzliche Freisetzung von proinflammatorischen Mediatoren wie Zytokinen, freien Radikalen und Stickstoffverbindungen gekennzeichnet (Hansson et al., 2006; Takaku et al., 1999). Der Prozess resultiert letztendlich in einer Progression der Entzündung, welche zur *Neointimabildung* im behandelten Gefäß führt. Diese bedroht den sekundären Erfolg des durchgeführten Eingriffs. Es wurde bereits gezeigt, dass erhöhte Spiegel von CCL2 mit der Inzidenz der Restenose nach Koronarangioplastie korrelieren (Cipollone et al., 2001). Die metabolische Stabilität und Bioaktivität verschiedener Entzündungsmoleküle

wird durch ihre posttranslationale Modifikation durch Glutaminyl-Cyclasen (QC (QPCT) und isoQC (QPCTL)) beeinflusst, welche die Bildung von N-terminalen Pyroglutamat Resten katalysieren (Proost et al., 1998, 2006; Schilling et al., 2008a). Diese Reaktion schützt z. B. CCL2 und seine Verwandten gegen den Abbau durch Aminopeptidasen (Cynis et al., 2011; Zhang et al., 1994). Auch das Akute-Phase-Protein CRP zeigt sich Pyroglutamat-modifiziert (Oliveira et al., 1979). Der Zusammenhang zwischen der zirkulierenden QC-Aktivität und ihrer Substrate CCL2 und CRP ist noch nicht ganz klar. Die QC-Aktivität kann in kultivierten Makrophagen durch bakterielle Lipopolysaccharide hochreguliert werden (Chikuma et al., 2004). Andere Studien deuten auch an, dass der QC-Spiegel ebenfalls mit anderen entzündlichen Erkrankungen wie z. B. Rheumatoider Arthritis verknüpft ist (Batliwalla et al., 2005). Studien über den Zusammenhang des QC-Spiegels mit der Arteriosklerose, welche heute als entzündliche Erkrankung verstanden wird, existieren noch nicht. Neben bereits gefundenen Korrelationen einiger Chemokine und Immunmodulatoren als Prädiktoren wurde die mögliche Funktion der QC als Prädiktor für Arteriosklerose noch nie untersucht.



### **2 Zielsetzung**

Nach Gefäßeingriffen kommt es gehäuft zu Restenosen. Im Falle einer Restenose oder sogar eines vollständigen Wiederverschlusses droht die Progredienz der Erkrankung bis hin zur Amputation. Eine frühzeitige Erkennung der Restenose mit ökonomisch gerechtfertigtem Aufwand ist daher von klinischem Interesse. Sinnvoll wäre, wenn man die Risikogruppen der Patienten, denen eine Restenosierung droht, frühzeitig erkennen könnte. Damit könnten auch die Folgekosten durch Verringerung des Aufwandes für einen Rezidiveingriff sowie letztlich auch der Zeitumfang des Aufenthaltes in der Klinik gesenkt werden.

Ein Zusammenhang zwischen der Veränderung der QC-Aktivität und der erneuten Bildung von Arteriosklerose/Restenosen in behandelten Gefäßsegmenten ist bisher noch nicht untersucht worden, obwohl die Rolle der QC im Rahmen anderer entzündlicher Erkrankungen bereits bekannt ist. Da die Arteriosklerose heute auch als eine entzündliche Erkrankung verstanden wird, liegen weiterführende Untersuchungen in dieser Richtung nahe.

Das Ziel der vorliegenden Studie war die Untersuchung der Veränderung der QC-Aktivität nach zwei Arten von Gefäßtherapien, wenn seine bedeutenden Substrate, z. B. CCL2 und CRP in erhöhten Konzentrationen in der Zirkulation detektiert werden können. Darüber hinaus sollten weitere proinflammatorische Zytokine und Proteine der APR und der zeitliche Verlauf der QC-Aktivität analysiert, die Restenoseereignisse der eingeschlossenen Patienten erfasst und in den zwei Patientenkollektiven verglichen werden. Das Ziel war, putative prädiktive Faktoren für eine Restenose nach Gefäßeingriffen zu finden. Ist deren Validierung in Folgestudien erfolgreich, könnte so in Zukunft frühzeitig in das erneute Fortschreiten der Arteriosklerose in operierten Gefäßsegmenten eingegriffen werden.

### 3 Material und Methoden

#### 3.1 Patientenkollektiv

Es wurden 28 Patienten (23 männlich, 5 weiblich, mittleres Alter  $59 \pm 9,1$  Jahre) in eine Pilotstudie eingeschlossen. Die Daten wurden im Rahmen einer prospektiven Kohortenstudie erhoben. Der weitere Nachbeobachtungszeitraum zur Fragestellung des Auftretens von Stenosen betrug 1100 Tage für jeden Patienten. Die Patienten kamen aus dem südlichen Sachsen-Anhalt und wurden im St. Elisabeth und St. Barbara Krankenhaus Halle (Saale) behandelt.

Die Studie wurde mit der Referenznummer 9/08 von der Ethikkommission der Landesärztekammer Sachsen-Anhalt genehmigt.

Die Patienten wurden aus zwei Gruppen gefäßchirurgischer Therapien ausgewählt. Die erste Gruppe bestand aus Patienten, die entweder mit einer Bypassimplantation (femoro-popliteal, femoro-femoral) oder einer TEA mit Patchplastik versorgt wurden. Diese Gruppe wird nachfolgend als OP-Gruppe bezeichnet. Dieses Kollektiv wurde mit Patienten verglichen, die eine minimalinvasive PTA mit oder ohne Stentimplantation erhielten. Diese Gruppe wurde als PTA-Gruppe bezeichnet.

Es handelte sich um Patienten mit Arteriosklerose im Stadium IIb oder IIIa nach Fontaine, welche zur Intervention (PTA oder PTA mit Stent) oder gefäßchirurgischen Rekonstruktion (TEA und Patchplastik oder Bypassimplantation) aufgenommen wurden. Weitere Einschlusskriterien waren eine schriftliche Zustimmung der Patienten, die Diagnose einer PAVK, welche eines gefäßchirurgischen Eingriffs bedurfte und die Einwilligung in Blutabnahme an allen vorgegebenen Tagen.

Ausschlusskriterien waren die Anwesenheit einer chronisch-entzündlichen Erkrankung, wie z. B. Rheumatoider Arthritis, Drogen- und/oder Alkoholabusus und positive HIV- oder Hepatitisserologie ebenso wie ein Vorhandensein einer PAVK im Stadium IV nach Fontaine. Ausgeschlossen wurden auch Patienten, die ihre Einwilligung zur Studie zurückzogen und welche die Studie vorzeitig abbrachen.

#### 3.2 Erhobene Patientendaten

Bei allen Patienten wurden folgende Daten erhoben: Alter, Art der Intervention/Operation, PAVK-Stadium nach Fontaine (Fontaine et al., 1954), Größe, Gewicht, *body mass index* (BMI), eingenommene Medikamente, Routinelaborparameter mit Hämatologie, klinischer Chemie und Gerinnungsfaktoren (im speziellen: CRP, BSR, Fibrinogen, Leukozyten, Lymphozyten, Monozyten, Triglyceride, Cholesterin). Eine Anamnese hinsichtlich der Risikofaktoren, arterielle Hypertonie (aHT), Nikotinabusus, Diabetes mellitus und Fettstoffwechselstörungen wurde ebenfalls durchgeführt.

Tab. 1. Einteilung der Patienten in die verschiedenen Stadien der PAVK nach Fontaine.  
(Fontaine et al., 1954)

Stadium	Klinisches Bild
Stadium I	Keine Beschwerden, asymptomatische PAVK
Stadium IIa	Gehstrecke > 200 m
Stadium IIb	Gehstrecke < 200 m
Stadium III	Ruheschmerzen
Stadium IV	Nekrose

periphere arterielle Verschlusskrankheit (PAVK)

#### 3.3 Blutentnahme

Die Blutentnahmen erfolgten am liegenden Patienten zu folgenden Zeitpunkten: einen Tag vor dem Eingriff (-1), und einen Tag nach dem Eingriff (+1), nach einer Woche (+7), nach 6 Wochen (+42) und nach drei Monaten (+90). Während die ersten zwei Blutentnahmen (bei der PTA-Gruppe) oder drei Blutentnahmen (OP-Gruppe) während des Krankenhausaufenthaltes erfolgten, kamen die Patienten für die anderen Zeitpunkte für eine ambulante Vorstellung in die Klinik. Die Entnahme des Blutes erfolgte in Monovetten (Sarstedt). Patienten, die nicht zu allen Terminen erschienen, wurden später von der Datenanalyse ausgeschlossen.

Zu jedem Zeitpunkt wurden 5,5 ml Serum für die Bestimmung der CRP-Konzentration, 2 ml Zitratplasma für die Bestimmung der BSR, 5,5 ml Serum für die Bestimmung der Zytokine und 3 ml Zitratplasma für die Bestimmung von Fibrinogen abgenommen. Am Tag vor dem Eingriff erfolgte zusätzlich die Entnahme von 2,7 ml EDTA-Plasma, welches zusammen mit Serum und Zitratplasma zur zusätzlichen Bestimmung von Routinelaborparametern diente. Es erfolgte sofort der Transport der mit Patientenummer und Entnahmetag beschrifteten Proben ins Labor.

Die Serumprobe (5,5 ml) wurde anschließend nach Koagulation (15–20 min, bei Raumtemperatur) für 10 min bei ca. 1500 x g zentrifugiert. Die Probe wurde dann in je drei Einzelproben á 150 µl aliquotiert. Das Plasma wurde für die entsprechenden Bestimmungen zunächst bei < -20°C gelagert. Nach Sammlung von mehreren Proben wurden diese zum Kooperationspartner Probiodrug AG, Halle (Saale) verbracht und dort bei -80 °C bis zur endgültigen Bestimmung der Serum-QC-Aktivität gelagert. Die Bestimmung von CRP, BSR und Fibrinogen und anderer Routinelaborparametern erfolgte im Labor des St. Elisabeth und St. Barbara Krankenhauses in Halle (Saale).

Im Falle eines erneuten Krankenhausaufenthaltes aufgrund einer Restenose oder eines vollständigen Wiederverschlusses des Gefäßsegmentes wurde die Zeit zwischen erstem und zweitem Eingriff notiert. Zusätzlich wurde in regelmäßigen Abständen und zum Ende des 1100 Tage umfassenden Beobachtungszeitraums der niedergelassene Angiologe bzw. Hausarzt jedes Patienten telefonisch befragt, ob bei dem jeweiligen Patienten eine Restenose oder ein vollständiger Wiederverschluss diagnostiziert worden sei.

#### 3.3.1 CRP-Bestimmung mittels eines partikelverstärkten immunologischen Trübungstests

Die Konzentration von CRP wurde unter Nutzung von Latexpartikeln (Roche), welche mit einem monoklonalen Maus-Anti-CRP-Antikörper beschichtet waren, bestimmt. Humanes CRP reagiert dabei mit den beschichteten Latexpartikeln zu Immunkomplexen, was zu einer Eintrübung der Lösung führt, die mithilfe eines Spektrometers (Cobas integra, Roche) bei einer Wellenlänge von 570 nm quantifiziert werden kann. Die Trübung ist der Konzentration direkt proportional und wird über eine Kalibrationskurve quantifiziert.

#### 3.3.2 Fibrinogenbestimmung mit der Methode nach Clauss

Das Fibrinogen wurde mittels Methode nach Clauss (Clauss, 1957), unter Anwendung des TriniCLOT Fibrinogen Kit (Trinity Biotech), bestimmt. Blut wird dazu mit 0.106 M Na-Zitrat in einem Verhältnis von 9:1 gemischt, um die Gerinnung zu verhindern, gefolgt von der Zugabe von Thrombin. Die Spaltung von Fibrinogen führt zur Trübung der Lösung, was anschließend unter Nutzung eines Thrombolyzer (Compact XR, Behnk) quantifiziert werden konnte. Bei Fibrinkonzentrationen zwischen 0,1 und 0,4 g/l ist nach Zugabe einer standardisierten Menge Thrombin die gemessene Gerinnungszeit proportional zur Menge des Fibrinogens.

#### 3.3.3 BSR-Bestimmung nach der Westergren-Methode

Zur Bestimmung der BSR wurde die Proben mit 0,16 M Na Zitrat in einem Verhältnis von 5:1 gemischt. Vertikal platzierte kalibrierte Probenröhrchen (Sarstedt) wurden für eine Stunde inkubiert und die Senkung der Blutzellen durch Bestimmung der Höhe der resultierenden Plasmasäule in Millimetern aufgezeichnet (Westergren, 1921).

Tab. 2. Referenzbereiche des Messlabors

	<b>CRP</b>	<b>Fibrinogen</b>	<b>BSR</b>
<b>Referenzbereich</b>	0,00–8,00 mg/l	2,4–5,0 g/l	3–8 mm/h

CRP = C-reaktives Protein, BSR = Blutkörperchensenkungsreaktion

#### 3.3.4 Zytokin Analyse mittels Multiplex

Multiplex Analyse wurde gemäß der Anleitung des Herstellers für ein Bio-Plex-System 200 (Bio-Rad Laboratories, München, Deutschland) durchgeführt, um die Konzentration von humanem CCL2, CCL3, CCL4, CCL7, CCL8, CXCL9, IL-1 $\beta$  und IL-6 zu analysieren. Dies erfolgte im Institut Probiobdrug unter Leitung von Holger Cynis. Hierzu wurden die zentrifugierten tiefgefrorenen Serumproben zur Bestimmung aufgetaut. Bei der Multiplexanalyse werden Mikropartikel aus Polystyrol (*beads*) genutzt, welche einen Durchmesser von 5,6  $\mu$ m haben. Mit Hilfe dieser können parallel mehrere Analyten gleichzeitig nach dem Grundprinzip eines ELISA Verfahrens mit Hilfe der Sandwichtechnik bestimmt werden. Regionen auf den *beads* unterscheiden sich in Art

und Intensität ihrer intrinsischen Farbstoffe (2 Fluoreszenzfarbstoffe im roten bzw. infrarotem Spektrum in jeweils 10 Konzentrationen). Die *beads* sind in unterschiedlichen Regionen mit verschiedenen Antikörpern besetzt für die Bestimmung der verschiedenen Analyten. An diese Antikörper-gebundenen Analyten wird wiederum Streptavidin-Phycoerythrin gebunden. Die Quantifizierung der gebundenen Analyten erfolgt dann mit einer Durchflusszytometrie. Die roten und infraroten Farbstoffe der *beads*-Regionen und das Streptavidin-Phycoerythrin werden dabei mittels unterschiedlicher Laser zu Lichtemissionen angeregt. Durch Messung mit einem Reporterlaser kann die Region identifiziert und die Probe quantifiziert werden.

Es wurden Mikrotiterplatten mit jeweils 96 Vertiefungen (*wells*) verwendet. Diese haben ein Füllvolumen von jeweils 0,3 ml. Verwendet wurden Bio-Plex Human Cytokine Screening Panels. In die Reihe 1 und 2 der Titerplatte erfolgte die Zugabe der Standards, alle anderen 80 *wells* wurden mit den Proben bestückt. Hierbei wurden von jedem Patienten an jedem Tag jeweils die Werte in 2 *wells* bestimmt und davon der Mittelwert gebildet.

Zunächst wurden die Standardverdünnungsreihen hergestellt. Die Proben und die verdünnten Standardreihen wurden 30–45 min vor der Messung auf Raumtemperatur erwärmt.

570  $\mu$ l *beads* wurden mit 5,13 ml Assay Puffer gemischt und davon jeweils 50  $\mu$ l dieser *beads*-Lösung in jede Vertiefung gegeben. Danach erfolgte ein 2-facher Waschschrift mit jeweils 2x 100  $\mu$ l Puffer pro *well*. Die Probe wurde 1:4 mit *Bio-Plex sample diluent HB* verdünnt. Anschließend wurden jeweils 50  $\mu$ l von der Standardreihe bzw. der Probe in jedes *well* gegeben. Anschließend erfolgte die Inkubation der lichtempfindlichen *beads* für 30 min im Dunkeln bei 850 rpm mit Plattenschüttler. Dann erfolgte ein 3-facher Waschschrift mit 3x 100  $\mu$ l Puffer. 300  $\mu$ l Detektor Antikörper wurden mit 2,7 ml Detektor Antikörper-Lösung gemischt, wovon 25  $\mu$ l in jedes *well* gegeben wurden. Danach erfolgte für 30 min die Inkubation bei 850 rpm im Dunkeln mit Plattenschüttler. Anschließend erfolgte ein erneuter 3-facher Waschschrift mit 3x 100  $\mu$ l Puffer. Nun wurde 60  $\mu$ l Streptavidin-Phycoerythrin mit 5,94 ml Pufferlösung gemischt und davon je 50  $\mu$ l in jedes *well* gegeben. Anschließend wurde die Platte über 10 min bei 850 rpm mit Plattenschüttler im Dunkeln inkubiert. Nun erfolgte ein erneuter 3-facher Waschschrift mit 3x 100  $\mu$ l Puffer. Vor der Messung erfolgte die Füllung der *wells* mit jeweils 125  $\mu$ l Assay Puffer und anschließender Inkubation über 30 sec mit Plattenschüttler. Danach erfolgte die Bestimmung im Bioplex System

Die Überstände wurden in den Zwischenschritten jeweils mit dem Vakuumfilter entfernt; die Waschungen erfolgten zur Entfernung von ungebundenen Partikeln.

Die Quantifizierung der Proben ergab sich nach Berechnung der verdünnten Standardreihen über die Standardkurven. Die Messungen der Werte erfolgten nicht alle am selben Tag, sondern in mehreren Etappen. Alle Zytokin-Bestimmungen erfolgten durch den Kooperationspartner Probiodrug AG, Halle (Saale) unter Leitung von Holger Cynis.

#### **3.3.5 Messung der QC-Aktivität mittels HPLC-Analyse**

Die QC-Aktivität im Serum wurde mittels *high performance liquid chromatography* (HPLC = Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) (Cynis et al., 2006) bestimmt. Dabei wird das zu testende Serum aufgetaut und für 20 min bei 13.000 rpm bei 4°C in einer Tischzentrifuge zentrifugiert. Der Messansatz bestand aus 0,05 µM H-Gln-βNA (Substrat) in 25 mM MOPS-Puffer pH 7, 0.1 mM N-Ethylmaleinimid (NEM) und 50 µl Serum, gelöst in einem Gesamtvolumen von 1 ml. Die Mischung wurde bei 30°C unter konstantem Schütteln bei 300 rpm inkubiert. Zu verschiedenen Zeitpunkten (0,5, 10, 15, 22, 30 und 45 min) nach Reaktionsstart wurden aus dem Hauptansatz Proben entnommen und die Enzymreaktion wurde durch vierminütiges Kochen gestoppt. Danach wurden die Proben bei -20°C bis zu ihrer Weiterverwendung gelagert. Alle HPLC-Messungen wurden unter Nutzung einer RP18 LiChroCART HPLC-Kartusche und dem HPLC-System D-7000 (Merck-Hitachi) durchgeführt. 20 µl der Proben wurden eingespritzt und getrennt durch die Erhöhung der Konzentration von Lösung A (Acetonitril mit 0,1 % TFA=Trifluoressigsäure) von 23 % auf 95 % in Lösung B (H<sub>2</sub>O mit 0,1 % TFA). Die QC-Aktivität wurde anhand einer Standardkurve von pGlu-βNA (Bachem) quantifiziert. Alle QC-Bestimmungen erfolgten durch den Kooperationspartner Probiodrug AG, Halle (Saale) unter Leitung von Holger Cynis.

#### **3.4 Statistische Auswertung**

Die Auswertung erfolgte mittels einer explorativen Datenanalyse in einer deskriptiven Form. Die Erstellung der Grafiken erfolgte getrennt für die einzelnen erhobenen Parameter und unterteilt nach den verschiedenen Behandlungsgruppen. Der zeitliche Verlauf der Restenoseereignisse wurde mittels einer Kaplan-Maier-Analyse dargestellt. Für die Geschlechterverteilung, die Komorbiditäten und die Therapieformen wurden die absoluten und die relativen Häufigkeiten angegeben. Bei der Darstellung der Messwerte sind die Zeitangaben ordinal skaliert, mit Ausnahme der Kaplan-Maier-Darstellung, welche auf Ereigniszeiten beruht.

In den Box-Plots sind die Whisker nach der Methode von Tukey auf das 1,5-fache des Interquartilabstandes (1,5xIQR) beschränkt (Horn et al., 2001). Angegeben sind der Median, das 1. und 3. Quartil, Whisker (Q1-1,5xIQR und Q3+1,5xIQR) sowie Ausreißer. Es gibt keine Unterscheidung zwischen extremen und milden Ausreißern.

Für die Berechnungen und grafischen Darstellungen wurde MS Excel, RStudio und ggplot genutzt.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Demographie des Patientenkollektivs

Unter Berücksichtigung der beschriebenen Ein- und Ausschlusskriterien wurden insgesamt 43 Patienten in die explorative Studie aufgenommen. Für jeden Patienten erfolgten Blutentnahmen über 90 Tage und ein Nachbeobachtungszeitraum von 1100 Tagen zur Frage, ob Restenosen oder vollständigen Wiederverschlüsse auftraten. Von zunächst 25 in die PTA-Gruppe und 18 in die OP-Gruppe eingeschlossenen Patienten beendeten in jeder Gruppe nur jeweils 14 die Studie. Die restlichen Patienten beendeten die Zusammenarbeit vorzeitig. Die intrinsische Motivation der Patienten war dabei generell als problematisch zu beurteilen und es bedurfte einer engen und sehr intensiven Betreuung. Final waren Daten von insgesamt 28 Patienten (je 14 in jeder Gruppe) vollständig auswertbar. Diese teilten sich auf in 23 (82,1 %) männliche und fünf (17,9 %) weibliche Patienten im Alter zwischen 45 bis 81 Jahren, entsprechend einem mittleren Alter von  $59 \pm 9,1$  Jahren. 11 Patienten waren über 60 Jahre alt, zwei Patienten über 75. (Tab. 3)

#### 4.1.1 Risikofaktoren und Komorbidität

Unter den in die Studie eingeschlossenen Patienten fanden sich die folgenden Risikofaktoren und Komorbiditäten:

Tab. 3. Demographische und klinische Patientenmerkmale.

	OP	PTA	Gesamt
<b>Patientenanzahl</b>	14	14	28
<b>männlich</b>	11 (78,6 %)	12 (85,7 %)	23 (82,1 %)
<b>weiblich</b>	3 (21,4 %)	2 (14,3 %)	5 (17,9 %)
<b>Alter in Jahren</b>	$61 \pm 8,2$	$57 \pm 9,7$	$59 \pm 9,1$
<b>BMI</b>	$27,6 \pm 6,2$	$26,2 \pm 3,0$	$26,9 \pm 4,8$
<b>Stadium (a)</b>	IIb: 11/14 (79 %) IIIa: 3/14 (21 %)	IIb: 13/14 (92,9 %) IIIa: 1/14 (7,1 %)	IIb: 24/28 (85,7 %) IIIa: 4/28 (14,3 %)
<b>Diabetes mellitus</b>	2/14 (14 %)	6/14 (43 %)	8/28 (28,6 %)
<b>KHK</b>	2/14 (14 %)	5/14 (36 %)	7/28 (25 %)
<b>Niereninsuffizienz</b>	1/14 (7 %)	0/14 (0 %)	1/28 (3,6 %)
<b>HLP</b>	1/14 (7 %)	5/14 (36 %)	6/28 (21,4 %)
<b>Nikotinabusus</b>	8/14 (57 %)	10/14 (71 %)	18/28 (64 %)

(a) Einteilung der Stadien nach Fontaine, *body mass index* (BMI), Koronare Herzkrankheit (KHK), Operation (OP), perkutane transluminale Angioplastie (PTA), Hyperlipoproteinämie (HLP)

Das durchschnittliche Alter und der BMI zwischen den beiden Gruppen unterschieden sich nur gering und klinisch nicht relevant (Tab. 3). Im Allgemeinen war in der OP-Gruppe das Krankheitsstadium fortgeschrittener, mit drei Patienten im Stadium IIIa nach Fontaine und 11 Patienten im Stadium IIb, wohingegen die PTA-Gruppe bis auf einen Patienten im Stadium IIIa nur Patienten im Stadium IIb enthielt (Tab. 3). Zusätzlich wurden Nebenerkrankungen wie Koronare Herzkrankheit (KHK), Diabetes mellitus, Niereninsuffizienz, HLP und chronischer Nikotinabusus erfasst. Die Zahl der Patienten



mit den Nebenerkrankungen Diabetes mellitus und HLP war in der PTA-Gruppe höher (Tab. 3).

Die OP-Gruppe bestand aus Patienten, welche entweder einen Bypass (femoro-popliteal, femoro-femoral) (64 %) oder nur eine TEA (36 %) erhielten (Tab. 4). In der PTA-Gruppe wurde entweder nur eine PTA (36 %) oder eine PTA mit nachfolgender Stentimplantation (64 %) durchgeführt (Tab. 4).

Tab. 4. Gefäßeingriffe und Restenoserate und Restenosezeitpunkt.

	OP	PTA
<b>Bypass</b>	9/14 (64 %)	-
<b>TEA</b>	5/14 (36 %)	-
<b>PTA</b>	-	5/14 (36 %)
<b>PTA + Stentimplantation</b>	-	9/14 (64 %)
<b>Restenoserate</b>	1/14 (7 %)	8/14 (57 %)
<b>Tage bis zur Restenose/ Wiederverschluss</b>	821	521 ± 359 (Median 430)

OP = Operation, PTA = perkutane transluminale Angioplastie, TEA = Thrombendarteriektomie

#### 4.1.2 Komorbidität im Falle der Restenose

Von den acht Patienten mit Restenose in der PTA-Gruppe hatten 4 Patienten einen diagnostizierten Diabetes mellitus Typ II (50 %), drei hatten eine KHK (37,5 %), vier eine HLP (50 %) und sieben davon waren zu Beginn der Untersuchung Raucher (87,5 %).

In der PTA-Gruppe entwickelten vier von sechs Patienten mit Diabetes mellitus, drei von fünf KHK-Patienten, vier von fünf Patienten mit einer HLP und 7 von 11 Rauchern eine Stenose. Der Patient aus der OP-Gruppe, bei welchem eine Restenose auftrat, wies keine Komorbiditäten auf.

#### 4.2 Verlauf der Entzündungswerte im Serum

Um die beiden Gefäßtherapien hinsichtlich der Induktion von Entzündungsparametern zu charakterisieren, wurden Standardparameter der APR, sowie proinflammatorische Zytokine und Chemokine über einen Zeitraum von 90 Tagen nach Eingriff erfasst. Darunter waren CRP, CCL2, CCL7 und CCL8 als Substrate der QC, welche im nativen Protein einen N-terminalen Pyroglutamat-Rest aufweisen. Zusätzlich wurden Fibrinogen, CCL3, CCL4, CXCL9, IL-6, TNF-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$  ausgewählt, deren Reifung nicht von der Katalyse durch QC abhängt. Im Weiteren waren in einer ersten Messung wenigen Patienten weitere Parameter (IL-10, IL-1 $\alpha$  und IFN- $\gamma$ ) erhoben worden. Diese wurden jedoch nicht weiterverfolgt, da sie unterhalb der Nachweisgrenze für alle Patienten blieben.

##### 4.2.1 Vergleich von CRP, Fibrinogen und BSR zwischen den beiden Gruppen PTA und OP

Ein ausgeprägter Anstieg von CRP wurde in der OP-Gruppe detektiert und als Zeichen für ein ausgeprägtes chirurgisches Trauma bewertet (Abb. 3B). Dies wurde in dieser

## 4 Ergebnisse

Gruppe von erhöhten Fibrinogenspiegeln (Abb. 4B) und beschleunigter BSR (Abb. 5B) (bis sieben Tage postoperativ) begleitet. Im Gegensatz dazu war die Auswirkung der interventionellen PTA auf die Konzentrationen von CRP (Abb. 3A) und Fibrinogen (Abb. 4A) geringer. Auch die BSR beschleunigte sich nur geringfügig postinterventionell (Abb. 5A). Alle drei Parameter (CRP, BSR und Fibrinogen) normalisierten sich bis zum 42. Tag (post-operativ) in beiden Gruppen (Abb. 3, Abb. 4, Abb. 5).

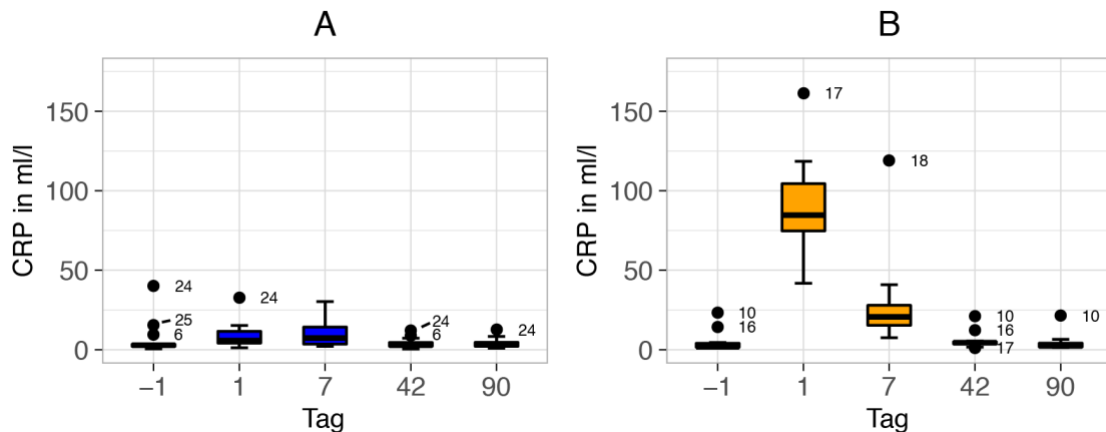


Abb. 3. Die Spiegel des CRP im Vergleich zwischen PTA- und OP-Gruppe.

(A) PTA, (B) OP

Das CRP wurde bei Patienten mit PTA und ggf. Stent oder OP über einen Zeitraum von 90 Tagen ermittelt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. PTA n=14, OP n=14 (Boxplot mit 1,5xIQR)

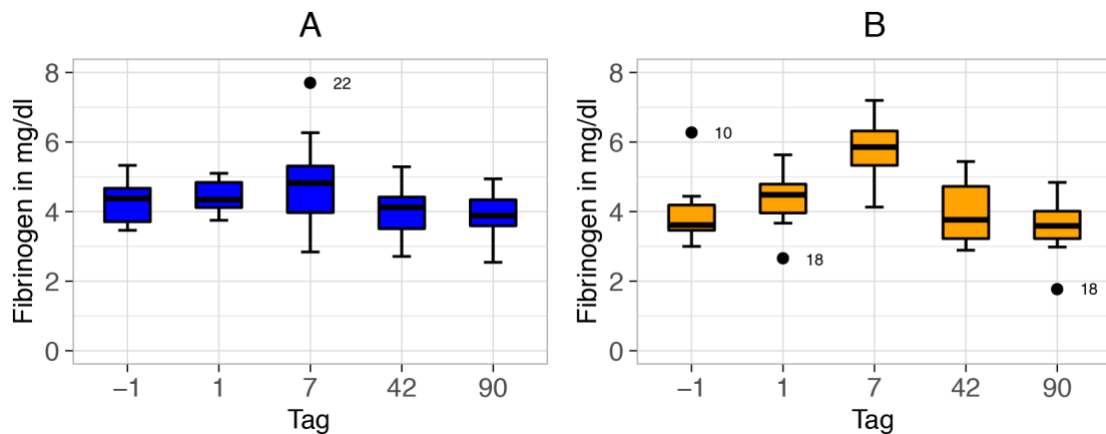


Abb. 4. Die Spiegel von Fibrinogen im Vergleich zwischen PTA- und OP-Gruppe.

(A) PTA, (B) OP

Das Fibrinogen wurde bei Patienten mit PTA oder OP über einen Zeitraum von 90 Tagen ermittelt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. PTA n=14, OP n=14 (Boxplot mit 1,5xIQR)

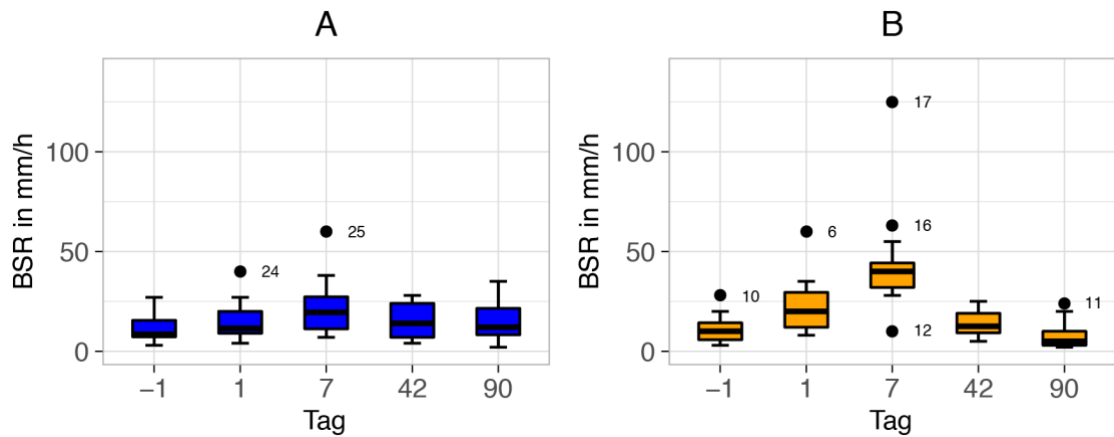


Abb. 5. Der Verlauf der BSR im Vergleich zwischen PTA- und OP-Gruppe.

(A) PTA, (B) OP

Die Blutsenkungsrate wurde bei Patienten mit PTA oder OP über einen Zeitraum von 90 Tagen ermittelt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. PTA n=14, OP n=14 (Boxplot mit 1,5xIQR)

#### 4.2.2 Vergleich der Zytokine zwischen PTA- und OP-Gruppe

Der zeitliche Verlauf der analysierten Zytokine zeigte ein variables Bild.

Die 1. Klasse von Zytokinen zeigte zu Beginn einen Anstieg mit anschließender Normalisierung.

IL-6, welches die CRP-Produktion in der Leber induziert und daher ein Bestandteil der ARP ist, zeigte eine gestiegene Konzentration in beiden Gruppen am 1. Tag und normalisierte sich bis zum 7. Tag. Wie erwartet, zeigte die OP-Gruppe auf Grund des höheren Gefäßtraumas am Gipfel höhere IL-6-Spiegel als die PTA-Gruppe (Abb. 6). Für die Bestimmung von IL-6 lagen nur 12 Proben je Gruppe vor.

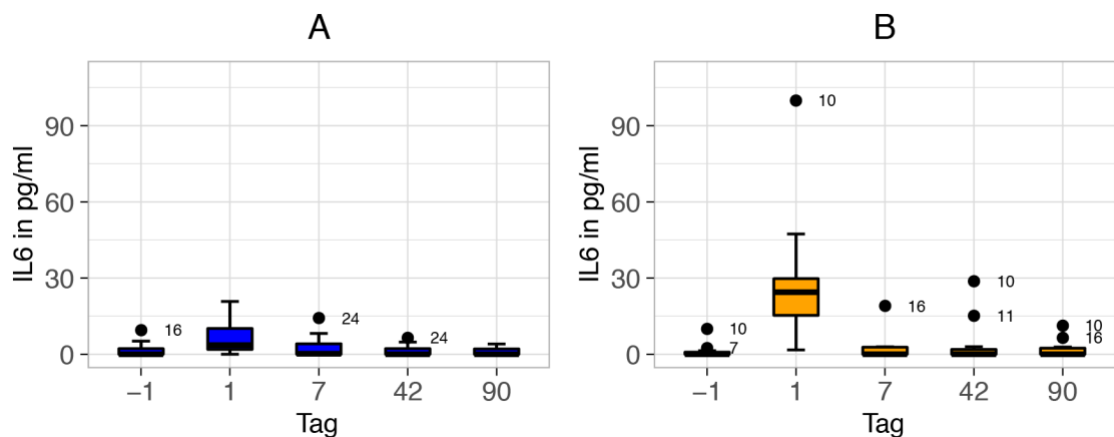


Abb. 6. Die Spiegel von IL 6 im Vergleich zwischen PTA- und OP-Gruppe.

(A) PTA, (B) OP

Für die Analyse des Spiegels von IL-6 im Serum von Patienten nach PTA und OP wurde eine Multiplexanalyse benutzt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. PTA n=12, OP n=12 (Boxplot mit 1,5xIQR)

## 4 Ergebnisse

Die 2. Klasse von Zytokinen zeigte einen Abfall. CCL2 und CCL8 zeigten zu Beginn einen Fall der Serumkonzentration nach PTA und OP mit anschließender Normalisierung auf die Anfangswerte (Abb. 7, Abb. 8). Allerdings zeigte sich hierbei eine hohe Varianz der Werte unklarer Ursache. Zur Bestimmung von CCL2 und CCL 8 lagen nur 12 Proben je Gruppe vor.

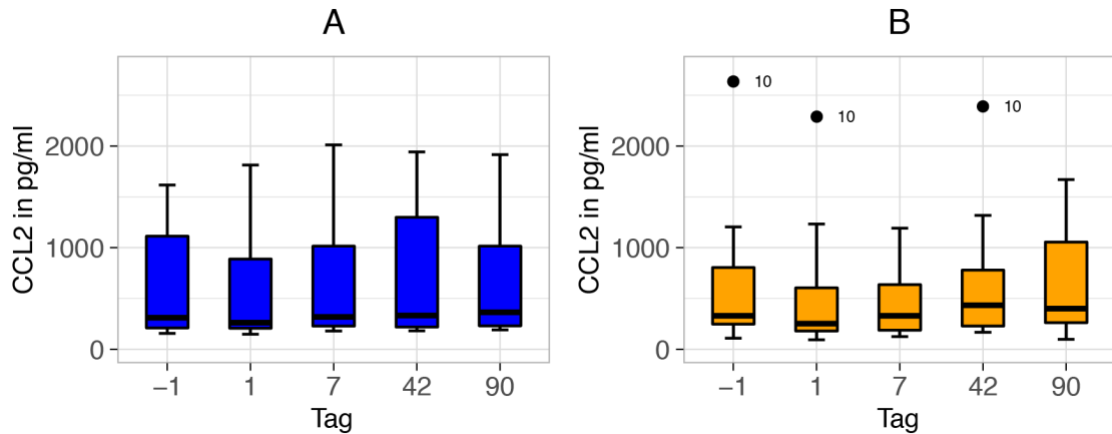


Abb. 7. Die Spiegel von CCL2 im Vergleich zwischen PTA- und OP-Gruppe.

(A) PTA, (B) OP

Für die Analyse des Spiegels von CCL2 im Serum von Patienten nach PTA und OP wurde eine Multiplexanalyse benutzt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. PTA n=12, OP n=12 (Boxplot mit 1,5xIQR)

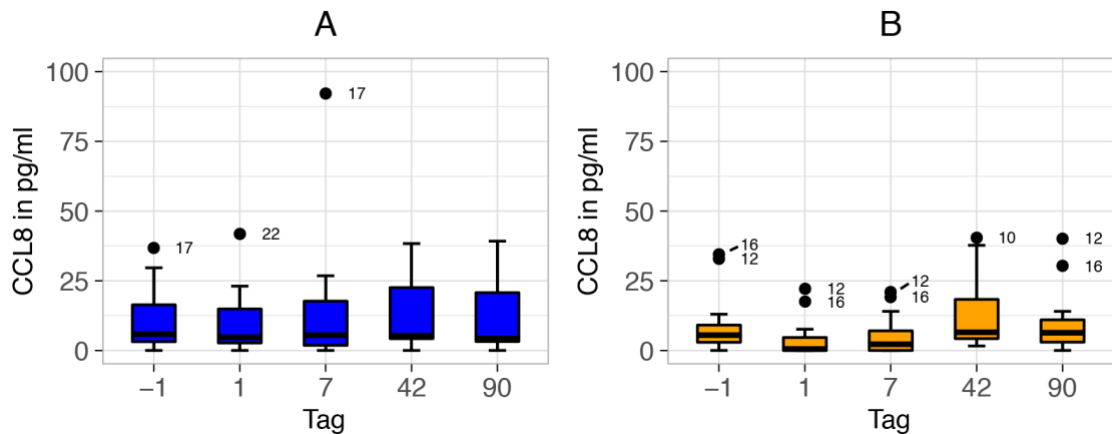


Abb. 8. Die Spiegel von CCL8 im Vergleich zwischen PTA- und OP-Gruppe.

(A) PTA, (B) OP

Für die Analyse des Spiegels von CCL8 im Serum von Patienten nach PTA und OP wurde eine Multiplexanalyse benutzt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. PTA n=12, OP n=12 (Boxplot mit 1,5xIQR)

Die 3. Klasse von Zytokinen zeigte unterschiedliche Reaktionen in beiden Gruppen.

Für CCL3 wurde zu Beginn bei zwei Patienten ein leichter Anstieg in der PTA-Gruppe festgestellt, bei den anderen war keine Änderung zu verzeichnen wohingegen die OP-Gruppe einen anfänglichen Rückgang des CCL3-Spiegels zeigte. In der PTA-Gruppe normalisierte sich der Spiegel bei den zwei Patienten bis zum 90. Tag, in der OP-Gruppe

## 4 Ergebnisse

blieben die Spiegel erhöht (Abb. 9). Zur Bestimmung von CCL3 lagen nur 12 Proben in jeder Gruppe vor.

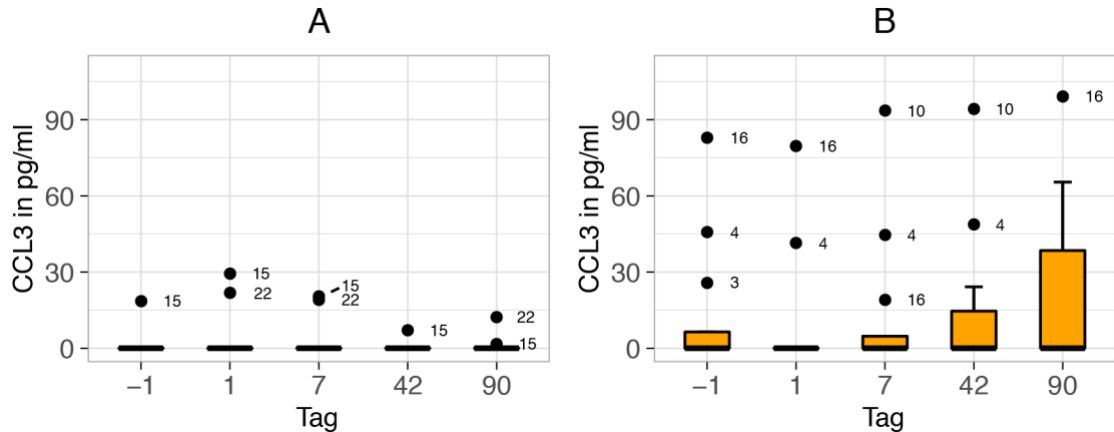


Abb. 9. Die Spiegel von CCL3 im Vergleich zwischen PTA- und OP-Gruppe.

(A) PTA, (B) OP

Für die Analyse des Spiegels von CCL3 im Serum von Patienten nach PTA und OP wurde eine Multiplexanalyse benutzt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. PTA n=12, OP n=12 (Boxplot mit 1,5xIQR)

CCL7 zeigte in beiden Gruppen bei nur wenigen Patienten Veränderungen, wobei diese Veränderungen unterschiedlich waren (Abb. 10).

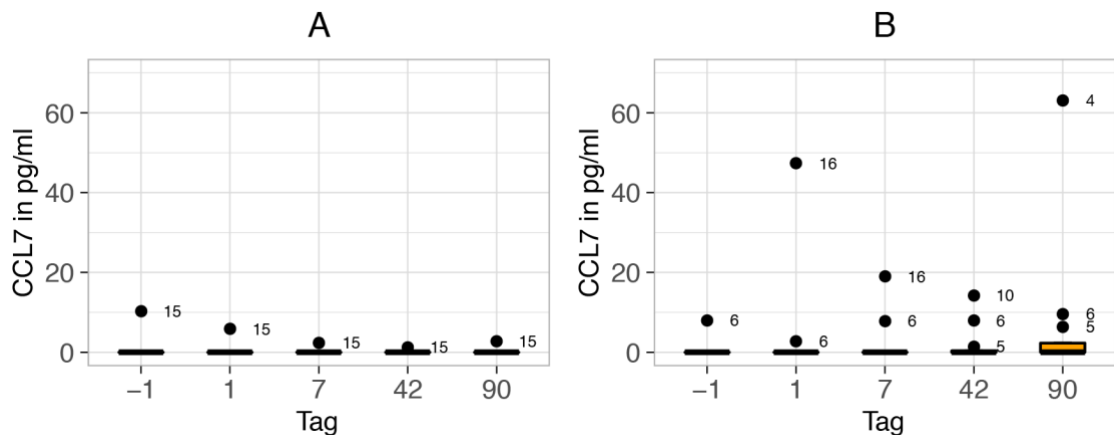


Abb. 10. Die Spiegel von CCL7 im Vergleich zwischen PTA- und OP-Gruppe.

(A) PTA, (B) OP

Für die Analyse des Spiegels von CCL7 im Serum von Patienten nach PTA und OP wurde eine Multiplexanalyse benutzt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. PTA n=12, OP n=12 (Boxplot mit 1,5xIQR)

Bei CCL4 zeigt sich in der PTA-Gruppe ein Anstieg mit anschließender Normalisierung, wobei die Ausgangswerte in der PTA-Gruppe auch höher waren, in der OP-Gruppe dagegen zunächst ein minimaler Abfall mit anschließender Normalisierung (Abb. 11). Für die Bestimmung von CCL4 lagen nur 4 Proben zur Bestimmung in jeder Gruppe vor.

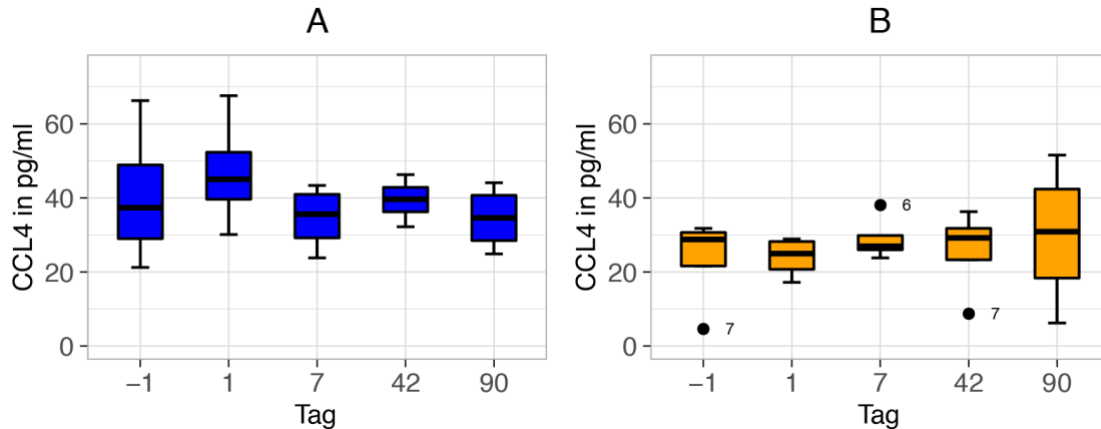


Abb. 11. Die Spiegel von CCL4 im Vergleich zwischen PTA- und OP-Gruppe.

(A) PTA, (B) OP

Für die Analyse der Spiegel von CCL4 im Serum von Patienten nach PTA und OP wurde eine Multiplexanalyse benutzt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. PTA n=4, OP n=4 (Boxplot mit 1,5xIQR)

Bei den Spiegeln von IL-1 $\beta$ , TNF-1 $\alpha$  und CXCL9 waren kaum Änderungen der Konzentration nachzuweisen bzw. blieben bei den meisten Patienten die Werte unter dem nachweisbaren Spiegel für die verwendete Methode, sodass hier keine weiteren Aussagen getroffen werden können.

#### 4.2.3 Vergleich der QC-Aktivität im Serum zwischen den beiden Gruppen PTA und OP

Um den Zusammenhang zwischen der APR, der Hochregulation der Entzündungsparameter und der QC zu untersuchen, wurde die QC-Aktivität im Serum beider Gruppen bestimmt. In der OP-Gruppe und der PTA-Gruppe (Abb. 12) zeigte sich zu Beginn bei den meisten der analysierten Patienten ein Anstieg der individuellen QC-Aktivitäten.

Dabei waren die Veränderungen in der OP-Gruppe breit gestreut; von einem Rückgang um 8–17 % bei zwei Patienten, bis zu einer Erhöhung von 1–148 % bei allen anderen Personen bis zum 7. Tag (Abb. 12). Dasselbe wurde in der PTA-Gruppe beobachtet, wo die QC-Aktivität bei nur fünf Patienten um 3–51 % bis zum 7. Tag abnahm, wohingegen alle anderen Patienten einen Anstieg zwischen 0–187 % zwischen Tag (-1) und +7 zeigten (Abb. 12). In den individuellen Verläufen zeigt sich der Patient PTA 14 mit massiver Erhöhung der Werte von Beginn an (Abb. 12). Ausschlusskriterien waren eine floride oder kürzlich abgelaufene Entzündung. Diesem Patienten wurde kurz vor Aufnahme in die Studie eine tiefe Beinvenenthrombose eines Beines diagnostiziert, jedoch keine Erhöhung der Anzahl von Leukozyten, CRP oder BSR. Die kurz zuvor abgelaufene Thrombose könnte die überschießende Reaktion erklären.

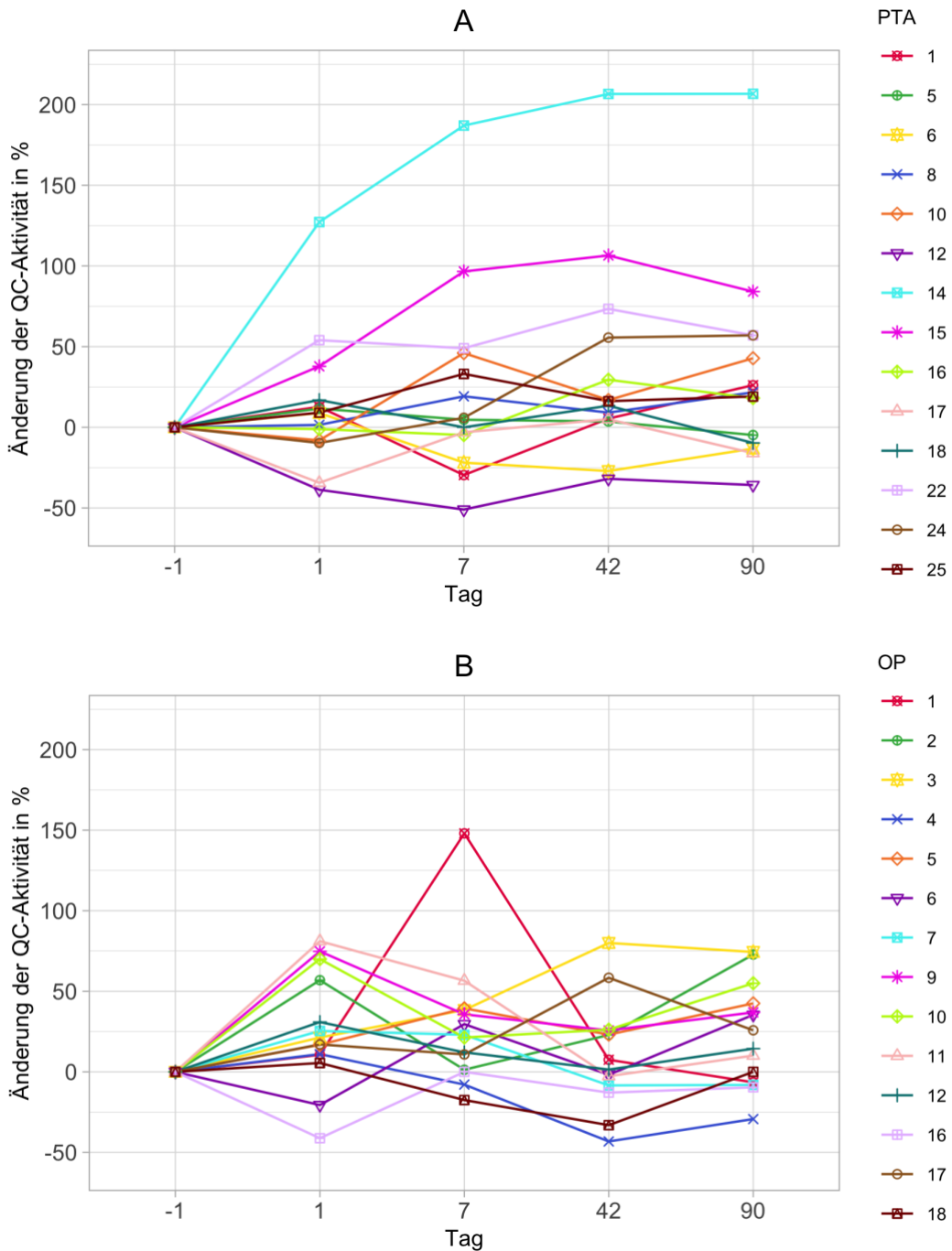


Abb. 12. Individuelle Veränderungen der QC-Aktivität in der PTA-Gruppe (A) und der OP-Gruppe (B), normalisiert auf die QC-Aktivität am Tag vor dem Eingriff. Die QC-Aktivität wurde mittels HPLC-Analyse bestimmt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. n=14 in jeder Gruppe.

Eine Darstellung der QC-Aktivität nach absoluten Werten scheint nicht sinnvoll, wie Abb. 13 zeigt. Vielmehr scheint jeder Patient sein individuelles Ausgangslevel (Abb. 12) zu haben, von dem aus sich die Änderung durch einen bestimmten Reiz vollzieht. Ein Referenzbereich bei Gesunden wurde bisher nicht festgelegt.

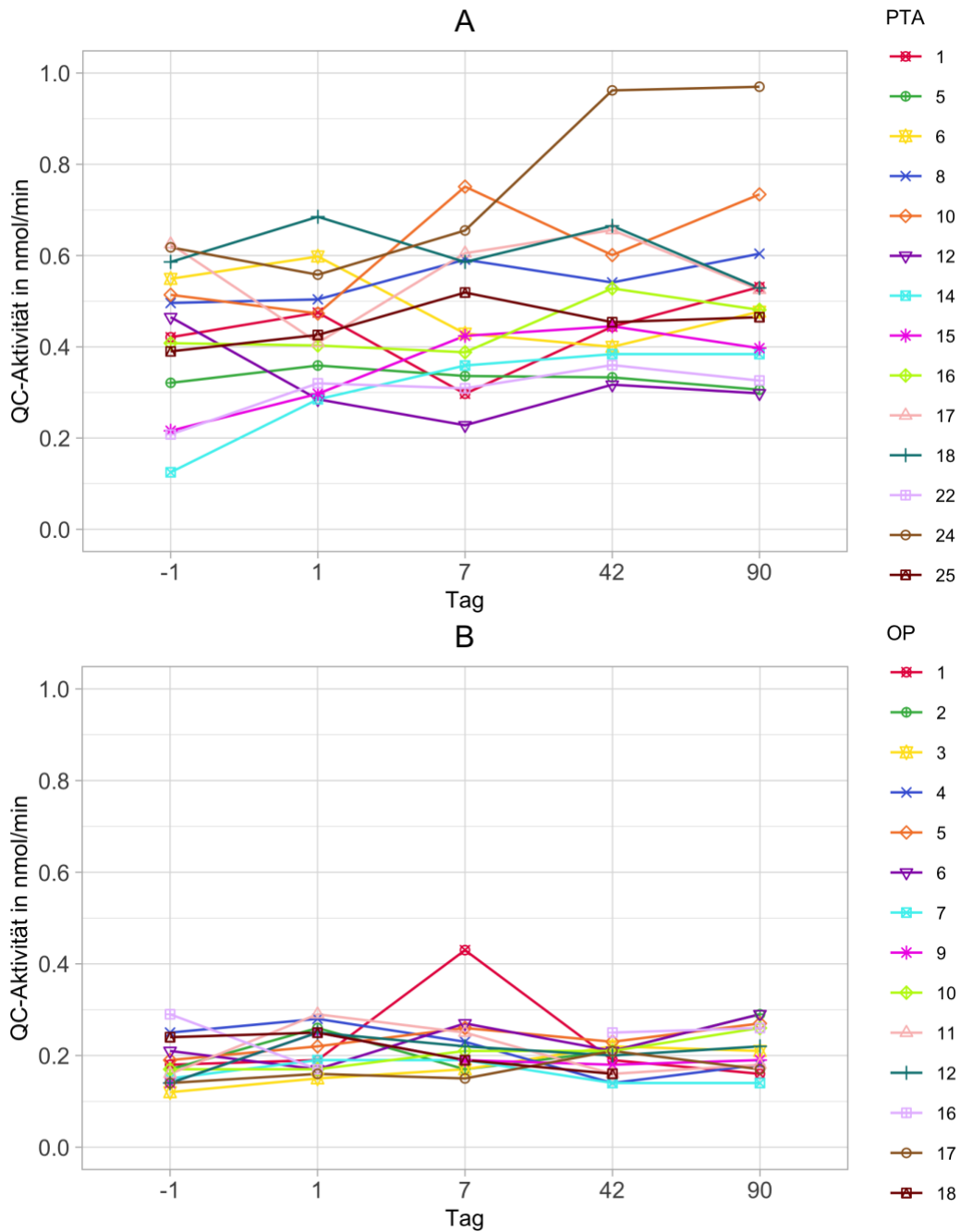


Abb. 13. Absolute Änderung der QC-Aktivität in der PTA-Gruppe (A) und der OP-Gruppe (B).

Die QC-Aktivität wurde mittels HPLC-Analyse bestimmt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. n=14 in jeder Gruppe.

Die Zusammenfassung der einzelnen prozentualen Erhöhung lässt eine Zunahme der QC-Aktivität in beiden Gruppen bereits einen Tag nach dem Eingriff erkennen (13 % für die PTA-Gruppe und 26 % für die OP-Gruppe) (Abb. 14). Darüber hinaus blieb die QC-Aktivität während der Nachkontrollen über lange Zeit erhöht, was eine prozentual gestiegene QC-Aktivität in der OP-Gruppe am 90. Tag post-OP von 22 % und 32 % in der PTA-Gruppe ergab (Abb. 14).



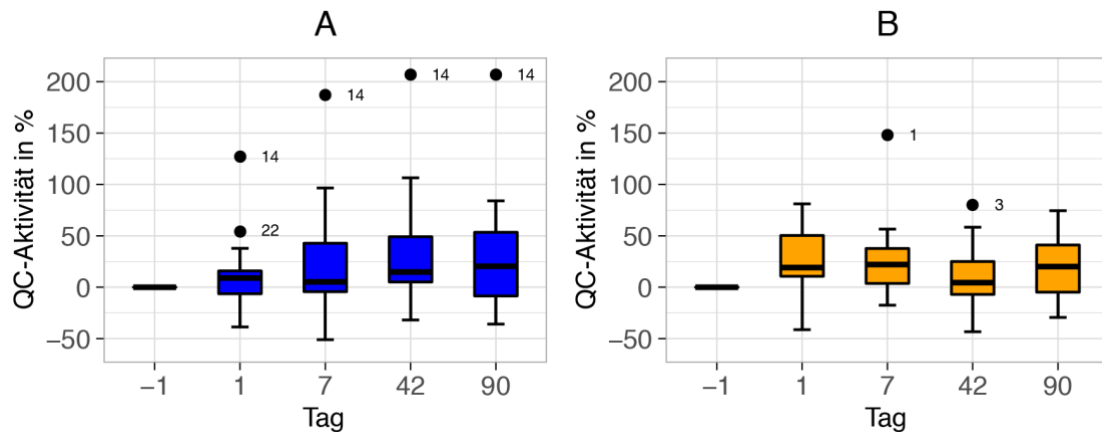


Abb. 14. Veränderung der QC-Aktivität im Vergleich zwischen PTA (A)- und OP (B)-Gruppe.

Die QC-Aktivität wurde mittels HPLC-Analyse bestimmt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. n=14 in jeder Gruppe (Boxplot mit 1,5xIQR)

Scheinbar spielen bei der Erhöhung der QC nicht nur rein entzündliche, sondern auch thrombogene Faktoren eine Rolle, wie sich im Fall des Patienten PTA 14 zeigt (Abb. 14). Die QC-Aktivität im Serum scheint ein Parameter zu sein, der über lange Zeit das gesetzte Trauma am Gefäß anzuzeigen vermag. Es stellt sich der Verdacht, dass die Erhöhung mit den andauernden Umbauprozessen im Gefäß über einen langen Zeitraum einhergeht. Obwohl sich die Parameter der APR und die freigesetzten proinflammatorischen Zytokine zumeist während der 90 Tage normalisierten, blieb die QC für mindestens drei Monate erhöht.

### 4.3 Bestimmung der Restenoseereignisse

#### 4.3.1 Bestimmung der Restenoseereignisse und ihre Beziehung zu CRP, Fibrinogen und BSR

Die CRP-Konzentration zeigt im Rahmen der PTA und PTA mit Stentapplikation bei Patienten die später eine Restenose entwickeln, einen Trend zum Anstieg (Abb. 15).

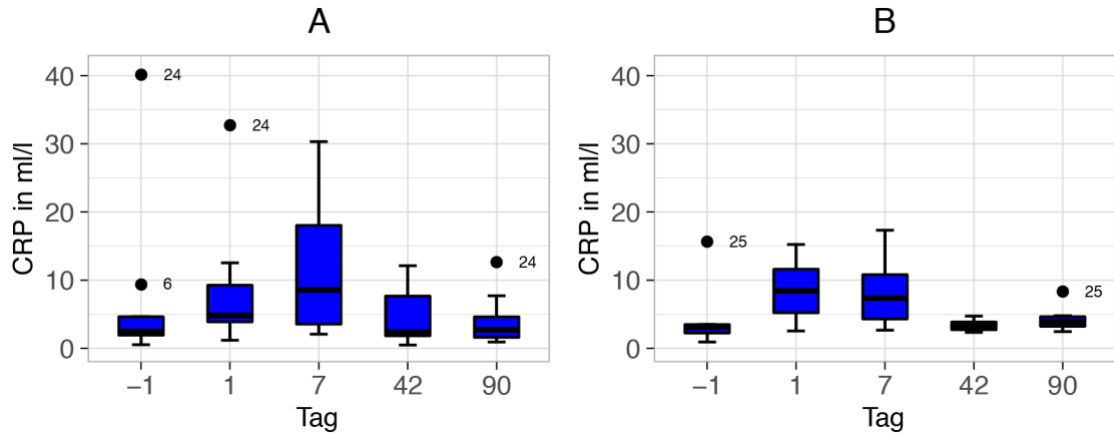


Abb. 15. Die Beziehung zwischen der CRP und Restenosen im Rahmen der PTA/Stent. (A) Patienten mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=8) und eine Gruppe ohne Restenose (n=6) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

Auch im Rahmen der Operation steigt die CRP bei dem Patienten, der später eine Restenose entwickelt, etwas mehr an als bei den Patienten ohne spätere Restenose (Abb. 16), wobei die Stenose bei dem Patienten mehr als 1000 Tage nach der Operation auftrat.

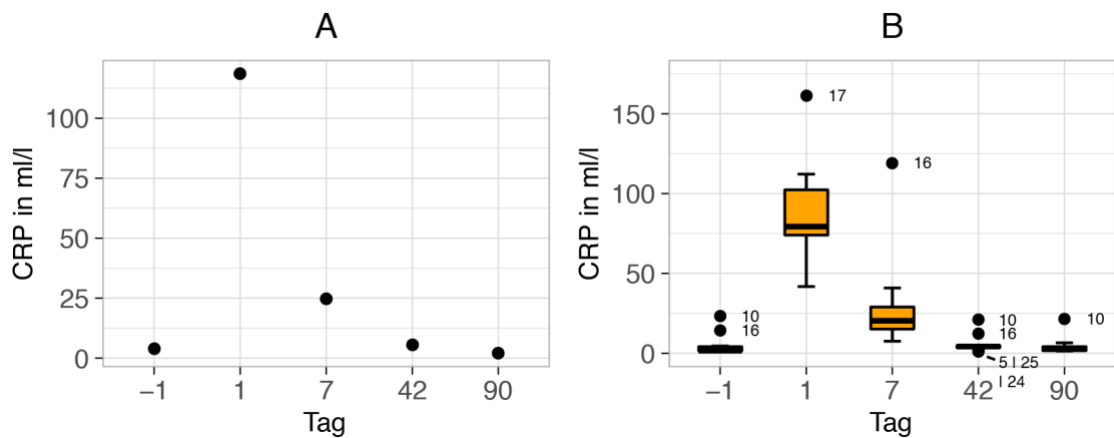


Abb. 16. Die Beziehung zwischen der CRP und Restenosen im Rahmen der OP. (A) Patient mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
Die OP-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=1) und eine Gruppe ohne Restenose (n=13) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR, (A) nur einzelne Datenpunkte)

Die Fibrinogenlevel im Serum im Rahmen der PTA und PTA mit Stent bei Patienten, die später eine Restenose und Patienten, die keine Restenose entwickeln, unterscheiden sich kaum (Abb. 17).

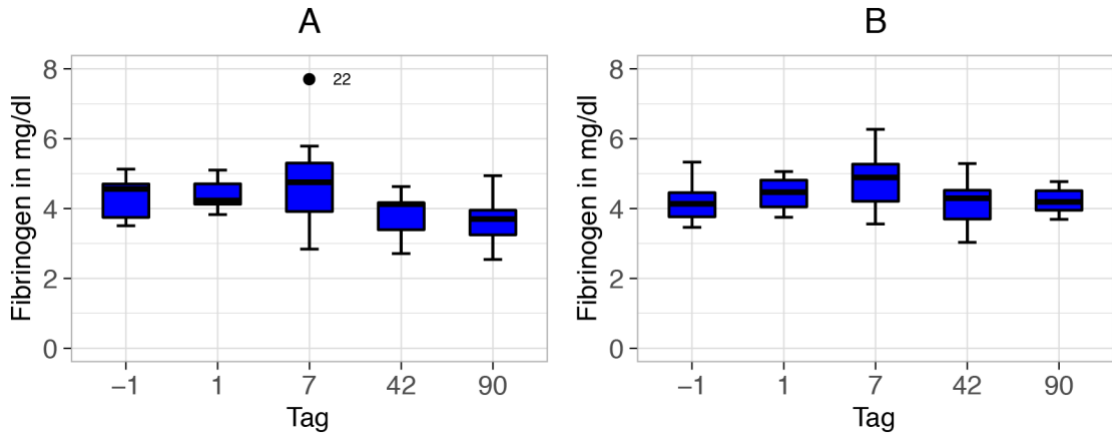


Abb. 17. Die Beziehung zwischen Fibrinogen und Restenosen im Rahmen der PTA/Stent.

(A) Patienten mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose

Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=8) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=6) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

Im Rahmen der Operation steigt der Fibrinogenspiegel bei dem Patienten, der später eine Restenose entwickelt, in gleicher Art an, wie bei den Patienten ohne spätere Restenose. Allerdings bleibt der Fibrinogenlevel bei diesem länger erhöht (bis zum 42. Tag), bis er dann in gleicher Weise wie bei den Nicht-Restenose-Patienten bis zum 90. Tag abfällt (Abb. 18).

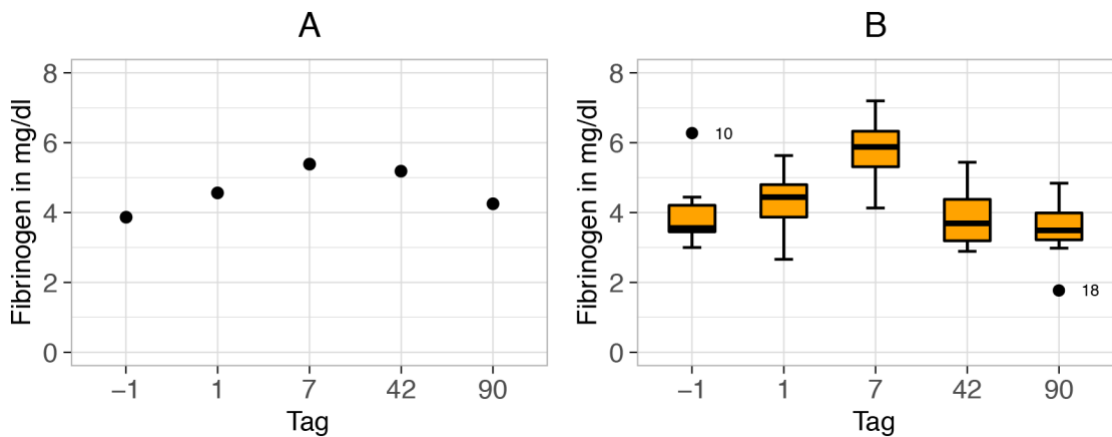


Abb. 18. Die Beziehung zwischen Fibrinogen und Restenosen im Rahmen der OP.

(A) Patient mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose

Die OP-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=1) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=13) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR, (A) nur einzelne Datenpunkte)

Die BSR ist im Rahmen der PTA und PTA mit Stent bei Patienten, die später eine Restenose und Patienten, die keine Restenose entwickeln, erhöht, bei Patienten ohne spätere Restenose sogar etwas mehr (Abb. 19).

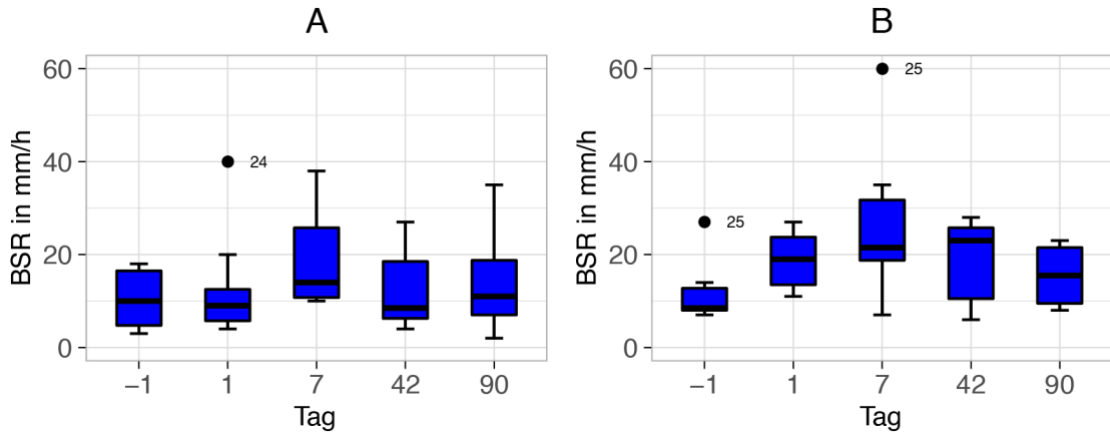


Abb. 19. Die Beziehung zwischen BSR und Restenosen im Rahmen der PTA/Stent. (A) Patienten mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=8) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=6) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

Die BSR steigt im Rahmen der Operation bei dem Patienten, der später eine Restenose entwickelt, in gleicher Art an wie bei den Patienten ohne spätere Restenose. Die BSR ist bei den Patienten ohne spätere Restenose im Verlauf am Gipfel sogar etwas höher (Abb. 20).

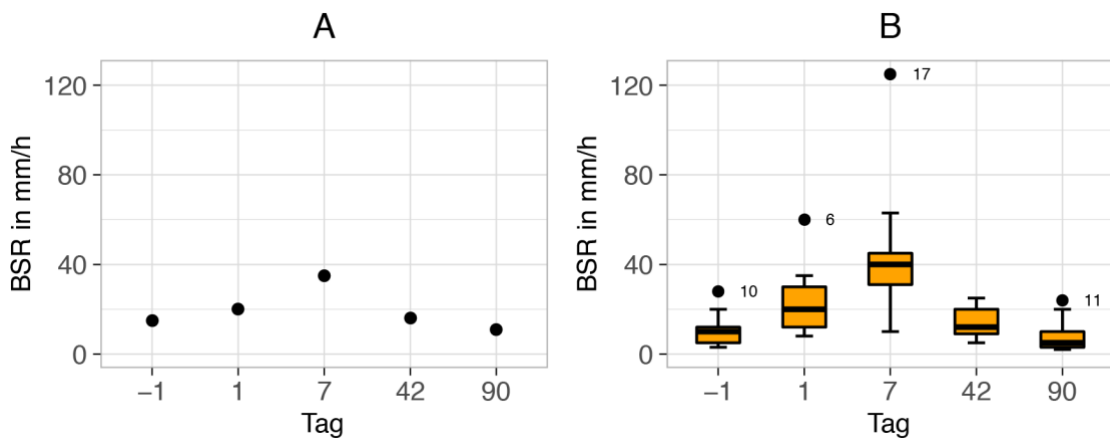


Abb. 20. Die Beziehung zwischen BSR und Restenosen im Rahmen der OP bei Patienten. (A) Patient mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
Die OP-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=1) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=13) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR, (A) nur einzelne Datenpunkte)

#### 4.3.2 Bestimmung der Restenoseereignisse und ihrer Korrelation zum Spiegel von Zytokinen

Der IL-6-Spiegel steigt im Rahmen der PTA und PTA mit Stent bei Patienten, die später eine Restenose bekommen, mehr als bei Patienten, die keine Restenose entwickeln

(Abb. 21). Für die Bestimmung von IL-6 waren in der PTA- und OP-Gruppe nur 12 Patienten verfügbar.

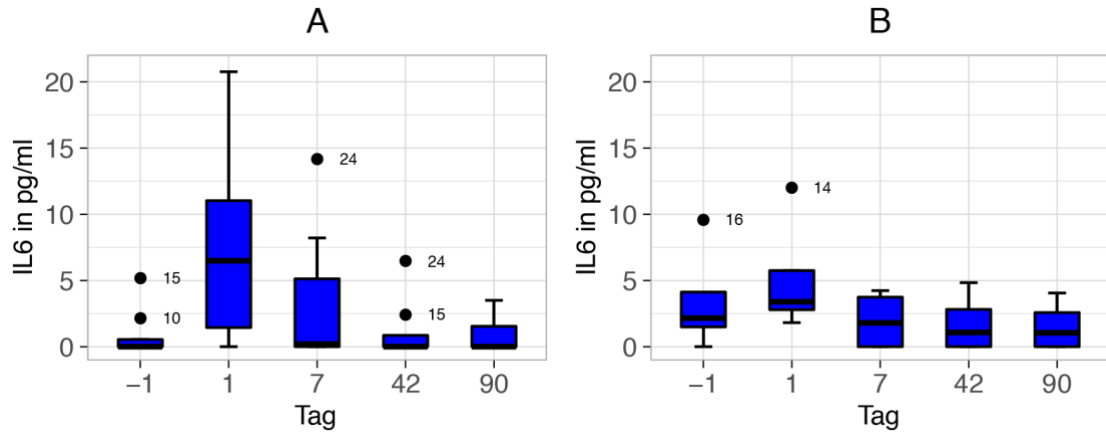


Abb. 21. Die Beziehung zwischen IL-6 und Restenosen im Rahmen der PTA/Stent.

(A) Patienten mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose

Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=8) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=4) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

IL-6 steigt im Rahmen der Operation bei dem Patienten, der später eine Restenose entwickelt in gleicher Art an, wie bei den Patienten ohne spätere Restenose. IL-6 ist bei den Patienten ohne spätere Restenose sogar anfangs etwas höher (Abb. 22).

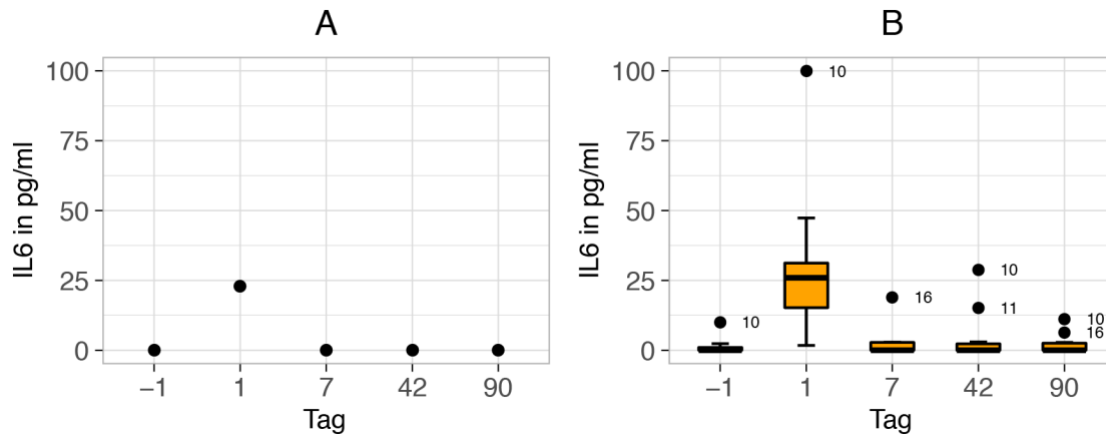


Abb. 22. Die Beziehung zwischen IL-6 und Restenosen im Rahmen der OP.

(A) Patient mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose

Die OP-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=1) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=11) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR, (A) nur einzelne Datenpunkte)

Der CCL2-Spiegel bleibt im Rahmen der PTA und PTA mit Stent bei Patienten, die später eine Restenose entwickeln, zunächst unverändert und steigt dann leicht an. Bei Patienten, die später keine Restenose entwickeln, sinkt er anfänglich nach PTA und PTA mit Stent ab, steigt dann leicht an, bevor er sich wieder normalisiert (Abb. 23). Für die

Bestimmung von CCL2 standen in der PTA- und OP-Gruppe nur 12 Patienten zur Verfügung.

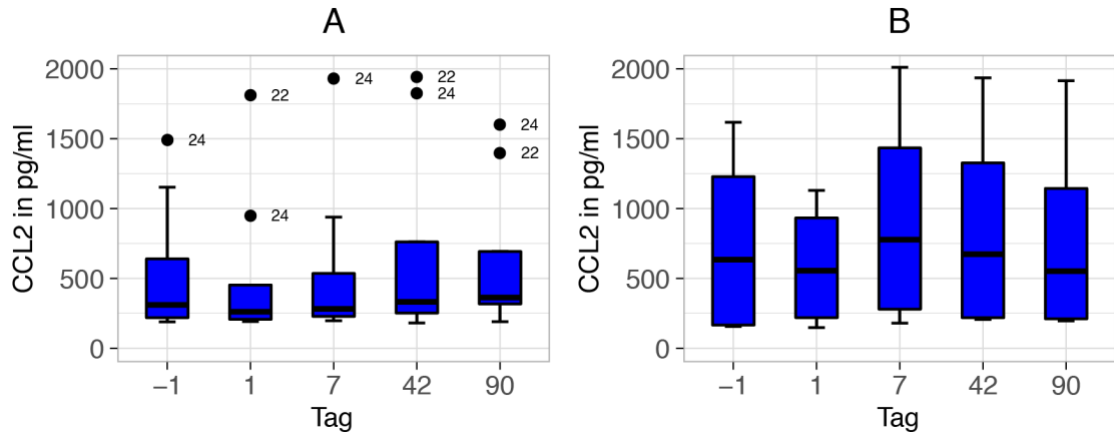


Abb. 23. Die Beziehung zwischen CCL2 und Restenosen im Rahmen der PTA/Stent.

(A) Patienten mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose

Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=8) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=4) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

Der CCL2-Spiegel bleibt im Rahmen der Operation bei dem Patienten, der später eine Restenose entwickelt, zunächst gleich, bevor er etwas absinkt. Bei Patienten ohne spätere Restenose sinkt der Wert zunächst ab, bevor sich der Spiegel von CCL2 normalisiert (Abb. 24).

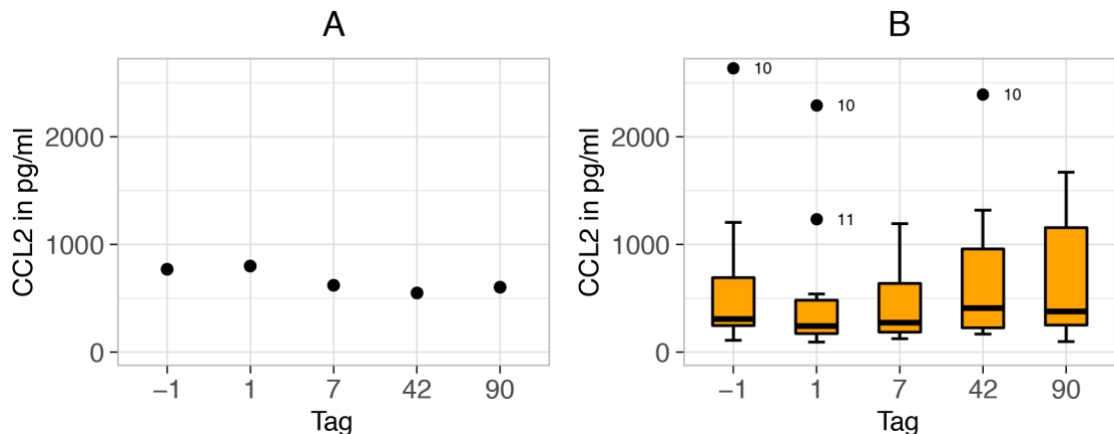


Abb. 24. Die Beziehung zwischen CCL2 und Restenosen im Rahmen der OP.

(A) Patient mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose

Die OP-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=1) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=11) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR, (A) nur einzelne Datenpunkte)

Der CCL3-Spiegel steigt nur bei Patienten mit nachfolgender Restenose nach PTA und PTA mit Stentimplantation an. Bei Patienten ohne spätere Restenose blieb er während des gesamten Verlaufes unter der Nachweisgrenze (Abb. 25). Für die Bestimmung von CCL 3 standen in der PTA- und OP-Gruppe nur 12 Patienten zur Verfügung.

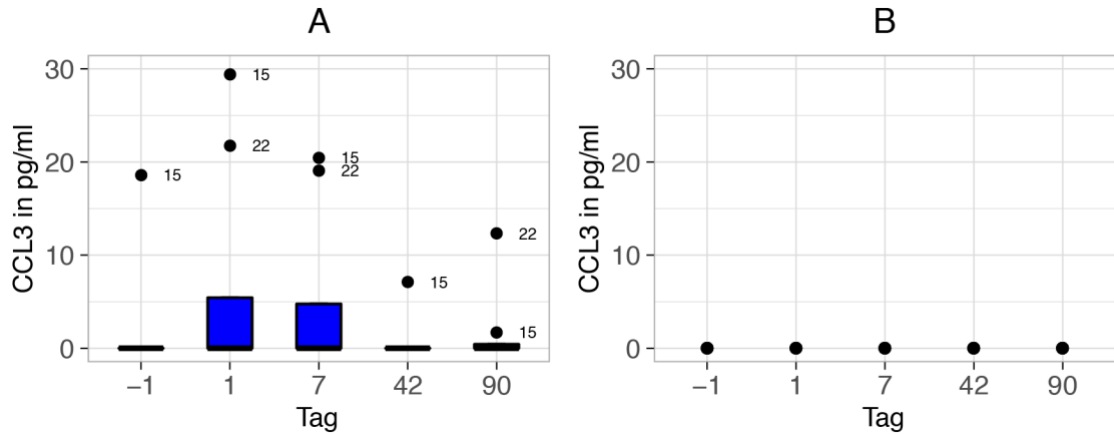


Abb. 25. Die Beziehung zwischen CCL3 und Restenosen im Rahmen der PTA/Stent. (A) Patienten mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=8) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=4) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

Der CCL3-Spiegel fiel sowohl bei dem Patienten mit späterer Restenose nach OP zunächst ab und normalisierte sich dann wieder. Bei OP-Patienten ohne spätere Restenose fiel der Wert anfangs ab und war zum Ende hin aber noch deutlich erhöht (Abb. 26).

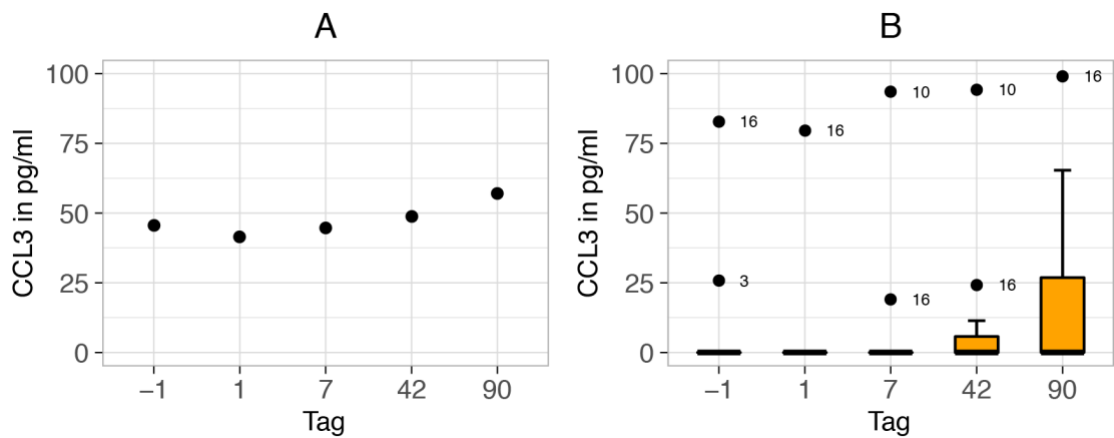


Abb. 26. Die Beziehung zwischen CCL3 und Restenosen im Rahmen der OP. (A) Patient mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
Die OP-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=1) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=11) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR, (A) nur einzelne Datenpunkte)

Der CCL4 fiel bei Patienten nach PTA/Stent mit späterer Restenose ab. Bei Patienten ohne spätere Restenose stieg der Spiegel geringfügig zu Beginn, um sich dann zu normalisieren (Abb. 27). Zur Bestimmung von CCL4 wurden in jeder Gruppe nur die Proben von 4 Patienten genutzt.

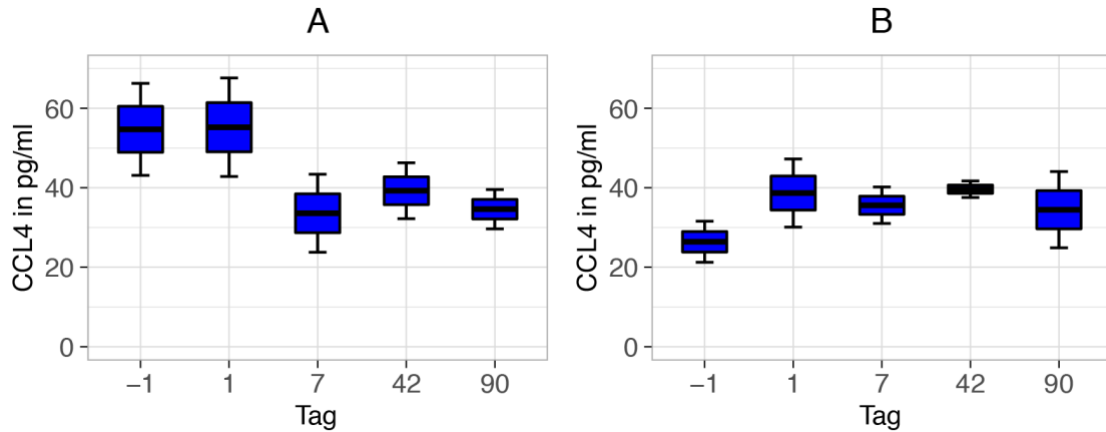


Abb. 27. Die Beziehung zwischen CCL4 und Restenosen im Rahmen der PTA/Stent. (A) Patienten mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=2) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=2) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

Die Bestimmung von CCL4 konnte aus technischen Gründen nicht bei allen Patienten erfolgen und schloss den OP-Patienten, der später eine Restenose entwickelte, nicht mit ein, sodass kein Vergleich in der OP-Gruppe erfolgen konnte.

Der CCL7-Spiegel änderte sich bei Patienten mit und ohne spätere Restenose nach PTA kaum (Abb. 28). Für die Bestimmung von CCL7 standen nur je 12 Patienten in der OP- und PTA-Gruppe zur Verfügung.

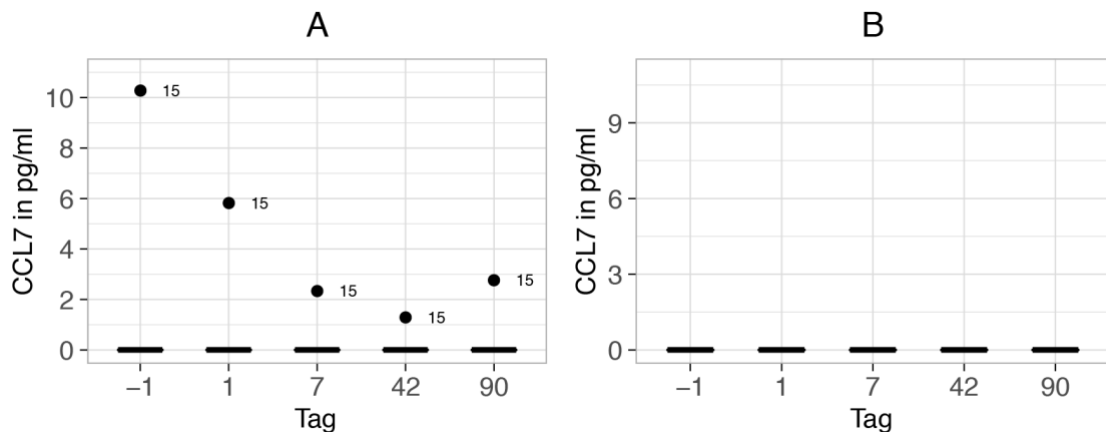


Abb. 28. Die Beziehung zwischen CCL7 und Restenosen im Rahmen der PTA/Stent. (A) Patienten mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=8) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=4) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

Auch bei Patienten nach OP ohne späterer Restenose änderte sich der CCL7-Spiegel kaum. Bei dem Patienten mit späterer Restenose kam es zu einem späten Anstieg des Spiegels nach dem 42. Tag (Abb. 29).



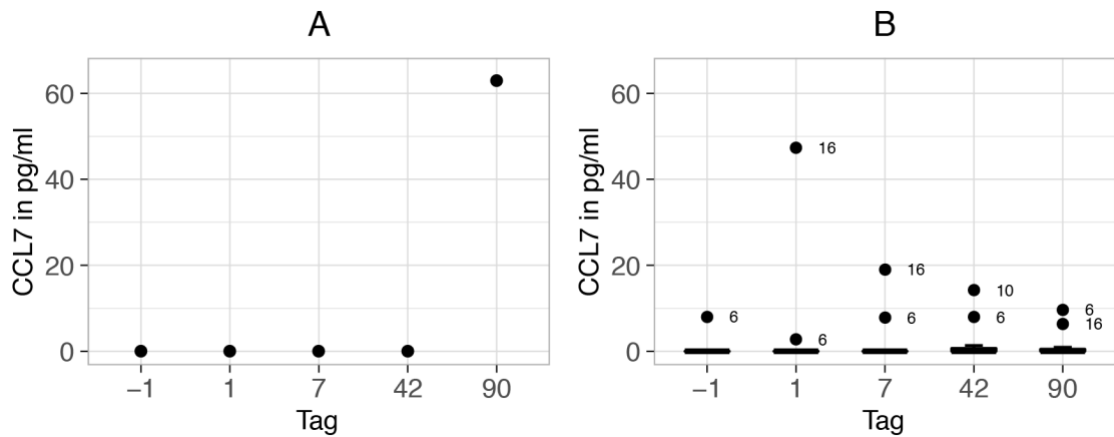


Abb. 29. Die Beziehung zwischen CCL7 und Restenosen im Rahmen der OP.  
 (A) Patient mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
 Die OP-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=1) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=11) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR, (A) nur einzelne Datenpunkte)

Auch der CCL8-Spiegel änderte sich bei Patienten mit späterer Restenose nach PTA kaum. Bei Patienten ohne spätere Restenose stieg er am 7. Tag geringfügig an, um sich danach zu normalisieren (Abb. 30). Für die Bestimmung von CCL8 standen pro Gruppe nur 12 Patienten zur Verfügung.

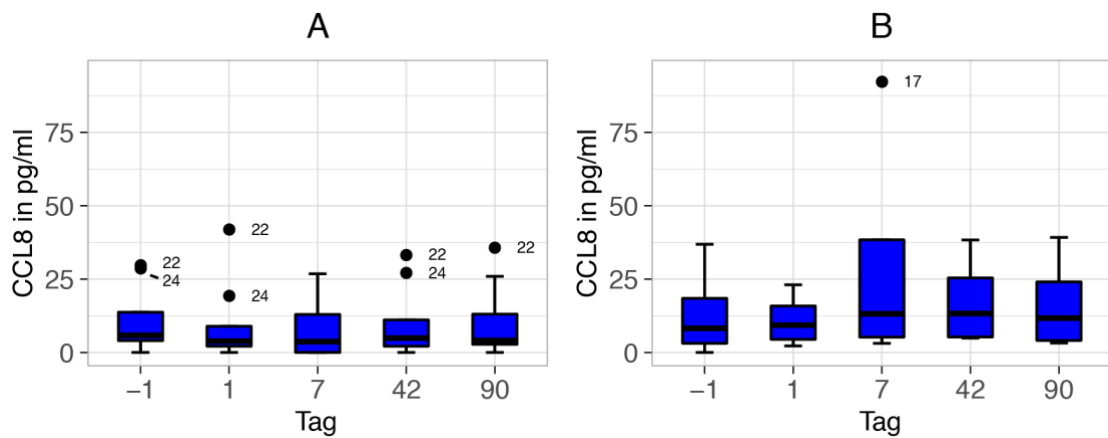


Abb. 30. Die Beziehung zwischen CCL8 und Restenosen im Rahmen der PTA/Stent.  
 (A) Patienten mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
 Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=8) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=4) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

Der CCL8-Spiegel änderte sich bei dem Patienten mit späterer Restenose postoperativ kaum. Bei den Patienten ohne spätere Restenose fiel der Spiegel zunächst ab, normalisierte sich danach jedoch (Abb. 31).

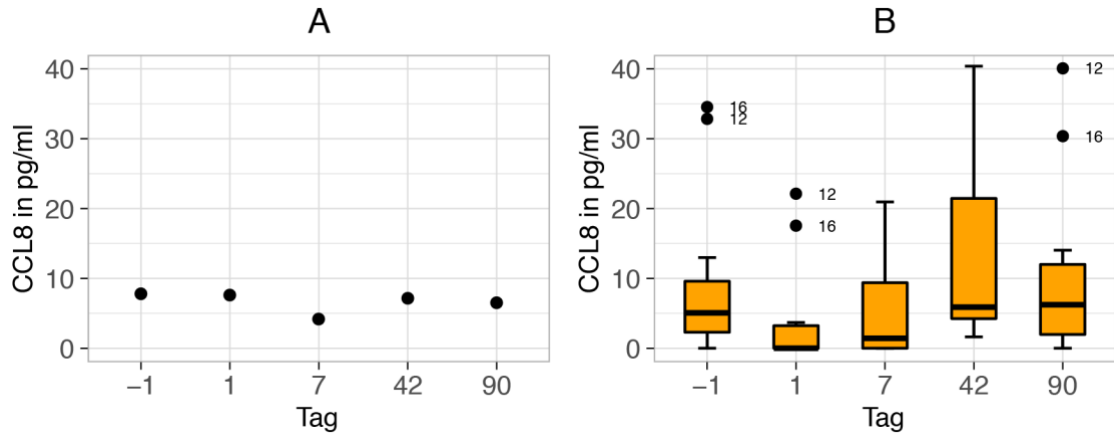


Abb. 31. Die Beziehung zwischen CCL8 und Restenosen der OP-Gruppe.

(A) Patient mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose

Die OP-Patienten wurden in eine Gruppe mit (n=1) und eine Gruppe ohne spätere Stenose (n=11) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR, (A) nur einzelne Datenpunkte)

#### 4.3.3 Bestimmung der Restenoseereignisse und ihrer Korrelation zur Serum-QC-Aktivität

Da die QC-Aktivität über den recht langen Zeitraum von 90 Tagen im Blutkreislauf erhöht war, wurde ein Zusammenhang der Serum-QC-Aktivität mit dem Auftreten einer späteren Restenose postuliert. Darum wurde die kombinierte prozentuale Zunahme der QC-Aktivität über den Zeitraum von 90 Tagen in eine Patientengruppe ohne und in eine Gruppe mit einer späteren Restenose eingeteilt.

In der Gruppe der PTA-Patienten mit nachfolgender Stenose innerhalb von 1100 Tagen zeigt sich eine persistierende Erhöhung der QC-Aktivität (Abb. 32A). In der Gruppe der PTA-Patienten ohne nachfolgende Stenose zeigt sich innerhalb von 1100 Tagen zunächst ein stetiger Anstieg der QC-Aktivität im Serum bis zum 42. Tag und eine anschließende Normalisierung bis zum 90. Tag (Abb. 32B).

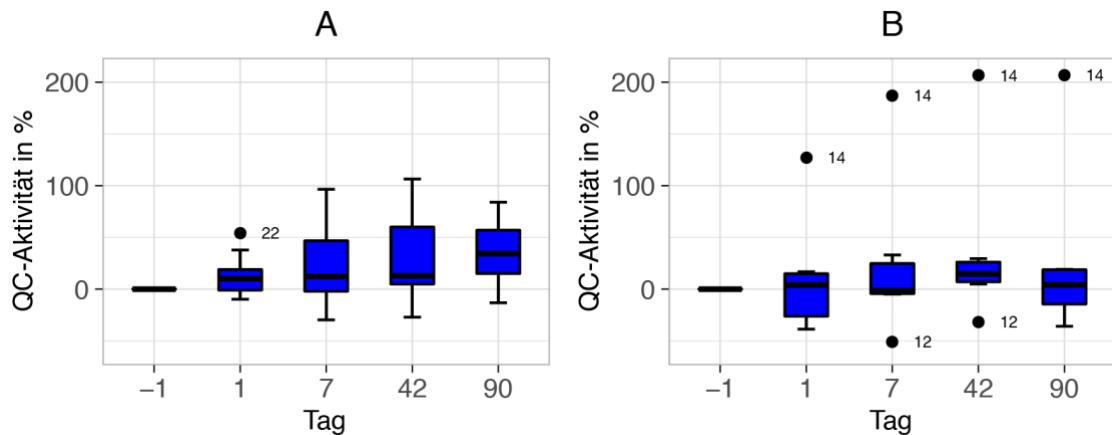


Abb. 32. Die Beziehung zwischen der QC-Aktivität und Restenosen in der PTA-Gruppe. (A) Patienten mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe mit Anzeichen einer Restenose bis zu einem Zeitraum von 1100 Tagen (n=8) und eine Gruppe ohne Auftreten einer Restenose (n=6) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

Bildet man den Mittelwert und die Standardabweichung der PTA ohne Restenose nach 90 Tagen ( $-4,86\% \pm 21,01\%$ ), liegt der Wert von Patient PTA 14 nach 90 Tagen (206,74%) ca. das 9- bis 10-fache der Standardabweichung oberhalb der anderen Werte. PTA 14 ist ein Patient, der keine nachfolgende Stenose entwickelte und einen Stent erhielt. Er hatte vor der Intervention eine Thrombose der *Vena femoralis communis*. Dieser Patient ist als Ausreißer zu erkennen.

Bei Patienten, welche keine Restenose aufwiesen, war die QC-Aktivität am Tag +7, +42 und +90 nahe des individuellen Ausgangslevels (Abb. 32B). Im Gegensatz dazu stieg die QC-Aktivität bei den wegen eines Restenoseereignisses wieder vorstelligen Patienten während des Untersuchungszeitraumes stetig an (Abb. 32A). Das zeigt folglich für die QC-Aktivität nach PTA einen deutlichen prädiktiven Wert. Interessanterweise war die Aktivität bis zum 90.Tag erhöht, sodass nicht klar ist, weil nicht untersucht, ab wann der Wert bei Patienten mit Restenose wieder sinken würde.

In der OP-Gruppe zeigte der Patient mit nachfolgender Stenose zunächst einen Anstieg am 1. Tag und danach einen Abfall der QC-Aktivität unter den Ausgangswert bis zum 42. Tag (Abb. 33).

Bei den Patienten, bei denen nach Operation keine Restenoseereignisse auftraten, kam es zum Anstieg der QC-Aktivität bis zum 7. Tag, einem Abfall bis zum 42. Tag und einem anschließenden Wiederanstieg bis zum 90. Tag (Abb. 33).

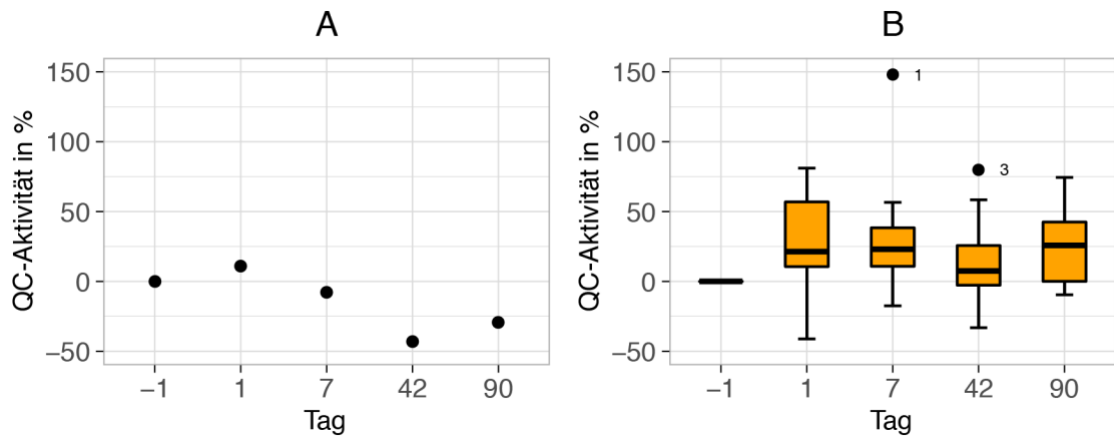


Abb. 33. Die Beziehung zwischen der QC-Aktivität und Restenose in der OP-Gruppe. (A) Patient mit Restenose, (B) Patienten ohne Restenose  
Die OP-Patienten wurden in eine Gruppe mit Anzeichen einer Restenose bis zu einem Zeitraum von 1100 Tagen (n=1) und eine Gruppe ohne Auftreten einer Restenose (n=13) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

In der Subgruppe der Patienten, die nur eine PTA erhielten (n=5), zeigte sich ein leichter Anstieg der QC-Aktivität. Bei Patienten mit PTA und Stentimplantation (n=9) zeigte sich eine etwas ausgeprägtere Erhöhung der QC-Aktivität bis zum 90. Tag (Abb. 34).

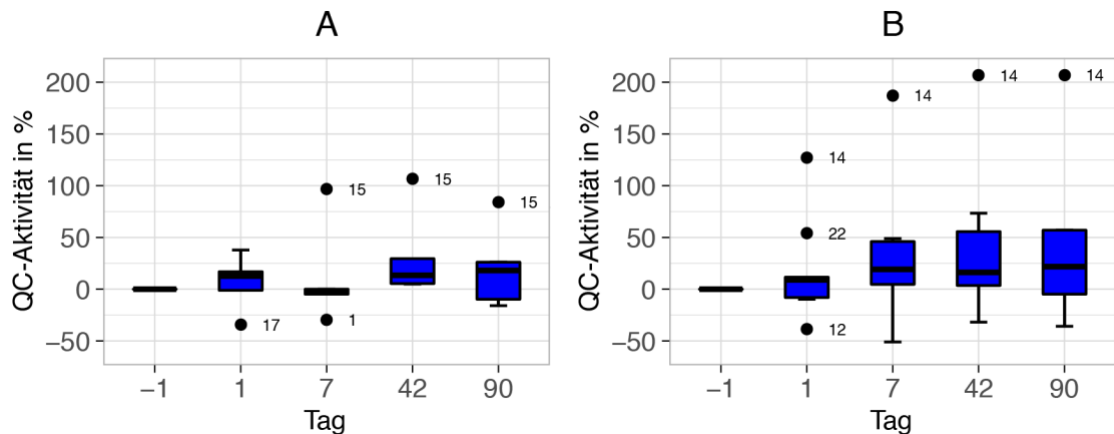


Abb. 34. Die Beziehung zwischen der QC-Aktivität und Stentung in der PTA-Gruppe. (A) Patienten mit PTA ohne Stent, (B) Patienten mit PTA und Stent  
Die PTA-Patienten wurden in eine Gruppe ohne Stentung (n=5) und eine Gruppe mit Stentung (n=9) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

Hier schien zunächst der Reiz des Stents doch zusätzlich zum Reiz, den die PTA auf das Gefäß ausübt, hinzuzukommen.

In der Subgruppe der Patienten, die einen Bypass erhielten (n=9), zeigte sich ein Anstieg der QC-Aktivität bis zum 7. Tag und danach abfallende Werte bis zum 42. Tag. Danach zeigte sich ein erneuter Anstieg bis zum 90. Tag, wobei die Werte am 90. Tag

noch über den Werten vor dem Eingriff lagen. Bei den Patienten, die nur eine TEA erhielten (n=5), zeigte sich eine geringere Erhöhung der QC-Aktivität bis zum 90. Tag (Abb. 35). Hier scheint der größere Reiz, der bei der Bypassanlage gesetzt wird, zum Tragen zu kommen.

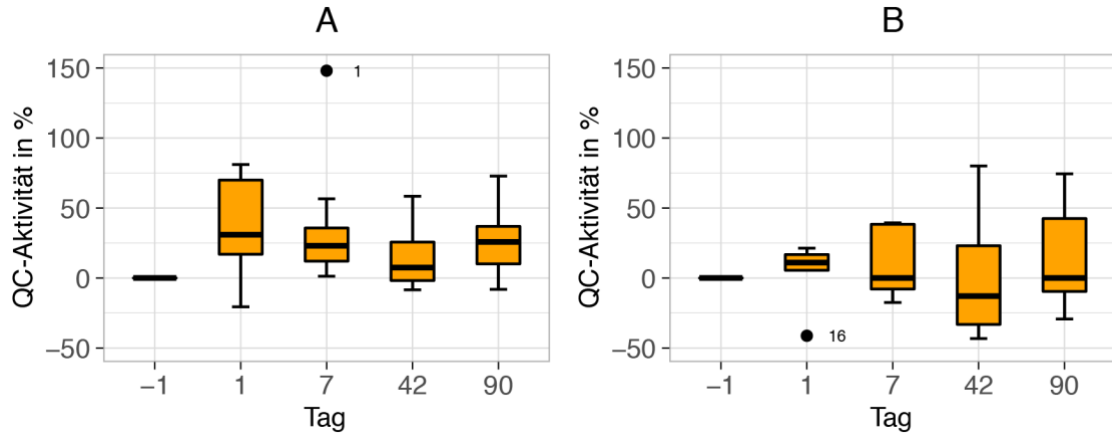


Abb. 35. Die Beziehung zwischen der QC-Aktivität und Bypass oder TEA in der OP-Gruppe.

(A) Patienten mit Bypassimplantation, (B) Patienten mit TEA

Die OP-Patienten wurden in eine Gruppe mit Bypassimplantation (n=9) und mit Durchführung nur einer TEA (n=5) unterteilt. Die Zeitpunkte umfassen den Tag vor dem Eingriff (-1), den Tag nach dem Eingriff (+1) und fortlaufende Proben an den Tagen +7, +42 und +90. (Boxplot mit 1,5xIQR)

#### 4.3.4 Zeitverlauf der Restenoseereignisse in der PTA-Gruppe

Gefäßeingriffe haben das Risiko der Restenose im betroffenen Gefäßsegment. Daher zeichneten wir die Zeitspanne bis zum Wiedereintreten einer Restenose oder eines Wiederverschlusses der Studienpatienten auf. In der OP-Gruppe wurde nur einer von 14 Patienten (7 %) mit einer Restenose verzeichnet, und das erst 821 Tage nach dem Ersteingriff. Im Gegensatz dazu wurden acht von 14 PTA-Patienten (57 %) nach 521 Tagen (Mittelwert) wegen Stenosen oder Verschlüssen im therapierten Gefäßsegment auffällig (Tab. 4, Abb. 36).

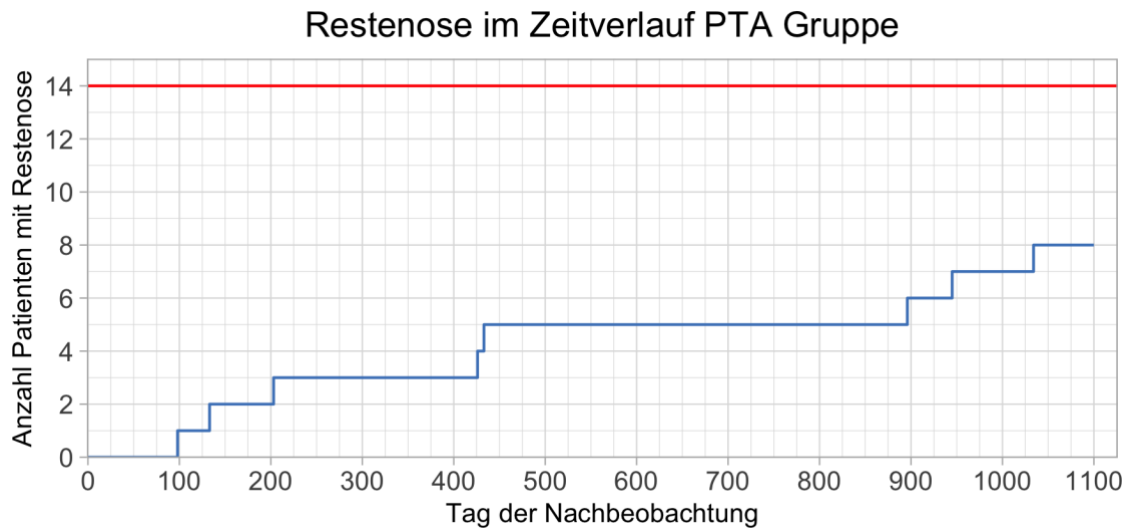


Abb. 36. Die Restenosen im zeitlichen Verlauf in der PTA-Gruppe (n=14). Die individuelle Nachbeobachtung erfolgte über 1100 Tage hinsichtlich der Frage des Auftretens einer Restenose.

Es wurde eine Nachbeobachtungszeit von 3 Jahren (1100 Tage) gewählt, wobei man zwischen frühen Stenosen innerhalb eines Jahres und späteren Stenosen unterscheiden muss. Eine Trennung der Patienten bei diesen geringen Zahlen machte keinen Sinn, müsste aber in einer Folgestudie beachtet werden.

### 5 Diskussion

#### 5.1 Demographie

In der vorliegenden Erhebung waren im Stadium IIb und III nach Fontaine 82,1 % männliche und 17,9 % weibliche Patienten. In der deutschen Gesamtpopulation im Krankenhaus wegen PAVK behandelter Patienten im Stadium IIb und III stehen dazu im Vergleich im Jahr 2007 65,4 % männliche Patienten und 34,6 % weibliche Patienten im Jahr 2007 (Malyar et al., 2013). Aufgrund der kleinen Patientenzahl bildet die Altersverteilung die Gesamtpopulation nur unzureichend ab.

In der vorliegenden Datenlage waren 11 Patienten über 60 Jahre alt (39,3 %) und nur zwei Patienten über 75 Jahre (7,1 %), im Vergleich dazu bei allen wegen einer PAVK hospitalisierten Patienten 2007 mit PAVK St IIb und III 83,3 % über 60 Jahre und 37,6 % über 75 Jahre (Malyar et al., 2013). Das deutlich jüngere Patientengut begründet sich in der vorliegenden Erhebung daraus, dass vor allem ältere Patienten nicht dazu bereit waren, an der Studie teilzunehmen, da es notwendig war, nach dem stationären Aufenthalt mehrere ambulante Wiedervorstellungstermine wahrzunehmen.

Die Motivation der Patienten war ein stetiges Problem. Die sehr schwierige Patienten Klientel war unzuverlässig und nur mit viel Zuspruch zu motivieren, die Termine nach dem stationären Aufenthalt wahrzunehmen. Bei den OP-Patienten erfolgten die Blutentnahmen am Tag vor der OP (-1), am Tag nach der OP (+1) und am 7. Tag in aller Regel im Krankenhaus, sodass danach nur noch zwei Termine zur Wiedervorstellung nötig waren. Bei den PTA-Patienten erfolgten dagegen in aller Regel nur die ersten beiden Blutentnahmen im Krankenhaus, da nach der PTA nur ein kurzer stationärer Aufenthalt notwendig ist. Folglich mussten diese Patienten zu drei weiteren Vorstellungen motiviert werden. Dies ist eine mögliche Erklärung für die höhere Abbruchrate in der PTA-Gruppe. Von 25 rekrutierten Patienten in der PTA-Gruppe brachen 11 Patienten die Studie vorzeitig ab, während in der OP-Gruppe nur vier von 18 rekrutierten Patienten die Studie abbrachen.

#### 5.2 Risikofaktoren und Komorbidität

Bei den vorliegenden Patienten hatten 28,6 % der Patienten einen Diabetes mellitus. Diese Zahl ist vergleichbar mit der Gesamtpopulation von 29,1 % (Malyar et al., 2013) bei PAVK Patienten mit Stadium IIb und III nach Fontaine. Die vorliegende Zahl an Patienten mit einer KHK war dagegen etwas geringer mit 25 % im Vergleich zu 35,7 % in der Gesamtpopulation von Patienten im Stadium IIb und III nach Fontaine (Malyar et al., 2013). Die vorliegende Zahl an Patienten mit Niereninsuffizienz war mit 3,6 % deutlich geringer im Vergleich zu 20,7 % (Malyar et al., 2013), was sich sicher daraus erklärt, dass gerade diese Patienten durch ihre dreimal wöchentliche Dialyse keine Zustimmung über eine Teilnahme an einer Studie gegeben haben.

In den vorliegenden Daten zeigten sich 21,4 % Patienten mit einer Fettstoffwechselstörung, im Vergleich dazu gab die getABI Studie (Diehm et al., 2004) mit 47,2 % über das Doppelte an. Die Zahl der Raucher war mit 21,4 %, im vorliegenden Patientengut, zu 15,9 % in der getABI Studie (Diehm et al., 2004) vergleichbar.

2007 erfolgten in deutschen Krankenhäusern 66 212 (69 %) reine PTA der Becken- und Oberschenkeletage und 29 215 (31 %) PTA mit Stentimplantation im Bereich der Becken- und Oberschenkeletage (Eckstein et al., 2014), wohingegen in der vorliegenden Erhebung 36 % reine PTA der Becken- und Oberschenkeletage und 64 % PTA mit Stentimplantation im Bereich der Becken und Oberschenkeletage erfolgten. 2007 erfolgten in deutschen Krankenhäusern 12 551 (31 %) supragenuale Bypässe und 27 331 (69 %) Thrombendarteriektomien der AFC und APF (Eckstein et al., 2014), wohingegen in den vorliegenden Daten 64 % supragenuale Bypässe und 36 % TEA der *Arteria femoralis communis* und *Arteria profunda femoris* erfolgten. Die Verteilung der vorliegenden Eingriffe zeigt also ein deutlich anderes Bild als die Verteilung der Eingriffe im Gebiet der Bundesrepublik zum gleichen Zeitpunkt. Damit spiegelt die vorliegende kleine Datenerhebung die Gesamtpopulation nicht adäquat wider. Vermutlich ist die Zahl der Patienten zu klein, um eine ähnliche Verteilung abzubilden.

Die Daten der Framingham Studie zeigten, dass 20 % der PAVK-Patienten Diabetiker sind (Murabito et al., 1997). Das vorliegende Patientengut zeigte einen Prozentsatz an Diabetikern mit 28,6 %. Bei 62 % der Patienten mit relevanter PAVK besteht eine KHK (Cho et al., 2015). In den Daten der Framingham Studie zeigten sich 34 % der Patienten mit KHK (Murabito et al., 1997). In der vorliegenden Erhebung betrug die Komorbidität an KHK dagegen nur 25 % insgesamt. 11 % aller wegen einer PAVK Stadium IIb und III nach Fontaine in Deutschland hospitalisierten Patienten zeigten 2009 eine chronische Niereninsuffizienz (alle Stadien) (Lüders et al., 2017). In der vorliegenden Untersuchung zeigten sich allerdings nur 3,6 % der Patienten in diesen Stadien mit einer Niereninsuffizienz. Eine Ursache der geringeren Anzahl an niereninsuffizienten Patienten könnte sein, dass Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz keine Zusage gegeben haben, da sie durch die dreimal wöchentliche Dialyse schon zeitlich gebunden waren und für Wiedervorstellungstermine keine Zeit gehabt hätten. 671 Patienten mit PAVK in einer Studie in Deutschland zeigten in 75,5 % eine HLP und in 45 % aktiven Nikotinabusus (Kröger et al., 2010). Dagegen bestand in der vorliegenden Untersuchung bei 21,4 % eine HLP und bei 64 % aktiver Nikotinabusus. Die Hyperlipoproteinämiegrenzen waren aber in der Vergleichsstudie niedriger gewählt als in der vorliegenden Erhebung, was vermutlich zu den höheren Werten führt. Die Zahl an aktiven Rauchern war fast vergleichbar. Unter Umständen ist das relativ junge Kollektiv eine Erklärung für die etwas höhere Anzahl.



Die Risikofaktoren für Arteriosklerose erhöhen auch das Risiko für eine Restenosierung nach PTA, Stent und Operation. Bei der Durchführung einer Thrombendarteriektomie und auch bei relevanter Arteriosklerose im angestrebten Anastomosenbereich bei einer Bypassimplantation wird der Plaque in der Media (Adventitia nahe) ausgeschält. Dadurch fehlt danach aber auch das Endothel und der Körper reagiert auf die Verletzung („*response to injury*“). Im Gegensatz hierzu verbleibt bei PTA und Stent der Plaque mit dem Endothel im Gefäß, wird aber durch die Dehnung verletzt. Bereits 1984 wurde die Restenosierung nach Koronarangioplastie bei Diabetikern aufgezeigt (Holmes et al., 1984). Im Rahmen des Berichtes der *National Heart, Lung, and Blood Institute Angioplasty Registry* zeigten 47 % der Diabetiker, aber nur 32 % der Nichtdiabetiker, eine Restenose nach Koronarangioplastie (Holmes et al., 1984). Im Bereich der *Arteria poplitea* zeigt sich nach Intervention bei Diabetikern eine schlechtere Offenheitsrate (Laxdal et al., 2004). Auch in der vorliegenden Untersuchung zeigt sich die Restenoserate bei Diabetikern erhöht. Bei 4 (67 %) von 6 Diabetikern in der PTA-Gruppe kam es zur Restenose, aber nur bei 4 (50 %) von 8 Nichtdiabetikern. HLP und Nikotinabusus führen ebenso zu erhöhter Restenosierungsrate, zum Beispiel nach Carotisendarteriektomie (Hudorovic et al., 2010). Auch in der vorliegenden Studie entwickelten immerhin 80 % der Patienten mit HLP und 64 % der Raucher eine Restenose.

### 5.3 Entzündungsmarker im Serum

Die CRP steigt nach PTA und nach Stentimplantation an (Schillinger et al., 2002a). Dies konnte in geringem Maße auch in der vorliegenden Untersuchung nachgewiesen werden (Abb. 3A) Auch im Rahmen von kardiovaskulären Operationen kommt es zum deutlichen postoperativen Anstieg der CRP, z. B. bei koronarer Bypassimplantation (Aouifi et al., 1999). Dies ist auch in den eigenen Ergebnissen nach operativem Eingriff zu sehen (Abb. 3B). Das Fibrinogen steigt im Rahmen von PTA und Stentimplantation an (Schillinger et al., 2002b). Dies war auch in der vorliegenden Erhebung in geringem Maße zu sehen (Abb. 4A).

Ebenso kommt es nach Operationen zum Fibrinogenanstieg, welcher nach Gefäßoperation ausgeprägt sein kann (Blessing et al., 2003). Es kommt nach Bypassoperation durch die operationsbedingte Endothelläsion zu einer prokoagulatorischen Aktivierung mit überschießender Fibrinogenproduktion (Blessing et al., 2003). Auch in der vorliegenden Datenerhebung sah man erhöhte postoperative Fibrinogenspiegel, aber nur in gering höherem Maße als nach Intervention (Abb. 4B).

Die BSR zeigt nach Koronarvenenbypassen einen deutlichen Anstieg (Weber et al., 2001). Auch in der vorliegenden Erhebung zeigte sich nach Operation ein Anstieg der BSR (Abb. 5B). Nur ein geringer Anstieg war nach Intervention zu verzeichnen (Abb.

5A). Ursächlich für den deutlicheren Anstieg der BSR nach Operation, im Vergleich zur Intervention, ist vermutlich der höhere Entzündungsreiz und das größere Trauma nach einer Operation im Vergleich zu einer Intervention.

Ein Zusammenhang zwischen den höheren Spiegeln von CRP, Fibrinogen und BSR und dem größeren Trauma für das Gefäß im Rahmen einer Operation im Vergleich zur Intervention (PTA) ist anzunehmen.

4–12 h nach Operationen an der Aorta zeigt sich der Gipfel des Anstiegs von IL 6 mit  $> 100$  pg/ml bei Patienten ohne nachfolgende Infektion (Baigrie et al., 1992). In der vorliegenden Arbeit zeigten sich die IL-6-Spiegel in der Operationsgruppe am Gipfel geringer (Abb. 6B), entweder da die Blutentnahmen im Vergleich später, erst am 1. postoperativen Tag (12–24 h nach Operation) erfolgten, oder da die Eingriffe nur an der *Arteria femoralis*, bzw. *Arteria poplitea* erfolgten und nicht an der Aorta. Die Höhe des IL-6 Anstieges ist auch von der Dauer der Operation abhängig (Shenkin et al., 1989). IL-6 steigt nach verschiedenen Eingriffen unterschiedlich stark an (Gefäßoperation  $>$  abdomineller Eingriff  $>$  orthopädische Operation) (Spies et al., 2002). Die Höhe des IL-6-Spiegels ist auch abhängig vom Ausmaß der Gewebeschädigung (Cruickshank et al., 1990). Ebenso ist IL-6 nach offener Aneurysmaversorgung (Aneurysma = Schlagaderausweitung) deutlich mehr erhöht als nach endovaskulärer Versorgung (Ødegård et al., 2000). Dies könnte erklären, warum in den vorliegenden Daten die Spiegel nach PTA geringer waren als nach Operation (Abb. 6).

Ein operatives Trauma führt zum Anstieg von CCL2. So wurde bei Ratten nach Laparotomie ein signifikant erhöhter CCL2-Spiegel nachgewiesen (Kotzampassi et al., 2009). Nach Implantation eines Venenbypasses bei Ratten kommt es zur Hochregulierung von CCL2 und nachfolgender Ausbildung von Intimahyperplasie (Stark et al., 1997). Nach PTCA kommt es zur Erhöhung des CCL2-Spiegels (Cipollone et al., 2001). In der vorliegenden Untersuchung kam es zu Beginn dagegen zu einem CCL2-Abfall, sowohl nach OP als auch PTA/Stent, mit anschließender Normalisierung der Werte (Abb. 8).

Im Rahmen von Transplantationen kommt es zur Erhöhung von CCL3, CCL4 und CXCL9 (Shimizu and Mitchell, 2003, 2008). Beteiligung am Transplantatversagen im Sinne einer transplantatassoziierten Arteriosklerose wurde in diesem Rahmen bereits nachgewiesen (Shimizu and Mitchell, 2003, 2008). In den vorliegenden Daten war das Ergebnis dagegen in den Gruppen PTA und OP unterschiedlich hinsichtlich der CCL3-Spiegel. In der PTA-Gruppe gab es bei 2 Patienten einen leichten Anstieg des CCL3, in der OP-Gruppe zu Beginn einen Abfall und später einen Anstieg (Abb. 9).

BOADA zeigte nach aortokoronarer Venenbypassoperation (ACVB) einen zügigen Anstieg in den ersten 5 Stunden von CCL4 und einen anschließenden raschen Abfall

(Boada, 2014). In den vorliegenden Daten sieht man zwar anfänglich einen Anstieg der CCL4 Werte nach PTA, aber dagegen einen minimalen Abfall nach Operation (Abb. 8).

CCL7 spielt eine entscheidende Rolle in der Entwicklung der Arteriosklerose und Restenosierung. Bei Ratten kommt es nach Carotis Angioplastie zum Anstieg des CCL7 (Wang et al., 2000). Es zeigt sich in einer Erhebung von BOADA nach ACVB eine Erhöhung der CCL7-Spiegel postoperativ (Boada, 2014). In den vorliegenden Daten sah man in beiden Gruppen keine eindeutigen Trends (Abb. 10).

BAIGRIE wies erhöhte IL-1 $\beta$ -Spiegel nach Aorten Chirurgie, nicht aber nach Hernieoperationen (Baigrie et al., 1992). In der vorliegenden Untersuchung waren bei der Bestimmung der IL-1 $\beta$ -Spiegel kaum Änderungen der Konzentration nachzuweisen bzw. blieben bei den meisten Patienten die Werte unter dem nachweisbaren Spiegel der verwendeten Methode.

BAIGRIE konnte nach Aorten Chirurgie keine Erhöhung der TNF-1 $\alpha$ -Spiegel nachweisen (Baigrie et al., 1992). Ebenso konnte man in den vorliegenden Daten keine Erhöhung des TNF-1 $\alpha$  sehen bzw. blieben bei den meisten Patienten die Werte unter dem nachweisbaren Spiegel der verwendeten Methode.

CXCL9 ist nach kardiochirurgischen Eingriffen erhöht und führt zur Neointimabildung und Restenosierung nach Herztransplantation (Yun et al., 2002). Bei den CXCL9-Spiegeln in der vorliegenden Erhebung waren dagegen kaum Änderungen der Konzentration nachzuweisen bzw. blieben bei den meisten Patienten die Werte unter dem nachweisbaren Spiegel der verwendeten Methode.

### **5.4 Entzündungsmarker und Restenose**

Höhere CRP-Level im Rahmen einer PTA sprechen für eine höhere inflammatorische Aktivität, welche wiederum zu einem hypertrophen vaskulären Remodeling und exzessiver Neointimabildung führen. Allerdings konnten bisher keine Aussagen zu kritischen CRP-Leveln im Rahmen des Restenoserisikos gemacht werden (Schillinger and Minar, 2005). In der vorliegenden Erhebung sah man einen Trend zu höherem Anstieg der CRP bei Patienten nach der PTA, welche später eine Restenose entwickelten (Abb. 15).

Ein präinterventionell erhöhter Fibrinogenspiegel war in anderen Studien ein Prädiktor für spätere Restenose, dagegen spielte der postinterventionelle Spiegel keine Rolle für das Outcome (Schillinger et al., 2002b). In den vorliegenden Daten zeigte sich hinsichtlich der Fibrinogenausgangsspiegel bei Patienten mit Intervention mit und ohne nachfolgende Stenose kein Unterschied (Abb. 17).

Bei Patienten, die eine Dysfunktion ihres ACVB erleiden, ist die BSR höher als bei Patienten ohne späteres Bypassversagen (Weber et al., 2001). In den vorliegenden Daten zeigten sich dagegen sowohl die Patienten mit Intervention als auch Operation

bei späterer Stenose mit geringeren BSR-Werten als Patienten ohne spätere Stenose (Abb. 19 und Abb. 20).

In einer Studie von ARAÚJO et al. zeigten sich nach femoraler Angioplastie erhöhte Level von IL-6 und TNF- $\alpha$ , allerdings zeigte sich kein Zusammenhang zwischen Anstieg und Restenosierung (Araújo et al., 2015). Ebenso wurde in einer Studie von PARMAR et al. gezeigt, dass die Level von IL-6 und TNF- $\alpha$  nach PTA mehr steigen als nach reiner Angiographie (nur Darstellung des Gefäßes mit Kontrastmittel), aber kein Zusammenhang zwischen den erhöhten Spiegeln und einer Restenose besteht (Parmar et al., 2009). In den vorliegenden Daten zeigt sich zwar anfangs bei PTA-Patienten mit späterer Restenose ein höheres IL-6, wiederum aber bei dem OP-Patienten mit späterer Restenose ein geringerer IL-6-Spiegel als bei den OP-Patienten ohne spätere Restenose (Abb. 21 und Abb. 22).

Bei Patienten, die nach PTCA einen über 2 Wochen erhöhten CCL2-Spiegel zeigen, ist die Rate an Restenosen erhöht (Cipollone et al., 2001). Im vorliegenden Datengut zeigt sich bei Patienten, ob mit oder ohne spätere Restenose nach OP und PTA, kein deutlicher Anstieg zu Beginn (Abb. 23).

CCL3 ist ein prognostischer Faktor für zukünftige kardiale Ereignisse nach akutem Myokardinfarkt (de Jager et al., 2008). In den vorliegenden Daten sieht man bei PTA-Patienten mit späterer Restenose ebenso einen anfänglich erhöhten CCL3-Spiegel, im Vergleich zu keiner Änderung bei Patienten nach PTA ohne spätere Restenose (Abb. 25). Dies zeigte sich bei dem OP-Patienten mit späterer Restenose aber nicht, wo es zum anfänglichen Abfall der CCL3-Spiegel kam (Abb. 26).

Der Rezeptor CCR5 bindet sowohl CCL4 (Raport et al., 1996) als auch CCL8 (D'Ambrosio et al., 2003). CCR5 vermittelt die Neointimabildung und damit den Beginn der Restenosierung in aortokoronaren Venenbypassen (Maguire et al., 2014). Das legt die Vermutung nahe, dass hohe CCL4- und hohe CCL8-Spiegel nach gefäßchirurgischen Eingriffen und Interventionen ebenfalls mit beschleunigter Restenose einhergehen. Die vorliegenden Daten konnten dies aber nicht belegen (Abb. 27). Bei den Patienten zeigte sich bei späterer Restenose nach PTA eher ein Abfall der CCL4-Werte. Der CCL8-Spiegel zeigte keine relevanten Veränderungen bei Patienten mit späterer Restenose nach PTA oder Operation (Abb. 30 und Abb. 31).

CCL7 ist mitverantwortlich für die Neointimabildung und Proliferation der glatten Muskelzellen im Rahmen der Restenose (Maddaluno et al., 2011). Die eigenen Daten zeigten beim CCL7-Spiegel kaum Veränderungen nach PTA und OP, nur der Patient, der operiert wurde und später eine Restenose bekam, zeigte einen späten Anstieg des CCL7-Spiegels am 90. Tag (Abb. 28 und Abb. 29).

### 5.5 QC-Aktivität

Die QC und das isoQC sind relevante Bestandteile der Proteinreifung von sekretorisch aktiven Zellen. Sie beeinflussen die Reifung von Proteinen und Peptiden durch Katalyse der Pyroglutamatbildung aus Glutaminylresten an deren N-Termini (Pohl et al., 1991; Böckers et al., 1995). Der Pyroglutamatrest verleiht Stabilität, trägt bei manchen Peptiden aber auch zur Bioaktivität bei (Awade et al., 1994; Cynis et al., 2011). Ihre Funktion ist z. B. die posttranslationale Modifikation einer Reihe wichtiger Schlüsselmediatoren inflammatorischer Reaktionen, unter anderem CRP und CCL2. Beide weisen einen Pyroglutamatrest auf, welcher vor dem Abbau durch Aminopeptidasen schützt und durch welchen sie ihre biologische Aktivität erhalten. Insbesondere die Golgi-lokalisierte Isoform der QC ist für die Reifung von CCL2 verantwortlich (Cynis et al., 2011). Dieses Chemokin lockt Monozyten in entzündetes Gewebe (Lu et al., 1998). Diese Chemotaxis ist ein Prozess, welcher im Rahmen verschiedener Erkrankungen eine Rolle spielt (Gosling et al., 1999; Mahad and Ransohoff, 2003; Bhatia et al., 2005).

Analysiert wurden die Serum-QC-Aktivität und Entzündungsparameter bei Patienten, welche sich zwei verschiedenen Arten eines Gefäßeingriffs unterzogen. Die vorliegenden Daten deuten an, dass die Änderung der QC-Aktivität unabhängig von der Art der Therapie im Median um bis zu 25 % für mindestens 90 Tage erhöht ist (Abb. 14). Eine Erhöhung der QC nach gefäßchirurgischen Therapien wurde bisher noch nicht untersucht. Die Erhöhung der QC Expression wurde bisher in Gehirnen von Patienten mit Morbus Alzheimer (Schilling et al., 2008b), in peripheren mononukleären Blutzellen (PBMC) von Patienten mit aktiver rheumatoider Arthritis (Batliwalla et al., 2005) und auch bei papillären Schilddrüsenkarzinomen (da Silveira Mitteldorf et al., 2011) nachgewiesen. Dabei scheint die Hochregulation der QC generell mit krankhaften Störungen des normalen Gleichgewichtes assoziiert zu sein. In der vorliegenden Pilotstudie wurden die erhöhten QC-Spiegel durch ein chirurgisches bzw. durch ein interventionelles Trauma anstatt durch eine bestimmte Erkrankung hervorgerufen, was die Induktion durch eine akute Entzündungsreaktion nahelegt. Es hat sich zum Beispiel gezeigt, dass die QC auch durch bakterielle Lipopolysaccharide stimuliert werden kann (Chikuma et al., 2004). Es wurde auch gezeigt, dass verschiedene Substrate der QCs eine Schlüsselrolle bei der Entzündung spielen, wie zum Beispiel CCL2 (Gerard and Rollins, 2001) und das CRP (Deban et al., 2009).

Eine Verletzung des Endothels führt zu Atherosklerose, somit ist auch nach einer Operation und PTA, welche auch zu einem Trauma führen, eine erneute Induktion der Entwicklung der Arteriosklerose gegeben (Meyne, 2003). Auch die PTA führt letztlich zur Endotheldysfunktion (Weidinger et al., 1990).

Der beobachtete Zeitverlauf der QC-Aktivität spiegelte sich nicht in der Konzentration der im Blut zirkulierenden QC-Substrate wider. Zumindest innerhalb der OP-Gruppe folgte der Anstieg der Induktion der APR. Trotz einer schnellen Normalisierung der Entzündungsparameter, widergespiegelt durch einen Abfall der CRP- und IL-6-Spiegel, stieg die QC-Aktivität weiter und blieb während des Studienverlaufes erhöht. Zusätzlich gab es in der PTA-Gruppe eine geringer ausgeprägte APR als in der OP-Gruppe. Trotzdem stieg auch die QC-Aktivität einen Tag nach der Intervention an. Schließlich zeigten Pyroglutamat modifizierte Chemokine wie CCL2 und CCL8 sogar einen leicht verminderten Spiegel kurz nach dem Eingriff und demzufolge einen entgegengesetzten Zeitverlauf zur QC.

Die angewendete Analysemerhode unterscheidet nicht zwischen den zwei bekannten QC-Isoenzymen (QC und isoQC), da diese eine nahezu identische Substratspezifität aufweisen, sich aber in ihrer subzellulären Lokalisation unterscheiden (Cynis et al., 2008; Stephan et al., 2009). Die QC wird über sekretorische Vesikel des Golgi-Apparates sezerniert, wo sie mit Substraten kolokalisiert ist (Böckers et al., 1995). Im Gegensatz dazu wurde die isoQC als ein auf dem Golgi-Komplex befindliches Enzym identifiziert (Cynis et al., 2008). Obwohl der Spiegel des QC im Serum unter normalen Umständen ausschließlich auf die QC zurückzuführen ist (Schilling et al., 2011), könnte der beobachtete Anstieg der QC-Aktivität im Serum entweder als Ergebnis einer stärkeren Sekretion der QC durch den Entzündungsreiz resultieren oder durch die Freisetzung von intrazellulärer isoQC aus beschädigten Zellen. In diesem Zusammenhang wird die Freisetzung von intrazellulären Enzymen häufig für die Diagnostik in der täglichen Laborpraxis genutzt. So weist z. B. die Erhöhung der  $\gamma$ -Glutamyl-Transferase auf einen Leberschaden (Dufour et al., 2000) hin und Troponin-T wird für die Diagnose des Herzinfarktes genutzt (Katus et al., 1991). Dennoch, da die isoQC überall exprimiert wird, könnte sie vielleicht kein geeigneter Marker für unterschiedliches Organversagen sein. Zusätzlich werden weitere Studien benötigt, um die Isoform zu identifizieren, welche die Hochregulation der QC-Aktivität im Serum verursacht. Überraschenderweise war die Aktivität während des Beobachtungszeitraums von 90 Tagen bei Patienten, welche sich mit Restenose des intervenierten Segmentes wieder vorstellten, im Vergleich zu Patienten ohne Stenose erhöht (Abb. 32). Dieser Effekt war unabhängig von der Implantation eines Stents.

CCL2 wird durch Endothelzellen und Zellen der glatten Muskulatur eines Gefäßes, auf einen chemischen oder mechanischen Stimulus hin, sezerniert (Sheikine and Hansson, 2004). Während die chemische Stimulation durch modifizierte Lipidmoleküle eine Rolle bei der Entstehung von Arteriosklerose spielt, kommt es bei gefäßchirurgischen Eingriffen zur mechanischen Schädigung (Usui et al., 2002). Es wurde bereits gezeigt,

dass die Spiegel des QC-Substrates CCL2 mit dem Auftreten von Restenosen bei Patienten, welche sich einer PTCA unterziehen, korreliert (Cipollone et al., 2001). Dabei verleitet es zu der Spekulation über eine Beziehung zwischen den erhöhten QC-Spiegeln im Blut und möglichen Restenose Ereignissen, welche möglicherweise mit Entzündung der betroffenen Gefäßabschnitte verbunden sind. Es wurde gezeigt, dass die Restenose von Entzündungsmolekülen wie CCL2 abhängt, welche zur Infiltration von Immunzellen und Migration von glatten Muskelzellen führen (Kitamoto et al., 2003). Da dieser Prozess innerhalb der Gefäßabschnitte stattfindet, ist ein erhöhtes Zytokinprofil bei den betroffenen Patienten keine zwingende Voraussetzung.

Der exakte Vorgang und die Beteiligung der QC im Rahmen der Restenose bedürfen weiterer Aufklärung. In dieser Hinsicht verfügt diese Studie nur über eine begrenzte Zahl zu Grunde liegender Patienten pro Gruppe. Daher werden Folgestudien vorgeschlagen, um eine größere Zahl von Patienten zur Bestätigung der erhaltenen Daten einzuschließen. Entscheidend wird hier auch sein, das Auftreten der Restenosen besser zu objektivieren und die Patienten nicht erst bei wiederauftretenden Beschwerden zu registrieren, sondern bereits auf asymptomatische Restenosierung hin zu untersuchen. Auch müssen homogenere Gruppen hinsichtlich der Komorbiditäten gebildet werden. Eine weiterführende Untersuchung müsste auch zeigen, welche der beiden Isoformen die QC-Erhöhung verursacht. Letztlich legen die vorliegenden Ergebnisse eine Rolle der QC für Restenosen nahe. QC könnte als einfacher Serum-Biomarker für die Vorhersage von Restenoseereignissen bei solchen Patienten geeignet sein. Die betreffenden Patienten könnten beim Vorliegen einer erhöhten QC-Aktivität einer engmaschigeren Kontrolle zugeführt werden. Eine Entwicklung von Inhibitoren der QC zur Behandlung anderer Erkrankungen wird zurzeit bereits angestrebt (Buchholz et al., 2006; Hielscher-Michael, 2017; Hoffmann et al., 2017; Koch et al., 2012; Lues et al., 2015; Scheltens et al., 2018). Im Mausmodell (ApoE3\*-Leiden Mäuse) konnte bereits der lindernde Effekt von QC-Inhibitoren auf die Pathologie der Arteriosklerose im Rahmen einer Cuff-induzierten und durch fettreiche Fütterung indizierten Arteriosklerose gezeigt werden (Cynis et al., 2011). So könnte, so die Hoffnung, in der Zukunft die Gabe von QC-Inhibitoren bei erhöhter Aktivität auch das Risiko der Entwicklung von Restenosen beim Menschen verringern.

### **6 Zusammenfassung**

In der vorliegenden Arbeit wurden im St. Elisabeth und St. Barbara Krankenhaus Halle (Saale) 28 Patienten in eine Pilotstudie eingeschlossen. Die Daten wurden im Rahmen einer prospektiven Kohortenstudie erhoben.

Das Ziel der Arbeit war die Darstellung der Veränderung der QC-Aktivität nach 2 Arten von Gefäßeingriffen. Der zeitliche Verlauf der QC-Aktivität und weiterer Mediatoren wurde über einen Zeitraum von 90 Tagen untersucht und die Restenoseereignisse der eingeschlossenen Patienten über einen Zeitraum von 1100 Tagen erfasst.

Um das Potential der QCs im Serum als Prädiktor der Restenoserate zu untersuchen, wurden die QC-Aktivität und verschiedene QC-Substrate bei 14 Patienten nach gefäßchirurgischem Eingriff (Bypass und/oder Thrombendarteriektomie = OP-Gruppe) und 14 Patienten nach minimalinvasiver perkutaner transluminaler Angioplastie (PTA und/oder Stentimplantation = PTA-Gruppe) analysiert. Das mittlere Alter der Patienten betrug  $59 \pm 9,1$  Jahre, mit 23 männlichen und 5 weiblichen Patienten. Ein Teil der in der Arbeit untersuchten Immunmarker sind Substrate der QC (CRP, CCL2, CCL7 und CCL8) bei welchen der N-terminale Glutamin-Rest durch die QC modifiziert wird, die Reifung weiterer untersuchter Marker (CCL3, CCL4, CXCL9, IL-6, TNF-1 $\alpha$  und IL-1 $\beta$ ) sind nicht von der Katalyse durch die QC abhängig. Zusätzlich wurden die Entzündungsparameter CRP, BSR und Fibrinogen im Blut bestimmt und die zu Arteriosklerose führenden Risikofaktoren Diabetes mellitus, KHK, HLP und Nikotinabusus erfasst. Patienten mit floriden Entzündungen wurden ausgeschlossen.

In der Studie konnte gezeigt werden, dass die QC-Aktivität postinterventionell und postoperativ für mindestens 90 Tage erhöht im Serum bestimmt werden kann, obwohl sich die klassischen Marker der APR innerhalb des Messzeitraums bereits normalisiert haben. Eine erhöhte QC-Aktivität scheint mit einer erhöhten Rate an Wiederverschlüssen behandelter Gefäßsegmente im Zusammenhang zu stehen. Im Hinblick auf die zentrale Rolle der QCs bei entzündlichen Erkrankungen könnte diese Arbeit eine erste Begründung für den hier beschriebenen Anstieg der QC-Aktivitäten bei solchen Patienten liefern. Die QC-Aktivität könnte somit prädiktiven Wert für das Auftreten einer Restenose haben. Weitere Arbeiten mit höheren Patientenzahlen müssen erfolgen, um diesen Zusammenhang zu beweisen. Des Weiteren ist auch die exakte Bestimmung der dann zirkulierenden QC-Isoform für die weitere Entwicklung eines einfachen Schnelltests, z. B. in Form eines ELISA, von großer Bedeutung. Letztlich könnte die Entwicklung von Inhibitoren der QC bei erhöhter Aktivität auch das Risiko der Entwicklung von Restenosen verringern.



## 7 Literaturverzeichnis

Altieri, D.C., Duperray, A., Plescia, J., Thornton, G.B., and Languino, L.R. (1995). Structural Recognition of a Novel Fibrinogen Chain Sequence (117133) by Intercellular Adhesion Molecule-1 Mediates Leukocyte-Endothelium Interaction. *J. Biol. Chem.* 270, 696–699.

Anitschkow, N.N., and Chalutow, S. (1983). Classics in arteriosclerosis research: On experimental cholesterol steatosis and its significance in the origin of some pathological processes [Übersetzung des Artikels "Über experimentelle Cholesterinsteatose: Ihre Bedeutung für die Entstehung einiger pathologischer Prozesse", erschienen im *Centralblatt für Allgemeine Pathologie und Pathologische Anatomie*, Bd. 24, S. 1-9, 1913]. *Arterioscler. Dallas Tex* 3, 178–182.

Aouifi, A., Piriou, V., Blanc, P., Bouvier, H., Bastien, O., Chiari, P., Rousson, R., Evans, R., and Lehot, J.J. (1999). Effect of cardiopulmonary bypass on serum procalcitonin and C-reactive protein concentrations. *BJA Br. J. Anaesth.* 83, 602–607.

Araújo, P.V., Ribeiro, M.S., Dalio, M.B., Rocha, L.A., Viaro, F., Joviliano, R.D., Piccinato, C.E., Évora, P.R.B., and Joviliano, E.E. (2015). Interleukins and Inflammatory Markers in In-Stent Restenosis after Femoral Percutaneous Transluminal Angioplasty. *Ann. Vasc. Surg.* 29, 731–737.

Ardigo, D., Assimes, T.L., Fortmann, S.P., Go, A.S., Hlatky, M., Hytopoulos, E., Iribarren, C., Tsao, P.S., Tabibiazar, R., and Quertermous, T. (2007). Circulating chemokines accurately identify individuals with clinically significant atherosclerotic heart disease. *Physiol. Genomics* 31, 402–409.

Awade, A.C., Cleuziat, P., Gonzales, T.H., and Robert-Baudouy, J. (1994). Pyrrolidone carboxyl peptidase (Pcp): An enzyme that removes pyroglutamic acid (pGlu) from pGlu-peptides and pGlu-proteins. *Proteins Struct. Funct. Bioinforma.* 20, 34–51.

Baigrie, R.J., Lamont, P.M., Kwiatkowski, D., Dallman, M.J., and Morris, P.J. (1992). Systemic cytokine response after major surgery. *Br. J. Surg.* 79, 757–760.

Batliwalla, F.M., Baechler, E.C., Xiao, X., Li, W., Balasubramanian, S., Khalili, H., Damle, A., Ortmann, W.A., Perrone, A., Kantor, A.B., et al. (2005). Peripheral blood gene expression profiling in rheumatoid arthritis. *Genes Immun.* 6, 388–397.

Berg, P.A., and Klein, R. (1998). Allgemeine Grundsätze der Immunabwehr und Immuntherapie. In *Bauchchirurgie: Operationslehre mit topographischer Anatomie - Standards der Viszeralchirurgie; mit 121 Tabellen*, J. Durst, and H. Arnholdt, eds. (Stuttgart: Schattauer), pp. 253–277.

Bhatia, M., Ramnath, R.D., Chevali, L., and Guglielmotti, A. (2005). Treatment with bindarit, a blocker of MCP-1 synthesis, protects mice against acute pancreatitis. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 288, G1259-1265.

Blessing, F., Jaeger, B.R., Oberhoffer, M., Reichart, B., and Seidel, D. (2003). Verhinderung von Frühverschlüssen nach koronarer Bypassoperation durch postoperative Reduktion des Plasmafibrinogens mittels H.E.L.P.-Apherese [Prevention of early graft occlusion after coronary bypass grafting by post-operative reduction of plasma fibrinogen by H.E.L.P. apheresis. First evaluation of 12 patients treated during our study (44 bypasses)]. *Z. Für Kardiologie* 92, iii42–iii47.

Boada, E.P. (2014). Variación de mediadores de inflamación en cirugía coronaria sin circulación extracorpórea versus cirugía coronaria con mini circulación extracorpórea [Variation of mediators of inflammation in coronary surgery without extracorporeal circulation versus coronary surgery with mini-extracorporeal circulation]. Universitat Autònoma de Barcelona,.

Böckers, T.M., Kreutz, M.R., and Pohl, T. (1995). Glutaminyl-cyclase expression in the bovine/porcine hypothalamus and pituitary. *J. Neuroendocrinol.* 7, 445–453.

Böger, R.H., Bode-Böger, S.M., and Alfke, H. (1996). Restenose nach Perkutaner transluminaler Angioplastie [Restenosis after percutaneous transluminal angioplasty: II. Possibilities for pharmacologic intervention]. *VASA Z. Für Gefäßkrankheiten* 25, 21–31.

Boring, L., Gosling, J., Cleary, M., and Charo, I.F. (1998). Decreased lesion formation in CCR2<sup>-/-</sup> mice reveals a role for chemokines in the initiation of atherosclerosis. *Nature* 394, 894–897.

Böttiger, L.-E., and Carlson, L.A. (1980). Risk factors for ischaemic vascular death for men in the Stockholm prospective study. *Atherosclerosis* 36, 389–408.

Buchholz, M., Heiser, U., Schilling, S., Niestroj, A.J., Zunkel, K., and Demuth, H.-U. (2006). The first potent inhibitors for human glutaminyl cyclase: synthesis and structure-activity relationship. *J. Med. Chem.* 49, 664–677.

Busby, W.H.J., Quackenbush, G.E., Humm, J., Youngblood, W.W., and Kizer, J.S. (1987). An enzyme(s) that converts glutaminyl-peptides into pyroglutamyl-peptides. Presence in pituitary, brain, adrenal medulla, and lymphocytes. *J. Biol. Chem.* 262, 8532–8536.

Cagnin, S., Biscuola, M., Patuzzo, C., Trabetti, E., Pasquali, A., Laveder, P., Faggian, G., lafrancesco, M., Mazzucco, A., Pignatti, P.F., et al. (2009). Reconstruction and functional analysis of altered molecular pathways in human atherosclerotic arteries. *BMC Genomics* 10, 13.

Carlson, L.A., Bottiger, L.E., and Ahfeldt, P.E. (1979). Risk factors for myocardial infarction in the Stockholm prospective study. *A. Acta Med. Scand.* 206, 351–360.

Casscells, W. (1992). Migration of smooth muscle and endothelial cells. Critical events in restenosis. *Circulation* 86, 723–729.

Castell, J.V., Gómez-Lechón, M.J., David, M., Hirano, T., Kishimoto, T., and Heinrich, P.C. (1988). Recombinant human interleukin-6 (IL-6/BSF-2/HSF) regulates the synthesis of acute phase proteins in human hepatocytes. *FEBS Lett.* 232, 347–350.

Charo, I.F., and Taubman, M.B. (2004). Chemokines in the pathogenesis of vascular disease. *Circ. Res.* 95, 858–866.

Chikuma, T., Taguchi, K., Yamaguchi, M., Hojo, H., and Kato, T. (2004). Improved determination of bovine glutaminyl cyclase activity using precolumn derivatization and reversed-phase high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* 806, 113–118.

Cho, S.W., Kim, B.G., Kim, D.H., Kim, B.O., Byun, Y.S., Rhee, K.J., Lee, B.K., and Goh, C.W. (2015). Prediction of coronary artery disease in patients with lower extremity peripheral artery disease. *Int. Heart. J.* 56, 209–212.

Cipollone, F., Marini, M., Fazia, M., Pini, B., Iezzi, A., Reale, M., Paloscia, L., Materazzo, G., D'Annunzio, E., Conti, P., et al. (2001). Elevated circulating levels of monocyte chemoattractant protein-1 in patients with restenosis after coronary angioplasty. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *21*, 327–334.

Clauss, A. (1957). Gerinnungsphysiologische Schnellmethode zur Bestimmung des Fibrinogens [Coagulation physiological rapid method for the determination of fibrinogen]. *Acta Haematol.* *17*, 237–246.

Criqui, M.H., Fronek, A., Barrett-Connor, E., Klauber, M.R., Gabriel, S., and Goodman, D. (1985). The prevalence of peripheral arterial disease in a defined population. *Circulation* *71*, 510–515.

Cruickshank, A.M., Fraser, W.D., Burns, H.J., Van Damme, J., and Shenkin, A. (1990). Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity. *Clin. Sci. Lond. Engl.* *1979* *79*, 161–165.

Cushing, S.D., Berliner, J.A., Valente, A.J., Territo, M.C., Navab, M., Parhami, F., Gerrity, R., Schwartz, C.J., and Fogelman, A.M. (1990). Minimally modified low density lipoprotein induces monocyte chemotactic protein 1 in human endothelial cells and smooth muscle cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* *87*, 5134–5138.

Cynis, H., Schilling, S., Bodnar, M., Hoffmann, T., Heiser, U., Saido, T.C., and Demuth, H.-U. (2006). Inhibition of glutaminyl cyclase alters pyroglutamate formation in mammalian cells. *Biochim. Biophys. Acta* *1764*, 1618–1625.

Cynis, H., Rahfeld, J.-U., Stephan, A., Kehlen, A., Koch, B., Wermann, M., Demuth, H.-U., and Schilling, S. (2008). Isolation of an isoenzyme of human glutaminyl cyclase: retention in the Golgi complex suggests involvement in the protein maturation machinery. *J. Mol. Biol.* *379*, 966–980.

Cynis, H., Hoffmann, T., Friedrich, D., Kehlen, A., Gans, K., Kleinschmidt, M., Rahfeld, J.-U., Wolf, R., Wermann, M., Stephan, A., et al. (2011). The isoenzyme of glutaminyl cyclase is an important regulator of monocyte infiltration under inflammatory conditions. *EMBO Mol. Med.* *3*, 545–558.

D'Ambrosio, D., Panina-Bordignon, P., and Sinigaglia, F. (2003). Chemokine receptors in inflammation: an overview. *J. Immunol. Methods* *273*, 3–13.

De Haro, J., Acin, F., Medina, F.J., Lopez-Quintana, A., and March, J.R. (2008). Relationship between the plasma concentration of C-reactive protein and severity of peripheral arterial disease. *Clin. Med. Cardiol.* *3*, 1–7.

Deban, L., Bottazzi, B., Garlanda, C., de la Torre, Y.M., and Mantovani, A. (2009). Pentraxins: multifunctional proteins at the interface of innate immunity and inflammation. *BioFactors Oxf. Engl.* *35*, 138–145.

Diehm, C., Schuster, A., Allenberg, J.R., Darius, H., Haberl, R., Lange, S., Pittrow, D., von Stritzky, B., Tepohl, G., and Trampisch, H.-J. (2004). High prevalence of peripheral arterial disease and co-morbidity in 6880 primary care patients: cross-sectional study. *Atherosclerosis* *172*, 95–105.

Dufour, D.R., Lott, J.A., Nolte, F.S., Gretch, D.R., Koff, R.S., and Seeff, L.B. (2000). Diagnosis and monitoring of hepatic injury. I. Performance characteristics of laboratory tests. *Clin. Chem.* *46*, 2027–2049.

- Eckstein, H.-H., Knipfer, E., Trenner, M., Kühnl, A., and Söllner, H. (2014). Epidemiologie und Behandlung der PAVK und der akuten Extremitätenischämie in deutschen Krankenhäusern von 2005 bis 2012 [Epidemiology and treatment of PAOD and acute ischemia of the extremities in German hospitals from 2005 to 2012]. *Gefässchirurgie* 19, 117–126.
- Erikssen, G., Liestol, K., Bjornholt, J.V., Stormorken, H., Thaulow, E., and Erikssen, J. (2000). Erythrocyte sedimentation rate: a possible marker of atherosclerosis and a strong predictor of coronary heart disease mortality. *Eur. Heart J.* 21, 1614–1620.
- Fontaine, R., Kim, M., and Kieny, R. (1954). Die chirurgische Behandlung der peripheren Durchblutungsstörungen [Surgical treatment of peripheral circulation disorders]. *Helv. Chir. Acta* 21, 499–533.
- Frömke, J. (2006). Standardoperationen in der Gefäßchirurgie (Darmstadt: Steinkopff).
- Fu, Y., Ma, D., Liu, Y., Li, H., Chi, J., Liu, W., Lin, F., Hu, J., Zhang, X., Zhu, M., et al. (2015). Tissue factor pathway inhibitor gene transfer prevents vascular smooth muscle cell proliferation by interfering with the MCP-3/CCR2 pathway. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* 95, 1246–1257.
- Furukawa, Y., Matsumori, A., Ohashi, N., Shioi, T., Ono, K., Harada, A., Matsushima, K., and Sasayama, S. (1999). Anti-monocyte chemoattractant protein-1/monocyte chemotactic and activating factor antibody inhibits neointimal hyperplasia in injured rat carotid arteries. *Circ. Res.* 84, 306–314.
- Gämperli, O., Husmann, M., Luft, A., Steffel, J., and Lüscher, T. (2014). Atherosklerose und Folgeerkrankungen. In Herz-Kreislauf, J. Steffel, and T. Luscher, eds. (Heidelberg: Springer), pp. 57–86.
- Gearing, A.J., and Newman, W. (1993). Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol. Today* 14, 506–512.
- Gerard, C., and Rollins, B.J. (2001). Chemokines and disease. *Nat. Immunol.* 2, 108–115.
- Goldstein, J.L., and Brown, M.S. (1977). Atherosclerosis: the low-density lipoprotein receptor hypothesis. *Metabolism.* 26, 1257–1275.
- Gordon, T., Kannel, W.B., Castelli, W.P., and Dawber, T.R. (1981). Lipoproteins, cardiovascular disease, and death. The Framingham study. *Arch. Intern. Med.* 141, 1128–1131.
- Gosling, J., Slaymaker, S., Gu, L., Tseng, S., Zlot, C.H., Young, S.G., Rollins, B.J., and Charo, I.F. (1999). MCP-1 deficiency reduces susceptibility to atherosclerosis in mice that overexpress human apolipoprotein B. *J. Clin. Invest.* 103, 773–778.
- Gu, L., Okada, Y., Clinton, S.K., Gerard, C., Sukhova, G.K., Libby, P., and Rollins, B.J. (1998). Absence of monocyte chemoattractant protein-1 reduces atherosclerosis in low density lipoprotein receptor-deficient mice. *Mol. Cell* 2, 275–281.
- Hansson, G.K., Robertson, A.-K.L., and Soderberg-Naucler, C. (2006). Inflammation and atherosclerosis. *Annu. Rev. Pathol.* 1, 297–329.
- Heinrich, P.C., Castell, J.V., and Andus, T. (1990). Interleukin-6 and the acute phase response. *Biochem. J.* 265, 621–636.

Hicks, R.C., Ellis, M., Mir-Hasseine, R., Higman, D.J., Nott, D., Greenhalgh, R.M., and Powell, J.T. (1995). The influence of fibrinogen concentration on the development of vein graft stenoses. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. Off. J. Eur. Soc. Vasc. Surg.* 9, 415–420.

Hielscher-Michael, S. (2017). Glutaminylylzyklase (QC)-inhibierende Verbindungen aus Mikroalgen: neue Leitstrukturen für den Einsatz in der Therapie der Alzheimer Erkrankung. Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.

Hoffmann, T., Meyer, A., Heiser, U., Kurat, S., Böhme, L., Kleinschmidt, M., Bühring, K.-U., Hutter-Paier, B., Farcher, M., Demuth, H.-U., et al. (2017). Glutaminylyl Cyclase Inhibitor PQ912 Improves Cognition in Mouse Models of Alzheimer's Disease-Studies on Relation to Effective Target Occupancy. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 362, 119–130.

Holmes, D.R.J., Vlietstra, R.E., Smith, H.C., Vetrovec, G.W., Kent, K.M., Cowley, M.J., Faxon, D.P., Gruentzig, A.R., Kelsey, S.F., and Detre, K.M. (1984). Restenosis after percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA): a report from the PTCA Registry of the National Heart, Lung, and Blood Institute. *Am. J. Cardiol.* 53, 77C-81C.

Horn, P.S., Feng, L., Li, Y., and Pesce, A.J. (2001). Effect of Outliers and Nonhealthy Individuals on Reference Interval Estimation. *Clin. Chem.* 47, 2137–2145.

Hudorovic, N., Lovricevic, I., Hajnic, H., and Ahel, Z. (2010). Postoperative internal carotid artery restenosis after local anesthesia: presence of risk factors versus intraoperative shunt. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 11, 182–184.

Ip, J.H., Fuster, V., Badimon, L., Badimon, J., Taubman, M.B., and Chesebro, J.H. (1990). Syndromes of accelerated atherosclerosis: role of vascular injury and smooth muscle cell proliferation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 15, 1667–1687.

de Jager, S.C.A., Kraaijeveld, A.O., Grauss, R.W., de Jager, W., Liem, S.-S., van der Hoeven, B.L., Prakken, B.J., Putter, H., van Berkel, T.J.C., Atsma, D.E., et al. (2008). CCL3 (MIP-1 alpha) levels are elevated during acute coronary syndromes and show strong prognostic power for future ischemic events. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 45, 446–452.

de Jager, S.C.A., Bot, I., Kraaijeveld, A.O., Korporaal, S.J.A., Bot, M., van Santbrink, P.J., van Berkel, T.J.C., Kuiper, J., and Biessen, E.A.L. (2013). Leukocyte-specific CCL3 deficiency inhibits atherosclerotic lesion development by affecting neutrophil accumulation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 33, e75-83.

Joner, M., Farb, A., Cheng, Q., Finn, A.V., Acampado, E., Burke, A.P., Skorija, K., Creighton, W., Kolodgie, F.D., Gold, H.K., et al. (2007). Pioglitazone inhibits in-stent restenosis in atherosclerotic rabbits by targeting transforming growth factor-beta and MCP-1. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 27, 182–189.

Katus, H.A., Remppis, A., Neumann, F.J., Scheffold, T., Diederich, K.W., Vinar, G., Noe, A., Matern, G., and Kuebler, W. (1991). Diagnostic efficiency of troponin T measurements in acute myocardial infarction. *Circulation* 83, 902–912.

Kern, W.H., Dermer, G.B., and Lindesmith, G.G. (1972). The intimal proliferation in aortic-coronary saphenous vein grafts. Light and electron microscopic studies. *Am. Heart J.* 84, 771–777.

Kitamoto, S., Egashira, K., and Takeshita, A. (2003). Stress and vascular responses: anti-inflammatory therapeutic strategy against atherosclerosis and restenosis after coronary intervention. *J. Pharmacol. Sci.* 91, 192–196.

- Koch, B., Buchholz, M., Wermann, M., Heiser, U., Schilling, S., and Demuth, H.-U. (2012). Probing secondary glutaminy cyclase (QC) inhibitor interactions applying an in silico-modeling/site-directed mutagenesis approach: implications for drug development. *Chem. Biol. Drug Des.* *80*, 937–946.
- Kotzampassi, K., Kolios, G., Manousou, P., Kazamias, P., Paramythiotis, D., Papavramidis, T.S., Heliadis, S., Kouroumalis, E., and Eleftheriadis, E. (2009). Oxidative stress due to anesthesia and surgical trauma: importance of early enteral nutrition. *Mol. Nutr. Food Res.* *53*, 770–779.
- Krejcy, K., Schwarzacher, S., Ferber, W., Plesch, C., Cybulsky, M.I., and Weidinger, F.F. (1996). Expression of VCAM-1 in rabbit iliac arteries is associated with vasodilator dysfunction of regenerated endothelium following balloon injury. *Atherosclerosis* *122*, 59–67.
- Kröger, K., Schwertfeger, M., Pittrow, D., and Diehm, C. (2010). Management of patients with peripheral arterial disease in primary care: a cross-sectional study in Germany. *Int. J. Clin. Pract.* *64*, 875–884.
- Lammer, J. (2001). Femoropopliteal artery obstructions: from the balloon to the stent-graft. *Cardiovasc. Intervent. Radiol.* *24*, 73–83.
- Lau, E.K., Paavola, C.D., Johnson, Z., Gaudry, J.-P., Geretti, E., Borlat, F., Kungl, A.J., Proudfoot, A.E., and Handel, T.M. (2004). Identification of the glycosaminoglycan binding site of the CC chemokine, MCP-1: implications for structure and function in vivo. *J. Biol. Chem.* *279*, 22294–22305.
- Laxdal, E., Eide, G.E., Wirsching, J., Jenssen, G.L., Jonung, T., Pedersen, G., Amundsen, S.R., Dregelid, E., and Aune, S. (2004). Homocysteine levels, haemostatic risk factors and patency rates after endovascular treatment of the above-knee femoropopliteal artery. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. Off. J. Eur. Soc. Vasc. Surg.* *28*, 410–417.
- Lee, A.J., Fowkes, F.G., Lowe, G.D., Connor, J.M., and Rumley, A. (1999). Fibrinogen, factor VII and PAI-1 genotypes and the risk of coronary and peripheral atherosclerosis: Edinburgh Artery Study. *Thromb. Haemost.* *81*, 553–560.
- Li, H., Cybulsky, M.I., Gimbrone, M.A.J., and Libby, P. (1993). Inducible expression of vascular cell adhesion molecule-1 by vascular smooth muscle cells in vitro and within rabbit atheroma. *Am. J. Pathol.* *143*, 1551–1559.
- Libby, P., Ridker, P.M., and Maseri, A. (2002). Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* *105*, 1135–1143.
- Liermann, D., and Kickuth, R. (2003). Stents in der Arteria femoralis: Hilfe oder Problem? [Stents in the femoral artery: aid or problem?]. *Hamostaseologie* *23*, 74–85.
- Lobstein, J.F. (1833). Livre second. Classe seconde. Maladies des arteres. In *Traité d'Anatomie Pathologique*, (Paris: F.G. Levrault), pp. 533–600.
- Lu, B., Rutledge, B.J., Gu, L., Fiorillo, J., Lukacs, N.W., Kunkel, S.L., North, R., Gerard, C., and Rollins, B.J. (1998). Abnormalities in monocyte recruitment and cytokine expression in monocyte chemoattractant protein 1-deficient mice. *J. Exp. Med.* *187*, 601–608.

Lüders, F., Furstenberg, T., Engelbertz, C., Gebauer, K., Meyborg, M., Malyar, N.M., and Reinecke, H. (2017). The Impact of Chronic Kidney Disease on Hospitalized Patients With Peripheral Arterial Disease and Critical Limb Ischemia. *Angiology* 68, 145–150.

Lues, I., Weber, F., Meyer, A., Bühring, U., Hoffmann, T., Kühn-Wache, K., Manhart, S., Heiser, U., Pokorny, R., Chiesa, J., et al. (2015). A phase 1 study to evaluate the safety and pharmacokinetics of PQ912, a glutaminy cyclase inhibitor, in healthy subjects. *Alzheimers Dement. N. Y. N* 1, 182–195.

Maddaluno, M., Di Lauro, M., Di Pascale, A., Santamaria, R., Guglielmotti, A., Grassia, G., and Ialenti, A. (2011). Monocyte chemotactic protein-3 induces human coronary smooth muscle cell proliferation. *Atherosclerosis* 217, 113–119.

Maguire, J.J., Jones, K.L., Kuc, R.E., Clarke, M.C.H., Bennett, M.R., and Davenport, A.P. (2014). The CCR5 chemokine receptor mediates vasoconstriction and stimulates intimal hyperplasia in human vessels in vitro. *Cardiovasc. Res.* 101, 513–521.

Mahad, D.J., and Ransohoff, R.M. (2003). The role of MCP-1 (CCL2) and CCR2 in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis (EAE). *Semin. Immunol.* 15, 23–32.

Malyar, N., Furstenberg, T., Wellmann, J., Meyborg, M., Luders, F., Gebauer, K., Bunzemeier, H., Roeder, N., and Reinecke, H. (2013). Recent trends in morbidity and in-hospital outcomes of in-patients with peripheral arterial disease: a nationwide population-based analysis. *Eur. Heart J.* 34, 2706–2714.

Marchand, F. (1904). Über Atherosklerose (Athero-Sklerose). *Verhandlungen Kongresses Für Inn. Med.* 21 Kongr. 23–59.

Meyne, K. (2003). *Handbuch arterielle Verschlusskrankheit: Leitfaden zum Krankheitsbild der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit, ihrer Erkennung und Behandlung* (Hannover: Schlütersche).

Minar, E. (2002). Medikamentöse Rezidivprophylaxe. In *Interventionelle Gefäßtherapie*, C. Vallbracht, F. Roth, and A.L. Strauss, eds. (Heidelberg: Steinkopff), p.

Murabito, J.M., D'Agostino, R.B., Silbershatz, H., and Wilson, W.F. (1997). Intermittent claudication. A risk profile from The Framingham Heart Study. *Circulation* 96, 44–49.

Ødegård, A., Lundbom, J., Myhre, H., Hatlinghus, S., Bergh, K., Waage, A., Bjerve, K., Mollnes, T., Aadahl, P., Lie, T., et al. (2000). The Inflammatory Response Following Treatment of Abdominal Aortic Aneurysms: a Comparison Between Open Surgery and Endovascular Repair. *Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg.* 19, 536–544.

Oliveira, E.B., Gotschlich, C., and Liu, T.Y. (1979). Primary structure of human C-reactive protein. *J. Biol. Chem.* 254, 489–502.

Pallua, N., and von Bülow, S. (2002). Immunologische Reaktionen nach thermischem Trauma. In *Handbuch der Verbrennungstherapie*, J. Bruck, F. Müller, and M. Steen, eds. (Landsberg: Ecomed), pp. 93–125.

Parmar, J.H., Aslam, M., and Standfield, N.J. (2009). Percutaneous transluminal angioplasty of lower limb arteries causes a systemic inflammatory response. *Ann. Vasc. Surg.* 23, 569–576.

- Pasceri, V., Cheng, J.S., Willerson, J.T., and Yeh, E.T. (2001). Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation* 103, 2531–2534.
- Pohl, T., Zimmer, M., Mugele, K., and Spiess, J. (1991). Primary structure and functional expression of a glutaminy cyclase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 88, 10059–10063.
- Proost, P., Struyf, S., Couvreur, M., Lenaerts, J.P., Conings, R., Menten, P., Verhaert, P., Wuyts, A., and Van Damme, J. (1998). Posttranslational modifications affect the activity of the human monocyte chemotactic proteins MCP-1 and MCP-2: identification of MCP-2(6-76) as a natural chemokine inhibitor. *J. Immunol. Baltim. Md 1950* 160, 4034–4041.
- Proost, P., Struyf, S., and Van Damme, J. (2006). Natural post-translational modifications of chemokines. *Biochem. Soc. Trans.* 34, 997–1001.
- Proudfoot, A.E.I., Handel, T.M., Johnson, Z., Lau, E.K., LiWang, P., Clark-Lewis, I., Borlat, F., Wells, T.N.C., and Kosco-Vilbois, M.H. (2003). Glycosaminoglycan binding and oligomerization are essential for the in vivo activity of certain chemokines. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100, 1885–1890.
- Raport, C.J., Gosling, J., Schweickart, V.L., Gray, P.W., and Charo, I.F. (1996). Molecular cloning and functional characterization of a novel human CC chemokine receptor (CCR5) for RANTES, MIP-1beta, and MIP-1alpha. *J. Biol. Chem.* 271, 17161–17166.
- Reape, T.J., and Groot, P.H. (1999). Chemokines and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 147, 213–225.
- Reuter, P. (2004). In *Springer Lexikon Medizin*, (Berlin: Springer), p. 158.
- Ridker, P.M., Cushman, M., Stampfer, M.J., Tracy, R.P., and Hennekens, C.H. (1998). Plasma concentration of C-reactive protein and risk of developing peripheral vascular disease. *Circulation* 97, 425–428.
- Rollins, B.J. (1997). Chemokines. *Blood* 90, 909–928.
- Ross, R. (1999). Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 340, 115–126.
- Ross, R., Glomset, J., and Harker, L. (1977). Response to injury and atherogenesis. *Am. J. Pathol.* 86, 675–684.
- Rossi, D., and Zlotnik, A. (2000). The biology of chemokines and their receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 18, 217–242.
- Sander, K., Bickel, H., Schulze Horn, C., Huntgeburth, U., Poppert, H., and Sander, D. (2008). Periphere arterielle Verschlusskrankheit: Prädiktoren und Behandlungsintensität. *DMW - Dtsch. Med. Wochenschr.* 133, 455–459.
- Schechter, A.D., Calderon, T.M., Berman, A.B., McManus, C.M., Fallon, J.T., Rossikhina, M., Zhao, W., Christ, G., Berman, J.W., and Taubman, M.B. (2000). Human vascular smooth muscle cells possess functional CCR5. *J. Biol. Chem.* 275, 5466–5471.



- Scheltens, P., Hallikainen, M., Grimmer, T., Duning, T., Gouw, A.A., Teunissen, C.E., Wink, A.M., Maruff, P., Harrison, J., van Baal, C.M., et al. (2018). Safety, tolerability and efficacy of the glutaminyl cyclase inhibitor PQ912 in Alzheimer's disease: results of a randomized, double-blind, placebo-controlled phase 2a study. *Alzheimers Res. Ther.* *10*, 107.
- Schepers, A., Eefting, D., Bonta, P.I., Grimbergen, J.M., de Vries, M.R., van Weel, V., de Vries, C.J., Egashira, K., van Bockel, J.H., and Quax, P.H.A. (2006). Anti-MCP-1 gene therapy inhibits vascular smooth muscle cells proliferation and attenuates vein graft thickening both in vitro and in vivo. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *26*, 2063–2069.
- Schiebler, T.H., and Korf, H.-W. (2007). 6 Blutkreislauf und Herz, Lymphgefäße – Allgemeine Organisation - 6.5 Blutgefäße. In *Anatomie: Histologie, Entwicklungsgeschichte, makroskopische und mikroskopische Anatomie, Topographie ; unter Berücksichtigung des Gegenstandskatalogs*, (Darmstadt: Steinkopff), pp. 190–196.
- Schilling, S., Hoffmann, T., Manhart, S., Hoffmann, M., and Demuth, H.-U. (2004). Glutaminyl cyclases unfold glutamyl cyclase activity under mild acid conditions. *FEBS Lett.* *563*, 191–196.
- Schilling, S., Wasternack, C., and Demuth, H.-U. (2008a). Glutaminyl cyclases from animals and plants: a case of functionally convergent protein evolution. *Biol. Chem.* *389*, 983–991.
- Schilling, S., Zeitschel, U., Hoffmann, T., Heiser, U., Francke, M., Kehlen, A., Holzer, M., Hutter-Paier, B., Prokesch, M., Windisch, M., et al. (2008b). Glutaminyl cyclase inhibition attenuates pyroglutamate Abeta and Alzheimer's disease-like pathology. *Nat. Med.* *14*, 1106–1111.
- Schilling, S., Kohlmann, S., Bauscher, C., Sedlmeier, R., Koch, B., Eichertopf, R., Becker, A., Cynis, H., Hoffmann, T., Berg, S., et al. (2011). Glutaminyl cyclase knock-out mice exhibit slight hypothyroidism but no hypogonadism: implications for enzyme function and drug development. *J. Biol. Chem.* *286*, 14199–14208.
- Schillinger, M., and Minar, E. (2005). Restenosis after percutaneous angioplasty: the role of vascular inflammation. *Vasc. Health Risk Manag.* *1*, 73–78.
- Schillinger, M., Exner, M., Mlekusch, W., Haumer, M., Ahmadi, R., Rumpold, H., Wagner, O., and Minar, E. (2002a). Balloon angioplasty and stent implantation induce a vascular inflammatory reaction. *J. Endovasc. Ther. Off. J. Int. Soc. Endovasc. Spec.* *9*, 59–66.
- Schillinger, M., Exner, M., Mlekusch, W., Rumpold, H., Ahmadi, R., Sabeti, S., Wagner, O., and Minar, E. (2002b). Fibrinogen predicts restenosis after endovascular treatment of the iliac arteries. *Thromb. Haemost.* *87*, 959–965.
- Seidel, D. (1993). Risikofaktoren der Atherogenese Mechanismen ihrer Wirkung und klinische Bewertung [Risk factors of atherogenesis mechanisms of their action and clinical evaluation]. *Dtsch. Ärztebl.* *90*, 2307–2315.
- Shalhoub, J., Viiri, L.E., Cross, A.J., Gregan, S.M., Allin, D.M., Astola, N., Franklin, I.J., Davies, A.H., and Monaco, C. (2016). Multi-analyte profiling in human carotid atherosclerosis uncovers pro-inflammatory macrophage programming in plaques. *Thromb. Haemost.* *115*, 1064–1072.

- Sharrett, A.R., Patsch, W., Sorlie, P.D., Heiss, G., Bond, M.G., and Davis, C.E. (1994). Associations of lipoprotein cholesterol, apolipoproteins A-I and B, and triglycerides with carotid atherosclerosis and coronary heart disease. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Arterioscler. Thromb. J. Vasc. Biol.* *14*, 1098–1104.
- Sheikine, Y., and Hansson, G.K. (2004). Chemokines and atherosclerosis. *Ann. Med.* *36*, 98–118.
- Shenkin, A., Fraser, W.D., Series, J., Winstanley, F.P., McCartney, A.C., Burns, H.J., and Van Damme, J. (1989). The serum interleukin 6 response to elective surgery. *Lymphokine Res.* *8*, 123–127.
- Shi, W., Haberland, M.E., Jien, M.L., Shih, D.M., and Lusis, A.J. (2000). Endothelial responses to oxidized lipoproteins determine genetic susceptibility to atherosclerosis in mice. *Circulation* *102*, 75–81.
- Shimizu, K., and Mitchell, R.N. (2003). Chemokine-mediated recruitment of inflammatory and smooth muscle cells in transplant-associated arteriosclerosis. *Curr. Opin. Organ Transplant.* *8*, 55–63.
- Shimizu, K., and Mitchell, R.N. (2008). The role of chemokines in transplant graft arterial disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *28*, 1937–1949.
- da Silveira Mitteldorf, C.A.T., de Sousa-Canavez, J.M., Leite, K.R.M., Massumoto, C., and Camara-Lopes, L.H. (2011). FN1, GALE, MET, and QPCT overexpression in papillary thyroid carcinoma: molecular analysis using frozen tissue and routine fine-needle aspiration biopsy samples. *Diagn. Cytopathol.* *39*, 556–561.
- Spies, C.D., Kern, H., Schroder, T., Sander, M., Sepold, H., Lang, P., Stangl, K., Behrens, S., Sinha, P., Schaffartzik, W., et al. (2002). Myocardial ischemia and cytokine response are associated with subsequent onset of infections after noncardiac surgery. *Anesth. Analg.* *95*, 9–18, table of contents.
- Stark, V.K., Hoch, J.R., Warner, T.F., and Hullett, D.A. (1997). Monocyte chemotactic protein-1 expression is associated with the development of vein graft intimal hyperplasia. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *17*, 1614–1621.
- Steinberg, D. (2005). Thematic review series: the pathogenesis of atherosclerosis. An interpretive history of the cholesterol controversy: part II: the early evidence linking hypercholesterolemia to coronary disease in humans. *J. Lipid Res.* *46*, 179–190.
- Stephan, A., Wermann, M., von Bohlen, A., Koch, B., Cynis, H., Demuth, H.-U., and Schilling, S. (2009). Mammalian glutaminyl cyclases and their isoenzymes have identical enzymatic characteristics. *FEBS J.* *276*, 6522–6536.
- Swedberg, S.H., Brown, B.G., Sigley, R., Wight, T.N., Gordon, D., and Nicholls, S.C. (1989). Intimal fibromuscular hyperplasia at the venous anastomosis of PTFE grafts in hemodialysis patients. Clinical, immunocytochemical, light and electron microscopic assessment. *Circulation* *80*, 1726–1736.
- Takaku, M., Wada, Y., Jinnouchi, K., Takeya, M., Takahashi, K., Usuda, H., Naito, M., Kurihara, H., Yazaki, Y., Kumazawa, Y., et al. (1999). An in vitro coculture model of transmigrant monocytes and foam cell formation. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* *19*, 2330–2339.

- Talstad, I., and Haugen, H.F. (1979). The relationship between the erythrocyte sedimentation rate (ESR) and plasma proteins in clinical materials and models. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 39, 519–524.
- Thomas, C., and Gebert, G. (1996). Herz-Gefäße. In *Spezielle Pathologie*, (Stuttgart: Schattauer), p.
- Thomas, C., and Schmitz-Moormann, P. (2003). Kreislaufstörungen. In *Allgemeine Pathologie*, (Stuttgart: Schattauer), p.
- Torzewski, J., Torzewski, M., Bowyer, D.E., Frohlich, M., Koenig, W., Waltenberger, J., Fitzsimmons, C., and Hombach, V. (1998). C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 18, 1386–1392.
- Tuzcu, E.M., Kapadia, S.R., Tutar, E., Ziada, K.M., Hobbs, R.E., McCarthy, P.M., Young, J.B., and Nissen, S.E. (2001). High prevalence of coronary atherosclerosis in asymptomatic teenagers and young adults: evidence from intravascular ultrasound. *Circulation* 103, 2705–2710.
- Uguccioni, M., D'Apuzzo, M., Loetscher, M., Dewald, B., and Baggiolini, M. (1995). Actions of the chemotactic cytokines MCP-1, MCP-2, MCP-3, RANTES, MIP-1 alpha and. *Eur. J. Immunol.* 25, 64–68.
- Uguccioni, M., Loetscher, P., Forssmann, U., Dewald, B., Li, H., Lima, S.H., Li, Y., Kreider, B., Garotta, G., Thelen, M., et al. (1996). Monocyte chemotactic protein 4 (MCP-4), a novel structural and functional analogue of MCP-3 and eotaxin. *J. Exp. Med.* 183, 2379–2384.
- Usui, M., Egashira, K., Ohtani, K., Kataoka, C., Ishibashi, M., Hiasa, K., Katoh, M., Zhao, Q., Kitamoto, S., and Takeshita, A. (2002). Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy inhibits restenotic changes (neointimal hyperplasia) after balloon injury in rats and monkeys. *FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol.* 16, 1838–1840.
- Van Coillie, E., Proost, P., Van Aelst, I., Struyf, S., Polfliet, M., De Meester, I., Harvey, D.J., Van Damme, J., and Opdenakker, G. (1998). Functional comparison of two human monocyte chemotactic protein-2 isoforms, role of the amino-terminal pyroglutamic acid and processing by CD26/dipeptidyl peptidase IV. *Biochemistry* 37, 12672–12680.
- Virchow, R. (1856). IV. Thrombose und Embolie - V. Phlogose und Thrombose im Gefäßsystem - Endarteriitis deformans und einfache Fettmetamorphose der Gefäßwand. In *Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medicin*, (Frankfurt am Main: Meidinger), pp. 492–513.
- Waltenberger, J. (1997). Modulation of growth factor action: implications for the treatment of cardiovascular diseases. *Circulation* 96, 4083–4094.
- Wang, X., Li, X., Yue, T.L., and Ohlstein, E.H. (2000). Expression of monocyte chemotactic protein-3 mRNA in rat vascular smooth muscle cells and in carotid artery after balloon angioplasty. *Biochim. Biophys. Acta* 1500, 41–48.
- Weber, T., Berent, R., Kirchgatterer, A., Auer, J., Mayr, H., Schwarz, C., Maurer, E., Punzengruber, C., Hartl, P., and Eber, B. (2001). Aortokoronare Bypassdysfunktion - Wertigkeit klinischer, laborchemischer und elektrokardiographischer Parameter [Coronary artery bypass graft dysfunction--clinical presentation, laboratory and electrocardiographic parameters]. *Acta Med. Austriaca* 28, 5–10.

Weidinger, F.F., McLenachan, J.M., Cybulsky, M.I., Gordon, J.B., Rennke, H.G., Hollenberg, N.K., Fallon, J.T., Ganz, P., and Cooke, J.P. (1990). Persistent dysfunction of regenerated endothelium after balloon angioplasty of rabbit iliac artery. *Circulation* 81, 1667–1679.

Westergren, A. (1921). Studies of the suspension stability of the blood in pulmonary tuberculosis. *Acta Med. Scand.* 54, 247–282.

Wilcox, J.N., Okamoto, E.I., Nakahara, K.I., and Vinten-Johansen, J. (2001). Perivascular responses after angioplasty which may contribute to postangioplasty restenosis: a role for circulating myofibroblast precursors? *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 947, 68–90; discussion 90-92.

Windaus, A. (1910). Über den Gehalt normaler und atheromatöser Aorten an Cholesterin und Cholesterinestern. *Z. Für Physiol. Chem.* 67, 174–176.

Xu, F., Lv, S., Chen, Y., Song, X., Jin, Z., Yuan, F., Zhou, Y., and Li, H. (2012). Macrophage inflammatory protein-1 $\beta$  and fibrinogen are synergistic predictive markers of prognosis of intermediate coronary artery lesions. *Cardiology* 121, 12–19.

Yasojima, K., Schwab, C., McGeer, E.G., and McGeer, P.L. (2001). Generation of C-reactive protein and complement components in atherosclerotic plaques. *Am. J. Pathol.* 158, 1039–1051.

Yu, H.T., Lee, J., Shin, E.-C., and Park, S. (2015). Significant Association between Serum Monokine Induced by Gamma Interferon and Carotid Intima Media Thickness. *J. Atheroscler. Thromb.* 22, 816–822.

Yun, J.J., Fischbein, M.P., Whiting, D., Irie, Y., Fishbein, M.C., Burdick, M.D., Belperio, J., Strieter, R.M., Laks, H., Berliner, J.A., et al. (2002). The role of MIG/CXCL9 in cardiac allograft vasculopathy. *Am. J. Pathol.* 161, 1307–1313.

Zhang, Y.J., Rutledge, B.J., and Rollins, B.J. (1994). Structure/activity analysis of human monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) by mutagenesis. Identification of a mutated protein that inhibits MCP-1-mediated monocyte chemotaxis. *J. Biol. Chem.* 269, 15918–15924.

## 8 Thesen

1. Mehr Patienten nach Intervention als nach Operation erleiden eine Restenose. Die Restenose tritt bei Patienten nach Intervention eher auf als nach Operation.
2. Nach Gefäßeingriff kommt es zur Akuten-Phase-Reaktion, bei der die BSR, CRP, Fibrinogen und die Ausschüttung von Zytokinen beim Fortschreiten der Arteriosklerose eine wichtige Rolle spielen.
3. CRP, Fibrinogen, BSR und IL-6 steigen nach Gefäßeingriff an; dabei mehr nach Operation als nach Intervention. Von den untersuchten Mediatoren konnte für die CRP eine Korrelation mit Restenoseereignissen bestätigt werden.
4. Chemokine spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Arteriosklerose und bei der Restenosierung bereits behandelter Gefäßabschnitte.
5. Die Spiegel von CCL 2, CCL 8, CCL 3, CCL 4 zeigen einen unterschiedlichen Verlauf nach Gefäßeingriff mit teilweise hoher Varianz in den Gruppen. IL-1 $\beta$ , TNF-1 $\alpha$  und CXCL9 zeigen kaum Veränderung der Spiegel nach Gefäßeingriff.
6. Durch das Enzym Glutaminylcyclase (QC) werden N-terminales Glutamin und Glutamatreste zyklisiert. Das entstehende Pyroglutamat weist Stabilität gegen Abbau auf. Einige Chemokine, welche bei der Entstehung von Arteriosklerose und Restenose eine relevante Rolle spielen, sind in der Katalyse abhängig von der QC.
7. Der Spiegel der QC steht im Zusammenhang mit entzündlichen Erkrankungen.
8. Sowohl die Setzung eines Stents als auch die Implantation eines Bypasses üben auf die QC-Aktivität einen höheren Reiz als die reine PTA bzw. TEA aus.
9. Die QC-Aktivität, gemessen vom Ausgangslevel jedes einzelnen Patienten, bleibt nach PTA bei Patienten mit späterer Restenose über lange Zeit (90 Tage) erhöht, während sich die anderen Mediatoren der Akute-Phase-Reaktion bereits normalisiert haben. Damit könnte die QC-Aktivität als prädiktiver Marker nach Gefäßeingriffen dienen.

10. Die Zahl der untersuchten Patienten und die Inhomogenität in der vorliegenden Untersuchung ist zu gering, um statistisch signifikante Ergebnisse zu liefern. Eine Studie mit größeren Patientenzahlen muss folgen, um die Vermutungen zu bestätigen, die QC als prädiktiven Marker nutzen zu können. Auch die derzeitige Entwicklung von QC-Inhibitoren könnte bei der Vermeidung der Restenosierung nach Gefäßeingriffen eine Rolle spielen.

## 9 Anhänge

Pat.- Nr.	PAVK Stadium	Therapie	Restenose nach	Bemerkung
<b>PTA-Patienten</b>				
1	IIb	PTA AIE	1034 Tagen	
2	IIb			nach einer Blutentnahme Zustimmung zurückgezogen
3	IIb			nach einer Blutentnahme Zustimmung zurückgezogen
4	IIb	PTA AIE		nach vier Blutentnahmen Zustimmung zurückgezogen
5	IIb	Stent in AFS	203 Tagen	
6	III	Stent AIE und PTA AFS	133 Tagen	
7	IIb	Eingriff nicht durchgeführt		
8	IIb	Stent AIE	433 Tagen	
9	IIb	PTA AIE und AIC		nach zwei Blutentnahmen Zustimmung zurückgezogen
10	IIb	Stent AIE	945 Tagen	
11	IIb	PTA AFS		nach zwei Blutentnahmen Zustimmung zurückgezogen (bei neuer Krebserkrankung)
12	IIb	Stent AIE		
13	IIb			nach einer Blutentnahme Zustimmung zurückgezogen
14	IIb	Stent AIC		
15	IIb	PTA AFS	896 Tagen	
16	IIb	PTA AFS		
17	IIb	PTA AFS		
18	IIb	PTA bds AIC		
19	IIb			nach einer Blutentnahme Zustimmung zurückgezogen
20	IIb	Stent AIC und PTA AFS		nach zwei Blutentnahmen Zustimmung zurückgezogen
21	IIb	PTA AFS		nach drei Blutentnahmen schwerer Myokardinfarkt, deswegen Zustimmung zurückgezogen
22	IIb	Stent AIE und AIE	426 Tagen	
23	IIb			nach zwei Blutentnahmen Zustimmung zurückgezogen
24	IIb	Stent AIE	98 Tagen	
25	IIb	Stent AIE		

Pat.- Nr.	PAVK Stadium	Therapie	Restenose nach	Bemerkung
<b>OP-Patienten</b>				
1	IIb	fempop P1 Bypass		
2	III	fempop P1 Bypass		
3	IIb	TEA und Patch femoral		
4	IIb	TEA und Patch femoral	821 Tagen	
5	IIb	TEA und Patch femoral		
6	III	fempop P1 Bypass		
7	IIb	fempop P1 Bypass		
8	IIb			nach 1 Blutentnahme Zustimmung zurückgezogen
9	III	fempop P1 Bypass		
10	IIb	fempop P2 Bypass		
11	IIb	femfem crossover Bypass		
12	IIb	femfem crossover Bypass		
13	III	fempop P1 Bypass		nach drei Blutentnahmen Zustimmung zurückgezogen
14	IIb	fempop P1 Bypass		nach drei Blutentnahmen entfallen, stationär in anderem KH wegen neuem Prostatakarzinom
15	IIb	TEA und Patch femoral		nach vier Blutentnahmen Zustimmung zurückgezogen
16	IIb	TEA und Patch femoral		
17	IIb	fempop P2 Bypass		
18	IIb	TEA und Patch femoral		



## Erklärungen

---

Ich, Isabel Hesse, erkläre an Eides statt, dass ich die Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst, 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 habe.

Ich erkläre, dass ich mich an keiner anderen Hochschule einem Promotionsverfahren unterzogen bzw. eine Promotion begonnen habe.

Ich erkläre, die Angaben wahrheitsgemäß gemacht und die wissenschaftliche Arbeit an keiner anderen wissenschaftlichen Einrichtung zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht zu haben.

Halle (Saale)

---

(Isabel Hesse)