

I. Medizinische Klinik und Poliklinik der
Technischen Universität München
Klinikum rechts der Isar

(Direktor: Univ.-Prof. Dr. A. Schömig)

**Monozyten-Lymphozyten-Koaggregate
im akuten Myokardinfarkt**

Dominik Zieglgänsberger

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Univ.-Prof. Dr. D. Neumeier

Prüfer der Dissertation:

1. Honorar-Prof. Dr. F.-J. M. Neumann, Albert-Ludwigs-
Universität Freiburg (schriftliche Beurteilung)
Univ.-Prof. A. Kastrati (mündliche Prüfung)
2. apl. Prof. Dr. M. P. Gawaz

Die Dissertation wurde am 21.04.2004 bei der Technischen Universität München
eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 29.09.2004 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	3
1.1	Neue Risikofaktoren der Arteriosklerose	3
1.2	Aufbau des Immunsystems	4
1.2.1	Bedeutung von T-Lymphozyten	4
1.2.2	Bedeutung von Monozyten	5
1.3	Tissue Factor	6
1.4	Die Entwicklung arteriosklerotischer Plaques	7
1.5	Leukozyten-Rekrutierung in die Gefäßwand	8
1.6	Immunprozesse in der Gefäßwand	9
1.7	Plaquedestabilisierung und Plaqueruptur	10
1.8	Akutes Koronarsyndrom und Rekanalisation	11
1.9	Reperfusionsschaden	11
1.10	Monozyten im akuten Koronarsyndrom	12
1.10.1	CD11b	13
1.11	T-Lymphozyten im akuten Koronarsyndrom	14
1.11.1	CD69	15
1.11.2	CD2	16
1.12	Thrombozyten-Monozyten-Koaggregate	17
1.13	Lymphozyten-Monozyten-Koaggregate	18
2	Zielsetzung der Arbeit	20
3	Material und Methoden	21
3.1	Materialien	21
3.2	Methoden und Protokolle	21
3.3	Studienprotokoll	22
3.4	Blutentnahmen	23
3.5	Präparation der Proben	23
3.6	Durchflußzytometrie	24
3.6.1	Grundlagen	24
3.6.2	Messung und Auswertung	26
3.7	Statistik	26
4	Ergebnisse	27
4.1	Patientencharakteristika	27

4.2 T-Lymphozytenaktivierung	29
4.2.1 CD69	29
4.2.2 CD2	30
4.3 Monozyten-Aktivierung	32
4.3.1 CD11b	32
4.4 Koaggregate von Monozyten und T-Lymphozyten.....	33
5 Diskussion	36
5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse	36
5.2 Monozytenaktivierung.....	37
5.2.1 Theoretische Grundlagen.....	37
5.2.2 Vergleich mit anderen Studien	38
5.2.3 Ursachen und Bedeutung der Monozytenaktivierung	39
5.2.3.1 <i>Interaktion mit aktivierten Thrombozyten</i>	39
5.2.3.2 <i>Interaktion mit Endothelzellen</i>	40
5.2.3.3 <i>Interaktion mit T-Lymphozyten</i>	42
5.2.4 Mögliche therapeutische Konsequenzen	43
5.3 T-Lymphozytenaktivierung	45
5.3.1 Theoretische Grundlagen.....	45
5.3.2 Vergleich mit anderen Studien	46
5.3.3 Ursachen und Bedeutung der T-Lymphozytenaktivierung	49
5.4 Koaggregate von Monozyten und T-Lymphozyten.....	51
5.4.1 Theoretische Grundlagen.....	51
5.4.2 Vergleich mit anderen Studien	52
5.4.3 Ursachen und Bedeutung der Koaggregate	52
5.4.3.1 <i>Ursprung der Koaggregate</i>	52
5.4.3.2 <i>Tissue Factor</i>	53
5.4.3.3 <i>Zytokine</i>	54
5.5 Studienbeschränkungen.....	55
5.5.1 Methodik.....	55
5.5.2 Bearbeitung	55
5.5.3 Durchflußzytometrie und Koaggregate	56
5.5.4 Medikation	57
5.6 Schlußfolgerung	57
6 Zusammenfassung	58
7 Literatur.....	59
8 Abkürzungsverzeichnis.....	78
9 Originalarbeiten.....	80
Lebenslauf	81
Danksagung.....	82

1 Einleitung

1.1 Neue Risikofaktoren der Arteriosklerose

Die koronare Herzerkrankung (KHK) auf dem Boden einer Arteriosklerose ist die häufigste Todesursache in den westlichen Industrienationen. Die klinischen Manifestationen reichen dabei von der klinisch stummen KHK über die chronisch stabile Angina und die instabile Angina pectoris bis hin zum akuten Myokardinfarkt, wobei instabile Angina pectoris, Myokardinfarkt und plötzlicher Herztod zum Begriff des akuten Koronarsyndromes („*acute coronary syndrome*“, ACS) zusammengefaßt werden.

Als klassische Risikofaktoren für die Entstehung von Arteriosklerose und eines akuten Koronarsyndromes sind seit langem neben männlichem Geschlecht, familiärer Belastung und Lebensalter u.a. Hypercholesterinämie, Rauchen, arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus bekannt.

Durch große epidemiologische Studien konnten jedoch in den letzten Jahren und Jahrzehnten auch einige neue Risikofaktoren identifiziert werden. Darunter befinden sich neben unspezifischen Entzündungsparametern wie Leukozytenzahl, C-reaktives Protein (CRP) und Fibrinogen auch spezifische serologische Marker bakterieller und viraler Entzündungen (34, 114, 16, 67, 17, 5). Dabei können diese Parameter nicht nur als Risikofaktor für die Entwicklung akuter Koronarsyndrome herangezogen werden, sondern das Ausmaß der Entzündungsaktivität bestimmt auch das klinische Ergebnis (25, 6, 139).

Beispielsweise konnte durch eine antibiotische Behandlung gegen *Chlamydia pneumoniae*, ein Erreger, der im Verdacht steht, Entzündungsvorgänge in der Gefäßwand auszulösen bzw. zu unterhalten, die Restenoserate durch Neointimaproliferation nach Stentimplantation bei Patienten, die einen hohen Antikörpertiter gegen diesen Erreger aufwiesen, gesenkt werden (96).

Durch diese Erkenntnisse wandelte sich die pathogenetische Vorstellung von Arteriosklerose als Folge einer mehr mechanischen Ablagerung von Cholesterin an der Gefäßwand hin zu einem komplexen immunologischen Geschehen, in dem Entzündungsvorgänge von Anfang an eine wesentliche Rolle spielen (115).

1.2 Aufbau des Immunsystems

Normalerweise helfen diese Entzündungsvorgänge dabei, Krankheitserreger oder Fremdkörper aus dem Körper zu eliminieren und die Integrität und Funktions- bzw. Lebensfähigkeit des Organismus aufrecht zu erhalten. Dazu hat der Mensch im Laufe der Evolution ein aus einem komplizierten Netzwerk aus ineinandergreifenden Systemen bestehendes Immunsystem entwickelt.

Dabei unterteilt sich das Immunsystem im Wesentlichen in zwei Teile, ein angeborenes oder unspezifisches Immunsystem und ein spezifisches, erworbenes Immunsystem. Zu letzterem zählen neben den primären und sekundären lymphatischen Organen die Lymphozyten sowie einige akzessorische Zellen wie Monozyten, Makrophagen und Neutrophile. Allerdings sind die beiden Teile des Immunsystems sehr eng miteinander verbunden und können nicht streng voneinander getrennt werden.

1.2.1 Bedeutung von T-Lymphozyten

Die Lymphozyten werden anhand von verschiedenen Oberflächenantigenen, ihrer Funktion und dem Ort ihrer Entwicklung in B- und T-Lymphozyten unterteilt.

B-Lymphozyten als Teil des humoralen Immunsystems produzieren lösliche Antikörper gegen körperfremde Proteine. Die Hauptaufgabe von T-Lymphozyten ist dagegen die Vermittlung der zellulären Immunantwort. Durch ihren T-Zell-Rezeptor ("*T-cell receptor*", TCR) können die T-Zellen dabei körperfremde Proteine (Antigene) in praktisch unbegrenzter Zahl erkennen. Allerdings werden keine löslichen Antigene erkannt, sondern nur

Antigene, die von anderen Zellen (antigen-präsentierende Zellen, APC) präsentiert werden. Weitere Funktionen der T-Lymphozyten umfassen die Regulierung der Immunantwort und die Induktion der Antikörperproduktion durch B-Zellen.

T-Lymphozyten werden weiter in T-Helfer-Zellen und in zytotoxische T-Zellen unterteilt. Die T-Helfer-Zellen werden wiederum in mindestens zwei weitere Untergruppen, die Th1- und die Th2-Zellen, unterteilt. Diese unterscheiden sich insbesondere durch die von ihnen sezernierten Zytokine. Durch die Verwendung von Oligonucleotid-Microarrays gelang jedoch auch der Nachweis einer unterschiedlichen Genexpression einer großen Anzahl verschiedener anderer Zellprodukte der Th1- und Th2-Zellen, wie Transkriptionsfaktoren, Interleukin-Rezeptoren und Chemokin-Rezeptoren (46, 101). Das wichtigste von Th1-Zellen produzierte Zytokin ist das pro-inflammatorische Zytokin Interferon-(IFN)- γ , während die Th2-Zellen als wichtigstes Zytokin das anti-inflammatorische Zytokin Interleukin-(IL)-4 sezernieren. (1 (S.271), 46, 47).

1.2.2 Bedeutung von Monozyten

Monozyten sind Zellen des mononukleären phagozytären Systems, das insbesondere für die Antigen-Präsentation zuständig ist (1 (S.223)). Sie sind die ersten Zellen dieses Systems, die aus dem Knochenmark in das periphere Blut gelangen. Von dort wandern sie in verschiedene Gewebe ein, differenzieren sich dort und reifen zu Makrophagen.

Makrophagen wiederum sind schließlich neben der Produktion von Zytokinen und der Reparatur geschädigten Gewebes u.a. für die Phagozytose von Zellresten und von Viren und Bakterien zuständig. Sie werden dabei über einen sich selbst verstärkenden Rückkopplungsmechanismus durch antigen-stimulierte T-Lymphozyten aktiviert, d.h. durch die Aktivierung der Makrophagen werden T-Zellen aktiviert, was wiederum zu einer verstärkten Makrophagenaktivität führt.

1.3 Tissue Factor

Eine weitere sehr wichtige Eigenschaft der mononukleären Zellen wie Monozyten und Makrophagen ist auch die Fähigkeit nach Aktivierung Tissue Factor (Gewebsthromboplastin) zu exprimieren.

Tissue Factor ist der Initiator der extrinsischen Gerinnungskaskade. Er aktiviert Faktor VII zu VIIa, bildet mit diesem einen Komplex und aktiviert so Faktor IX und X zu IXa bzw. Xa. Faktor Xa wandelt Prothrombin in Thrombin um. Thrombin verstärkt diese Aktivierungsvorgänge noch, und letztendlich kommt es über die Spaltung von Fibrinogen und die Bildung von Fibrin zu einem Thrombus (12, 82, 73). Abbildung 1 zeigt schematisch die Gerinnungskaskade und die Beteiligung von Tissue Factor.

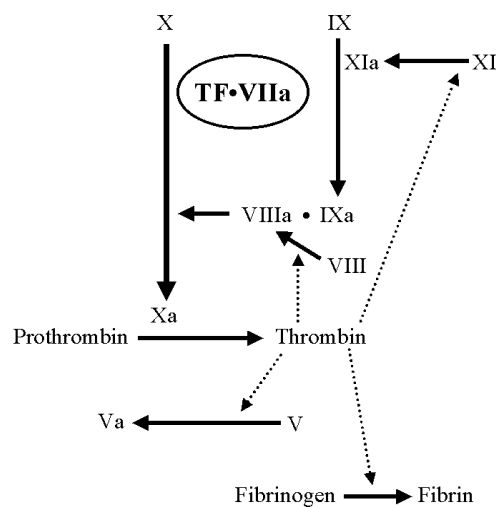


Abbildung 1: Gerinnungskaskade. Der Tissue Factor-Faktor VIIa-Komplex führt zur Aktivierung von Faktor Xa. Dieser führt zur Bildung von Thrombin. Thrombin aktiviert wiederum Faktor XI zu XIa, Faktor V zu Va sowie Faktor VIII zu VIIIa. Diese Schritte führen zur weiteren Bildung von Faktor Xa und über Thrombin schließlich zu Fibrin. [Abbildung modifiziert nach (82)].

Im nicht-aktivierten Zustand wird Tissue Factor von mononukleären Zellen nur in äußerst geringem Umfang exprimiert (103), jedoch gibt es viele Agonisten, u.a. bakterielles Lipopolysaccharid (LPS), aktivierter Komp-

lementfaktor C5a, CRP und Tumorzellen, die zu einer vermehrten Tissue Factor-Expression führen können (72, 93). Auch T-Lymphozyten können zu einer vermehrten Tissue Factor-Expression auf Monozyten beitragen (31).

1.4 Die Entwicklung arteriosklerotischer Plaques

Monozyten und T-Lymphozyten spielen eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der Arteriosklerose. Sie sind in allen Entwicklungsstadien eines arteriosklerotischen Plaques vom Beginn der Erkrankung bis hin zur Ruptur eines Plaques nachgewiesen worden (56, 120, 115).

So wandern Monozyten in die Gefäßintima ein und reifen dort zu Makrophagen heran, die in der Intima abgelagerte Lipide modifizieren und phagozytieren. Dadurch werden die Makrophagen zu Schaumzellen ("*foam cells*"), deren mikroskopische Anhäufung in der Intima das Stadium I der Arteriosklerose definiert, den "*fatty streak*", das bereits im Kindes- und Jugendalter zu finden ist (56).

Durch die Sekretion von Zytokinen und Wachstumsfaktoren durch Leukozyten und Endothelzellen kommt es zur Proliferation von glatten Muskelzellen und zu einer Verstärkung der Leukozyten-Rekrutierung. Es kommt zur weiteren intrazellulären Ansammlung von Lipiden in Makrophagen und glatten Muskelzellen (Stadium II).

Im Zwischenstadium III kommt es zur Bildung von kleinen extrazellulären Fettinseln, die die glatten Muskelzellen auseinander drängen und zu einer Verdickung der Gefäßintima führen. Im Stadium IV konfluieren diese Fettinseln und bilden einen großen fettreichen Lipidkern („*lipid core*“). Es kommt zu einer vermehrten Bildung von Bindegewebe, ohne daß dies allerdings zu einer Einengung des Gefäßlumens durch das arteriosklerotische Plaque führt, da sich das betroffene Gefäß mit der verdickten Gefäßwand nach außen hin verbreitert. Zusätzlich findet man in diesem Stadium eine Infiltration des Plaques durch Entzündungszellen wie Makrophagen, Schaumzellen und T-Lymphozyten.

Das Stadium V ist schließlich gekennzeichnet durch die Bildung von neuem Bindegewebe und einer dadurch entstehenden Verbreiterung des Gewebes zwischen Lipidkern und Endothel. Dieses zusätzliche Gewebe nennt man Faserkappe („*fibrous cap*“) des Plaques. Die arteriosklerotischen Plaques entwickeln sich dabei über viele Jahrzehnte und können auch über Jahre klinisch stumm bleiben (56, 115, 44, 66, 47, 18).

1.5 Leukozyten-Rekrutierung in die Gefäßwand

Wesentlich für die Entstehung der arteriosklerotischen Plaques ist die Rekrutierung von Monozyten und anderen Leukozyten in die Gefäßwand. Dies wird über Adhäsionsmoleküle vermittelt.

Zunächst kommt es dabei zu einem Abbremsen der Leukozyten im Blutstrom durch die Interaktion von Selektinen auf den Endothelzellen mit ihren Liganden auf den Leukozyten. Dies führt dann zu einem Rollen der Leukozyten entlang der Endothelzellen ("*Rolling*"). Die darauffolgende feste Anheftung der Leukozyten an die Endothelzellen wird durch eine Interaktion von Adhäsionsmolekülen auf den Endothelzellen und Integrinen auf den Leukozyten vermittelt. Eines der wichtigsten endothelialen Adhäsionsmoleküle ist dabei ICAM-1, dessen Gegenrezeptor CD11b/CD18 (Mac-1) u.a. auf Monozyten und Lymphozyten exprimiert wird. Nach der festen Anheftung flacht sich die Zelle schließlich ab und wandert in das subendotheliale Gewebe ein (64, 23, 33, 30, 145).

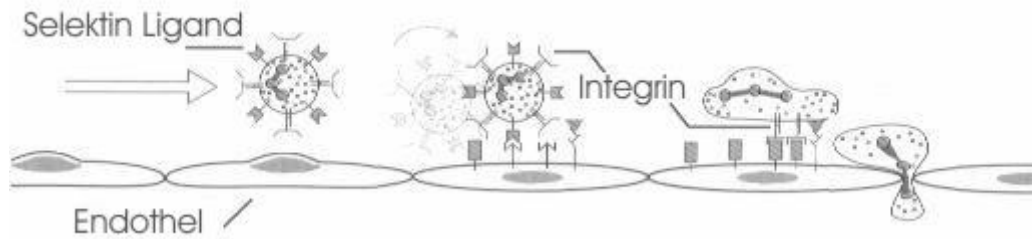


Abbildung 2: Rekrutierung von Leukozyten durch "Rolling" und Transmigration. Nach Interaktion von Selektinen mit ihren Liganden auf den Leukozyten kommt es zu einem Rollen der Leukozyten am Endothel und schließlich zu einer festen Adhäsion. Integrine der Leukozyten wie z.B. CD11b interagieren dabei mit ihren Gegenrezeptoren wie z.B. ICAM-1 und werden aktiviert. Dann flacht sich die Zelle ab und wandert ins subendotheliale Gewebe ein. [Abbildung modifiziert nach (1 (S.259))].

Hohe Scherkräfte, die wesentlich von der Höhe des Druckgradienten abhängen und insbesondere an Verzweigungen des Gefäßbaumes auftreten, an denen es zu turbulenten Strömungen kommt, führen ebenso wie Hypercholesterinämie zu einer vermehrten Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle. Dadurch kann eine direkte Verbindung zwischen diesen zwei Hauptrisikofaktoren der Arteriosklerose und der Ansammlung von Entzündungszellen in der Gefäßwand bzw. in den arteriosklerotischen Plaques hergestellt werden (47).

1.6 Immunprozesse in der Gefäßwand

Bei der Entstehung der Plaques spielen jedoch auch spezifische Immunreaktionen eine Rolle. Hinweise dafür liefern die oben genannten epidemiologischen Studien, die eine Korrelation zwischen Arteriosklerose bzw. akuten Koronarsyndromen und serologischen Markern viraler und bakterieller Entzündungen nachwiesen. Zu den in diesem Zusammenhang diskutierten Erregern zählen verschiedene Viren wie Coxsackie-, Cytomegalie- und Herpes-Viren, Bakterien wie *Helicobacter pylori* oder intrazelluläre Parasiten wie *Chlamydia pneumoniae* (67, 5, 17, 124). Dabei scheint zu gelten, daß je größer die Belastung des Organismus mit Erregern ist ("*infectious burden*"), desto größer das Ausmaß der Arteriosklerose und

desto schlechter die Langzeit-Prognose der betroffenen Patienten (116, 35).

Aber nicht nur körperfremde Antigene können zu einer spezifischen Immunantwort führen. Auch oxidiertes LDL ("*low density lipoprotein*")-Cholesterin und sogenannte Heat-Shock-Proteine, die bei der Proteinfaltung gesunder Zellen eine Rolle spielen und von verletzten Zellen in großen Mengen freigesetzt werden, führen zu einer Antikörperproduktion und einer Immunsystemaktivierung, die möglicherweise zur Entwicklung der arteriosklerotischen Plaques beiträgt (47, 120, 130).

1.7 Plaquedestabilisierung und Plaqueruptur

Von enormer klinischer Bedeutung sind die Mechanismen, die ein über Jahre stabiles arteriosklerotisches Plaque in ein ruptur-gefährdetes Plaque verwandeln (4). Zu den ruptur-gefährdeten Plaques zählen insbesondere Plaques des Stadiums V, aber auch des Stadiums IV. Durch eine Ruptur, eine oberflächliche Fissur oder ein Einbluten in das Plaque (Stadium VI, „*complicated lesion*“), kommt es zu einem direkten Kontakt des Blutstroms mit den unter der Faserkappe liegenden stark pro-koagulatorischen Faktoren wie Kollagen, von-Willebrand-Faktor und insbesondere auch Gewebsthromboplastin („*tissue factor*“, TF), wodurch es zu einer Aktivierung der Gerinnungskaskade (12, 72, 87, 138) und durch die Bildung eines Thrombus zu einem Verschluss des Gefäßes und einer Ischämie des gefäßabhängigen Gewebes kommt (57, 9, 66, 115).

Zu diesen destabilisierenden Mechanismen zählen neben den physikalischen Kräften, die durch die Strömungsgeschwindigkeit des Blutes, den Gefäßdurchmesser und die Elastizität der Gefäßwand bestimmt werden (56, 7) u.a. die Sezernierung von Matrix-Metalloproteinasen durch Makrophagen (9, 132, 19) und möglicherweise auch das Einwachsen neuer Kapillaren (Angiogenese) in das Plaque (66, 18).

Der entscheidende Punkt scheint aber die Aktivität der Entzündungszellen im arteriosklerotischen Plaque zu sein. So finden sich an der besonders

ruptur-gefährdeten Stelle eines Plaques, der sogenannten Schulterregion, besonders viele, teils aktivierte, Entzündungszellen, darunter u.a. Makrophagen, T-Lymphozyten und Mastzellen (141, 44, 66, 87, 142, 143, 48).

1.8 Akutes Koronarsyndrom und Rekanalisation

Ist der gebildete Thrombus groß genug und kann von den endogenen thrombolytischen Faktoren nicht wieder aufgelöst werden, kommt es zu einer Minderperfusion des abhängigen Areals. Dadurch wird das betroffene Gewebe ischämisch und - bei Überschreiten der Ischämietoleranz des Myokards von etwa 20 bis 30 Minuten – nekrotisch. Es kommt zur Ausbildung eines akuten Myokardinfarktes (44, 141, 50).

Die einzige Möglichkeit, eine Nekrose des betroffenen Gewebes zu verhindern bzw. das betroffene Areal möglichst klein zu halten und so die Herzfunktion bestmöglich zu erhalten, ist die schnelle Rekanalisierung des betroffenen Blutgefäßes. Dafür stehen seit Ende des 20. Jahrhunderts die medikamentöse Auflösung des Thrombus (Thrombolyse) und die mechanische Aufdehnung des Gefäßabschnitts per Ballondilatation (PTCA) sowie die Implantation eines Stents zur Verfügung.

1.9 Reperfusionsschaden

Bald stellte man aber fest, daß es trotz rechtzeitiger Wiederherstellung der Sauerstoffzufuhr sogar noch zu einer Zunahme des Gewebeschadens, dem sogenannten Reperfusionsschaden, kommen kann.

Durch den Mangel an Sauerstoff verliert die Zelle ihre Fähigkeit Adenosin-triphosphat (ATP) zu synthetisieren und kann deshalb schließlich das Gleichgewicht zwischen intra- und extrazellulärem Raum nicht mehr aufrecht erhalten. Es kommt zu einem Verlust von wichtigen Ionen und Enzymen in den Extrazellulärraum ("*cellular leakage*"), während andererseits Calcium, Ionen und freies Wasser in die Zelle strömen und so zur Schwellung der Zelle führen. Während der Ischämie kommt es außerdem zur Bildung von hochreaktiven freien Sauerstoffradikalen (144).

Wird jetzt das verschlossene Koronargefäß rekanalisiert, kommt es durch den Blutfluss zu einem Auswaschen wichtiger Enzyme und durch den gestörten Calciumstoffwechsel zu einem Verlust der Kontraktilität des Myokards und möglicherweise zu lebensgefährlichen Herzrhythmusstörungen.

Außerdem können die schwer geschädigten Zellen den jetzt wieder vorhandenen Sauerstoff nicht mehr verarbeiten, wodurch noch mehr freie Sauerstoffradikale gebildet werden. Dies setzt durch Komplementaktivierung und Zytokine eine Entzündungskaskade in Gang, wodurch es zu einer Aktivierung von Leukozyten, zur Infiltration des Gewebes u.a. durch Neutrophile, zu einem Ödem des betroffenen Gewebes, zu Schäden an den kleinen Blutgefäßen und zu einer Verstopfung der Mikrozirkulation durch Thrombozyten und Leukozyten ("*microvascular plugging*") kommt.

Das bedeutet, daß das Gewebe trotz des wiederhergestellten Blutflusses in der Koronararterie nicht von der Sauerstoffzufuhr profitiert, was als „Low“ bzw. "No Reflow“-Phänomen bezeichnet wird (144, 37, 33, 54). Dies tritt bei etwa einem Drittel der primär mit PTCA behandelten Patienten mit akutem Myokardinfarkt auf (112, 15). Die Infiltration der Neutrophilen in das Myokard wird dabei durch Adhäsionsmoleküle vermittelt. Wesentlich ist dabei die Interaktion von CD11b mit ICAM-1 (54, 80, 147).

1.10 Monozyten im akuten Koronarsyndrom

Eine wichtige Rolle in der Pathogenese von akuten Koronarsyndromen spielen Monozyten. Diese können, insbesondere wenn sie aktiviert werden, vermehrt Tissue Factor exprimieren und so zu einem Anstieg der prokoagulatorischen Aktivität („*pro-coagulant activity*“, PCA) führen. Eine Aktivierung von Monozyten bei akuten Koronarsyndromen konnte in einigen Studien nachgewiesen werden (62, 55, 70, 94, 74, 148).

So fand sich bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt eine gesteigerte PCA (106, 38), die auf die wenige Tage nach Infarktereignis nachweisbare gesteigerte Tissue Factor-Expression von Monozyten zurückgeführt wurde

(61, 104). Allerdings konnte eine gesteigerte monozytäre Tissue Factor-Expression direkt bei Aufnahme ins Krankenhaus wegen eines akuten Koronarsyndromes nur bei Patienten mit instabiler Angina nachgewiesen werden, nicht jedoch bei Patienten mit Myokardinfarkt (55).

Neben dem Nachweis einer vermehrten Tissue Factor-Expression und des Anstiegs der PCA konnte auch eine vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen auf Monozyten im Verlauf eines akuten Myokardinfarktes demonstriert werden (83, 106). Eines der dabei vermehrt exprimierten Adhäsionsmoleküle ist CD11b.

1.10.1 CD11b

CD11b ist ein β_2 -Integrin, das insbesondere auf Monozyten und neutrophilen Granulozyten exprimiert wird und wesentlich die Adhäsivität der Zelle bestimmt. Der wichtigste Ligand ist ICAM-1, das u.a. auf Endothelzellen exprimiert wird. Die Interaktion zwischen CD11b und ICAM-1 ist wesentlich an den bereits oben geschilderten Vorgängen beteiligt, durch die es zur Adhäsion der Monozyten und neutrophilen Granulozyten an Endothelzellen und schließlich zur Transmigration ins subendotheliale Gewebe kommt (132, 7, 23, 144).

Eine weitere wichtige Rolle dieser Interaktion betrifft die Thrombogenität des Endothels. Nach der Bindung von Monozyten an Endothelzellen über diese Rezeptoren kommt es nämlich, vermutlich über die Sekretion von IL-1 β und TNF- α durch Monozyten, zu einer gesteigerten Tissue-Factor-Expression auf den Endothelzellen. Durch die Gabe eines monoklonalen blockierenden Antikörpers gegen CD11b konnte in einem *in vitro*-Modell der Monozyten-Endothelzell-Interaktion eine Reduktion der IL-1 β - und TNF- α -Serumkonzentrationen und im folgenden auch eine verminderte Tissue Factor-Expression gezeigt werden (72).

Über diesen Mechanismus könnten Zustände, in denen die Monozyten-Endothelzell-Bindung, z.B. durch Verlangsamung oder Reduktion des Blut-

flusses, erleichtert ist, über eine vermehrte endotheliale Tissue Factor-Expression zur Thrombusbildung führen (72, 103).

Zusätzlich zu diesen Effekten auf das Endothel kann CD11b auch Fibrinogen binden und den Gerinnungsfaktor Faktor X zu Faktor Xa aktivieren. Damit trägt CD11b auch direkt zu einer weiteren Steigerung der pro-koagulatorischen Aktivität bei (3). Da die Expression von CD11b durch Aktivierung gesteigert werden kann, wird es auch als intravaskulärer Aktivierungsparameter verwendet (86).

1.11 T-Lymphozyten im akuten Koronarsyndrom

T-Lymphozyten sind in allen Phasen der Entstehung von arteriosklerotischen Plaques nachweisbar (120). In ruptur-gefährdeten Plaques findet sich jedoch an der besonders gefährdeten Stelle, der Schulterregion, eine erhöhte Aktivität und Anzahl von T-Lymphozyten (22, 87, 142, 143, 48), so daß aktivierte T-Lymphozyten wahrscheinlich zu einer Destabilisierung des Plaques beitragen.

Der größte Teil der T-Zellen, die in arteriosklerotischen Läsionen zu finden sind, stammen dabei aus der Untergruppe der Th1-Zellen (40). Diese sezernieren verschiedene pro-inflammatorische Zytokine wie IFN- γ , IL-2 und Tumor-Nekrose-Faktor-(TNF)- α , wodurch es zu einer Aktivierung von Makrophagen kommt, die ihrerseits durch die Sekretion von Matrix-Metalloproteinasen zur Destabilisierung von Plaques beitragen (66, 111, 18, 19). IFN- γ hemmt außerdem die Produktion von Kollagen durch glatte Muskelzellen, wodurch es zu einer Reduktion der Faserkappe kommen kann (47).

Im Gegensatz dazu sezernieren Th2-Zellen u.a. die gegen IFN- γ antagonistisch wirkenden Zytokine IL-4 und IL-10, wodurch eine Aktivierung von Makrophagen unterdrückt wird (1 (S.271)). Die von Th2-Zellen sezernierten Zytokine wirken auch auf die monozytäre Tissue Factor-Produktion und die pro-koagulatorische Aktivität inhibierend, während Th1-Zellen diese steigern können (26).

Da T-Lymphozyten eine wesentliche Rolle in der spezifischen Immunantwort und damit in der Abwehr erregerbedingter Infektionen spielen, wurde vermutet, daß die Aktivierung von T-Lymphozyten in den arteriosklerotischen Plaques die in epidemiologischen Studien erkannte Verbindung zwischen Infektion und Arteriosklerose darstellt (67, 16).

Während eine Aktivierung von T-Lymphozyten lokal im arteriosklerotischen Plaque eindeutig nachgewiesen werden konnte, ist die Datenlage bezüglich des systemischen Nachweises aktivierter T-Lymphozyten bei akuten Koronarsyndromen jedoch widersprüchlich. Während einige Arbeitsgruppen eine systemische Aktivierung von T-Lymphozyten anhand löslicher Faktoren wie IFN- γ und sIL-2R zeigten und diese sogar als Auslöser von Episoden von instabiler Angina vermuteten (94, 128, 102, 69), konnten andere Arbeiten eine Aktivierung von T-Lymphozyten anhand dieser löslichen Faktoren und anhand von Verschiebungen der Zusammensetzung des T-Lymphozyten-Pools nur bei Patienten mit stabiler Angina pectoris belegen und diese Aktivierung auch mit einer besseren Prognose nach PTCA korrelieren (11, 10, 126, 133). Neben den technischen Schwierigkeiten, die mit der Messung dieser löslichen Faktoren verbunden sind, sind sicherlich auch die unterschiedlichen Einschlusskriterien, insbesondere die Wahl des Zeitpunktes bzw. des Zeitrahmens der Blutabnahmen und die Auswahl der Studienpatienten, als Ursachen für die unterschiedlichen Ergebnisse dieser Studien anzusehen.

1.11.1 CD69

CD69, ein Typ II-Membranprotein mit C-Typ-Lectindomäne, gilt als der am frühesten nachweisbare Aktivierungsparameter von Leukozyten. Bereits 3 Stunden nach Aktivierung kommt es zu einer maximalen Expression der mRNA von CD69, die nach 8 Stunden wieder auf den Ausgangswert abgefallen ist (118).

Da bisher kein spezifischer Ligand für CD69 gefunden wurde, ist die Funktion von CD69 *in vivo* nicht endgültig geklärt. Allerdings werden CD69 neben der Eigenschaft als Aktivierungsparameter auch verschiedene

zelluläre Funktionen zugeschrieben, darunter die Beteiligung bei frühen Aktivierungsschritten von Lymphozyten, Monozyten und Thrombozyten und bei Calcium-Einstrom und Zytokinsynthese in T-Lymphozyten (77, 136).

1.11.2 CD2

Ein weiteres Oberflächenprotein ist der Rezeptor CD2. Er gehört zur Immunglobulin-Superfamilie und wird u.a. auf Natural Killer (NK)-Zellen und praktisch allen peripheren T-Zellen exprimiert. CD2 spielt eine Schlüsselrolle bei vielen wichtigen zellulären Vorgängen.

So führt die Interaktion von CD2 mit dem Gegenrezeptor CD58 (LFA-3, "*leukocyte function-associated antigen-3*"), der strukturell CD2 sehr ähnlich ist und u.a. auch auf Monozyten und Endothelzellen exprimiert wird, zu einer vermehrten Zell-Zell-Adhäsion (110, 20, 140, 28). Dieser Mechanismus spielt eine wichtige Rolle u.a. bei der Erkennung von Antigenen durch Anheftung der CD4-positiven T-Helfer-Lymphozyten an Antigen-präsentierende Zellen und von CD8-positiven zytotoxischen T-Lymphozyten an ihre Zielzellen (21, 140, 1 (S.153), 52, 129).

Blockende monoklonale Antikörper gegen CD2 führen dagegen zu einer Verminderung der Koaggregate-Bildung zwischen T-Lymphozyten und LFA-3-exprimierenden Zellen und zu einer Abschwächung der Aktivität zytotoxischer Lymphozyten und antigen-abhängiger T-Helfer-Zellen (59, 29).

Abbildung 3 zeigt die Beteiligung von CD2 und LFA-3 an der Adhäsion von T-Lymphozyten an antigen-präsentierende Zellen bzw. an die Zielzellen.

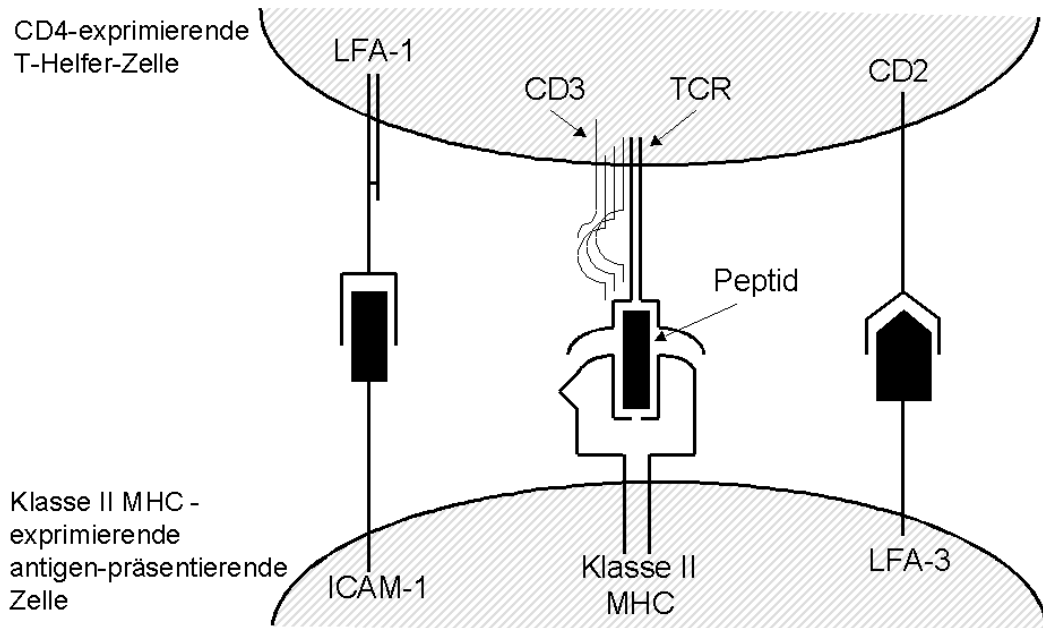


Abbildung 3: Beteiligung von CD2 an der Antigenerkennung durch T-Zellen über den TCR/CD3-Komplex. Beim Kontakt zwischen einer CD4⁺ T-Zelle und einer APC sind verschiedene Oberflächenproteine beteiligt. Einige dieser Proteininteraktionen führen zur Zell-Adhäsion (z.B. zwischen LFA-1 und ICAM-1 oder CD2 und LFA-3), andere liefern kostimulatorische Signale. MHC="major histocompatibility complex". [Abbildung modifiziert nach 1 (S.153)].

1.12 Thrombozyten-Monozyten-Koaggregate

Neben den Monozyten und den T-Lymphozyten kommt auch den Thrombozyten in der Pathogenese akuter Koronarsyndrome eine wichtige Rolle zu. Viele Studien bestätigen eine Aktivierung von Thrombozyten während akuter Koronarsyndrome und aktivierte Thrombozyten konnten auch direkt im okkludierenden Thrombus des betroffenen Gefäßes nachgewiesen werden (137).

So können aktivierte Thrombozyten auch an zirkulierende Leukozyten adhären und mit diesen Leukozyten Koaggregate bilden. Die Adhäsion der Thrombozyten kann dann - u.a. durch die Sekretion von Zytokinen - zur Aktivierung der Leukozyten beitragen.

So wurde eine vermehrte Bildung von Koaggregaten zwischen Thrombozyten und Neutrophilen bei akuten Koronarsyndromen nachgewiesen (86, 105) und mit einem schlechteren klinischen Langzeitergebnis korreliert

(86). Auch zwischen Thrombozyten und Monozyten konnte eine vermehrte Koaggregatbildung bei akuten Koronarsyndromen demonstriert werden (84, 119, 41, 97). Möglicherweise stellen diese Thrombozyten-Monozyten-Koaggregate sogar einen frühen Marker für die Diagnose eines akuten Myokardinfarktes dar (41).

Es wurde spekuliert, daß diese Koaggregate den ersten Schritt der Phagozytose von "verbrauchten" Thrombozyten durch monozytäre Zellen darstellen. Diese Phagozytose führt *in vitro* auch bei Fehlen einer Hyperlipidämie zur Bildung von Schaumzellen, die wiederum eine Schlüsselrolle in der Entstehung arteriosklerotischer Veränderungen spielen, so daß sich so möglicherweise eine Verbindung zwischen Thrombosebildung bzw. Thrombozytenverbrauch einerseits und der Bildung von arteriosklerotischen Plaques andererseits ergibt (39).

Ein weiterer Aspekt ist, daß es über die Interaktion mit P-Selektin auf den aktivierten Thrombozyten direkt zu einer vermehrten Tissue Factor-Expression auf Monozyten kommt (13, 72), wodurch die Thrombozyten-Monozyten-Koaggregate direkt zur pro-koagulatorischen Aktivität beitragen könnten.

1.13 Lymphozyten-Monozyten-Koaggregate

Neben den Koaggregaten zwischen Monozyten und Thrombozyten könnten aber auch Koaggregate zwischen Monozyten und Leukozyten zu einer Steigerung der pro-koagulatorischen Aktivität beitragen. Ein Hinweis für die Bedeutung von Lymphozyten auf die PCA ist dabei, daß die bei Patienten mit instabiler Angina pectoris nachgewiesene gesteigerte PCA durch Monozyten *in vitro* sowohl einen direkten Zell-Zell-Kontakt zwischen Monozyten und Lymphozyten als auch eine gemeinsame Inkubation von Monozyten und Lymphozyten für mindestens zwei Stunden erforderte (94). Da einerseits aktivierte Monozyten über die Bildung von Tissue Factor einen wesentlichen Anteil an der PCA von Leukozyten haben und somit ein potentieller Auslöser für thrombotische Ereignisse sind (31, 72), und

andererseits aktivierte T-Lymphozyten eine Rolle bei der Pathogenese von akuten Koronarsyndromen spielen (94, 128, 102, 69, 120, 56), könnte die Koaggregate-Bildung zwischen Monozyten und Lymphozyten eine wichtige Rolle in der Pathogenese von akuten Koronarsyndromen spielen.

2 Zielsetzung der Arbeit

Ziel dieser Arbeit ist es, die Bildung von Koaggregaten zwischen Monozyten und T-Lymphozyten im akuten Myokardinfarkt zu untersuchen und den Zusammenhang zwischen der Koaggregate-Bildung und der Aktivierung der Lymphozyten und Monozyten darzustellen.

Da aktivierte Monozyten Tissue Factor, einen wichtigen Aktivator der Gerinnungskaskade, exprimieren und T-Lymphozyten an der Entstehung akuter Koronarsyndrome beteiligt sind, könnten Koaggregate zwischen Monozyten und Lymphozyten über eine Steigerung der pro-koagulatorischen Aktivität und eine dadurch vermehrte Thrombusbildung eine wichtige Rolle in der Pathogenese akuter Koronarsyndrome spielen.

3 Material und Methoden

3.1 Materialien

Für die Anfärbungen für die Durchflußzytometrie wurden die folgenden monoklonalen Antikörper (mAb) der Firma Immunotech (Marseille, Frankreich) mit dem angegebenen Fluoreszenz-Farbstoff verwendet:

mAb	Klon	Fluoreszenz-Farbstoff
anti-CD3	UCHT1	PE
anti-CD3	UCHT1	CY5
anti-CD2	IE7E8	FITC
anti-CD11b	BEAR1	FITC
anti-CD14	RMO52	CY5
anti-CD69	TP1.55.3	PE

3.2 Methoden und Protokolle

Es wurden 17 Patienten im Alter von 49 bis 87 Jahren (Median 65 Jahre) in die Studie aufgenommen, die auf die kardiologische Wachstation der Technischen Universität München bzw. des Deutschen Herzzentrums München mit der Diagnose eines akuten Myokardinfarktes eingewiesen wurden und dabei folgende Einschlußkriterien erfüllten:

- Einlieferung innerhalb von 12 Stunden nach Auftreten erster Symptome
- mindestens 20 Minuten anhaltende Brustschmerzen
- ST-Segment-Hebung von mindestens 0,1 mV in zwei oder mehr Extremitätenableitungen oder mindestens 0,2mV in zwei oder mehr nebeneinanderliegenden Brustwandableitungen

Bei allen Patienten mit Infarkt wurde eine Koronarangioplastie und eine Stentimplantation der betroffenen Arterie durchgeführt.

Als Kontrollgruppe dienten 20 Patienten, bei denen im Deutschen Herzzentrum München wegen einer stabilen, belastungsabhängigen Angina pectoris nach den Kriterien der Canadian Cardiovascular Society (CCS) Klasse II mit angiographisch gesicherter koronarer Herzkrankheit eine elektive PTCA und eine Stentimplantation der betroffenen Arterie durchgeführt wurde.

Als gesunde Kontrollgruppe dienten 14 Personen des Laborpersonals, die an keiner bekannten immunologischen oder kardiovaskulären Krankheit litten, und mindestens 14 Tage vor Abnahme der Blutproben keine Medikamente eingenommen hatten.

Alle Patienten wurden über die Ziele, die wissenschaftliche Bedeutung und den Ablauf der Studie informiert und gaben ihr Einverständnis.

Als Ausschlusskriterien für die Beteiligung an der Studie sowohl der Patienten- als auch der Kontrollgruppe und der gesunden Kontrollgruppe galten: (1) kardiogener Schock (Links- oder Rechtsherzversagen), (2) Malignom, (3) weniger als 3 Monate zurückliegende Operationen oder Trauma, (4) zerebraler Insult innerhalb der letzten 3 Monate, (5) Einnahme entzündungshemmender Medikamente (Cortison, nichtsteroidale Antiphlogistika) und (6) akute oder chronische Infektionen.

3.3 Studienprotokoll

Alle Referenzpatienten und alle Infarktpatienten erhielten peri-interventionell die gleiche antithrombotische Medikation.

Diese bestand aus der intravenösen Gabe von abciximab 0,25mg/kg als Bolus, danach 10µg/min als kontinuierliche Infusion für 12 Stunden, sowie einem Bolus von 70 U/kg Heparin und 500mg Acetylsalicylsäure intravenös.

Post-interventionell bestand die antithrombotische Medikation für die Dauer der Studie aus 250mg Ticlopidin und 100mg Acetylsalicylsäure einmal täglich.

3.4 Blutentnahmen

Den Patienten wurde zu folgenden Zeitpunkten peripher venöses Blut entnommen:

- direkt nach Aufnahme auf die kardiologische Wachstation
- unmittelbar nach erfolgter Intervention
- nach 24 Stunden (Tag 1)
- nach 48 Stunden (Tag 2)
- nach 96 Stunden (Tag 4)

Bei den Patienten der Kontrollgruppe wurden die 4 Blutabnahmen bis zu Tag 2 durchgeführt, den Gesunden wurde einmal Blut abgenommen.

Zu jedem dieser Zeitpunkte wurden zuerst 10ml venöses Blut mit dem entsprechenden Antikoagulans zur Bestimmung der Routinelaborparameter im hauseigenen klinisch-chemischen Institut abgenommen. Die Routine-Laborparameter umfassten u.a. Blutbild, CK, CK-MB, Troponin I, GOT, LDH, γ -GT, Creatinin, Harnstoff, Harnsäure, Quick-Wert, INR und PTT.

Dann wurde 0,5ml venöses Blut entnommen, das sofort in 1ml CYFIX-Lösung (A.Ruf, Städt.Krankenhaus Karlsruhe) zur Fixierung der Zellen gegeben wurde. Nach genau 10 Minuten wurde diese Probe mit 48,5ml 4°C kaltem PBS ("*phosphate buffered saline*") verdünnt. Dann wurde die Probe im Kühlschrank bei +4°C bis zur Weiterverarbeitung, die innerhalb der nächsten 12 Stunden erfolgte, gelagert.

3.5 Präparation der Proben

Zur Anfärbung der mit CYFIX fixierten Monozyten und T-Lymphozyten mit ihren spezifischen fluoreszenz-markierten Antikörpern wurde im ersten

Schritt die im Kühlschrank gelagerte Probe nach Zentrifugation mit 1000rpm für 20 Minuten und Absaugen des Überstandes in 500µl PBS resuspendiert.

Zu 40µl dieser Resuspension wurden je 5µl des spezifischen FITC-, PE- und CY5-markierten Antikörpers pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert.

Daran anschließend wurden die Erythrozyten mit 500µl des 37°C warmen Lyse-Reagenz (Coulter Electronics, Krefeld) bei einer Einwirkzeit von 70 Sekunden lysiert und die Probe mit 125µl Fixationslösung (ebenfalls Coulter Electronics) fixiert.

Nach einem weiteren Waschschrift mit 3 ml PBS, Zentrifugation mit 1600rpm für 10 Minuten und Absaugen des Überstandes wurde das Pellet in 200µl 1% PFA-Lösung (Paraformaldehyd, Sigma Chemical Co.) resuspendiert und bis zur Durchflußzytometriemessung für maximal 24 Stunden bei 4°C im Dunkeln gelagert.

3.6 Durchflußzytometrie

3.6.1 Grundlagen

Die Proben wurden mittels Durchflußzytometrie analysiert. Die Durchflußzytometrie mit direkter Immunfluoreszenz basiert darauf, daß ein mit einem fluoreszierenden Farbstoff markierter, spezifischer Antikörper nach Inkubation mit Blutzellen an ein bestimmtes Oberflächenmolekül (Antigen) bindet. (Abbildung 4).

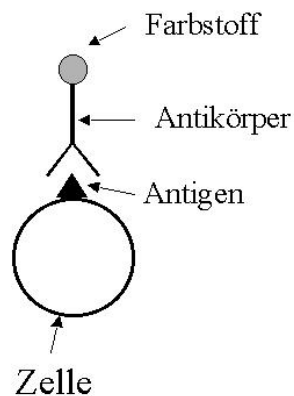


Abbildung 4: Direkte Immunfluoreszenz. Ein mit einem Farbstoff markierter Antikörper bindet an ein bestimmtes Oberflächenmolekül (Antigen) einer Zelle.

Nach Lyse der Erythrozyten und mehreren Waschschrritten wird der entsprechende Farbstoff auf den Zellen in der Zellsuspension mit einem Laser detektiert und die Verteilung des Farbstoffes mit Hilfe einer elektronischen Datenverarbeitungsanlage dargestellt (Abbildung 5).

Da außerdem auch die Größe der Zelle (Forward-Scatter, FSC) und die Streuung des Laserlichts bei Durchtritt durch die Zelle (Sideward-Scatter, SSC) aufgezeichnet wird, kann man durch Kombination dieser Parameter einzelne Zellpopulationen sehr genau charakterisieren.

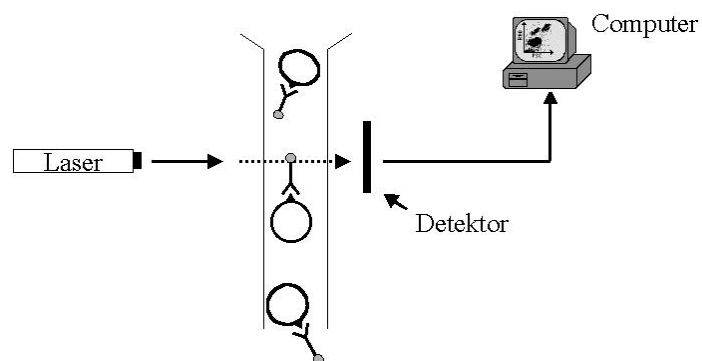


Abbildung 5: Prinzip der Durchflußzytometrie. Der Farbstoff in der Zellsuspension wird von einem Laser detektiert und auf einem Computer dargestellt.

3.6.2 Messung und Auswertung

Für die Analyse der Proben wurden mindestens 2000 Zellen mit einem 15mW 488nm Argon-Ionen-Laser in einem FACScalibur-Durchflußzytometer der Fa. Becton Dickinson (Mountain View, CA, USA) gemessen. Die Fluoreszenzen der FITC-, PE- und CY5-markierten Antikörper wurden bei Wellenlängen von 530nm, 585nm bzw. 650nm auf einer logarithmischen Skala von 1 bis 1026 Kanälen gemessen. Zur Datenanalyse verwendeten wir die Software CellQuest (ebenfalls Becton Dickinson) auf einem Macintosh-Computer.

Die Zellpopulation der Monozyten bzw. der T-Lymphozyten wurde durch das Eingrenzen (Gating) auf die CD14-positiven bzw. CD3-positiven Zellen und anhand des typischen Forward- und Sideward-Scatters (FSC und SSC) identifiziert. Die Koaggregate zwischen Lymphozyten und Monozyten wurden als die sowohl CD14- als auch CD3-positiven Zellen erfaßt und in Abhängigkeit von der Gesamtzahl der CD14-positiven Monozyten in Prozent berechnet.

3.7 Statistik

Zur Bestimmung signifikanter Unterschiede zwischen den Gruppen wurde je nach Anforderung der Whitney-Mann-Wilcoxon-Rangsummen-Test oder Fisher's-exact-Test verwendet. Differenzen zwischen mehr als 2 Proben aus derselben Gruppe wurden zuerst mit dem Friedman-Test und dann mit Wilcoxon's matched-pair signed-rank-Test geprüft. Ein Wert von p kleiner 0,05 im zweiseitigen Test galt als signifikant. In den tabellarischen und graphischen Darstellungen werden die Ergebnisse als Mittelwert \pm Standardfehler (sem) angegeben.

4 Ergebnisse

4.1 Patientencharakteristika

Es wurden 17 Patienten, 6 Frauen und 11 Männer, im Alter von 49 bis 87 Jahren (Median 65,4 Jahre) mit akutem Myokardinfarkt in die Studie aufgenommen. Alle Patienten wiesen in der Angiographie einen vollständigen Verschuß einer Herzkranzarterie auf, der mittels PTCA und Stentimplantation erfolgreich rekanalisiert werden konnte und dann wieder einen Fluß von TIMI Grad 3 (Thrombolysis In Myocardial Infarction Trial) erreichte.

Als Kontrollgruppe dienten 20 Patienten, 15 Männer und 5 Frauen, mit einer stabilen, belastungsabhängigen Angina pectoris CCS Klasse II mit angiographisch gesicherter koronarer 1-Gefäß-Erkrankung, die eine PTCA und Stentimplantation der betroffenen Arterie erhielten.

Die klinischen Daten der Patienten- und der Kontrollgruppe sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. Es wurden (bis auf die maximale Creatinkinase) keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen in Bezug auf Alter, Geschlecht, Risikofaktoren und betroffenes Gefäß gefunden.

Tabelle 1 **Patientendaten**

	Patienten n=17	Kontrollgruppe n=20	P
Alter (Jahre)	65,4	63,7	P=0,66
Range	(49-87)	(31-79)	
Geschlecht (m/w)	11/6	15/5	P=0,51
Risikofaktoren:			
Rauchen	7	10	P=0,51
Hypercholesterinämie	12	15	P=0,58
Hypertonus	14	14	P=0,54
Diabetes mellitus	4	5	P=0,92
maximale CK (U/l)	1512	<80	P<0,0001
Range	(250-3742)		
Betroffenes Gefäß:			
LAD	7	8	P=0,94
LCx	7	7	P=0,71
RCA	3	5	P=0,60

4.2 T-Lymphozytenaktivierung

4.2.1 CD69

In unserer Studie fand sich bei den Patienten mit Myokardinfarkt vor PTCA eine signifikante Steigerung der Expression des Aktivierungsparameters CD69 auf T-Lymphozyten sowohl gegenüber den Patienten mit stabiler Angina pectoris als auch gegenüber der gesunden Kontrollgruppe. Im weiteren Verlauf kam es bei den Infarktpatienten 48 Stunden und 96 Stunden nach erfolgreicher PTCA und Stentimplantation zu einer signifikanten Reduktion der anti-CD69-Fluoreszenz.

So wiesen die Patienten mit akutem Herzinfarkt direkt vor der PTCA eine mittlere anti-CD69-Fluoreszenz von $99,9 \pm 17,3$ auf, die Patienten mit stabiler Angina pectoris dagegen $49,0 \pm 7,1$ (-51,0%; $P=0,03$) und die gesunde Kontrollgruppe von $48,3 \pm 5,5$ (-51,6%; $P=0,03$).

Im weiteren Verlauf nach Intervention fielen die Fluoreszenz-Meßwerte in der Gruppe der Myokardinfarktpatienten signifikant auf $61,2 \pm 13,6$ nach 48 Stunden (-38,8%; $P=0,04$) und $62,7 \pm 5,6$ nach 96 Stunden (-37,3%; $P=0,04$). (Abbildung 6).

In der Kontrollgruppe fand sich im Verlauf keine signifikante Änderung der mittleren anti-CD69-Fluoreszenz.

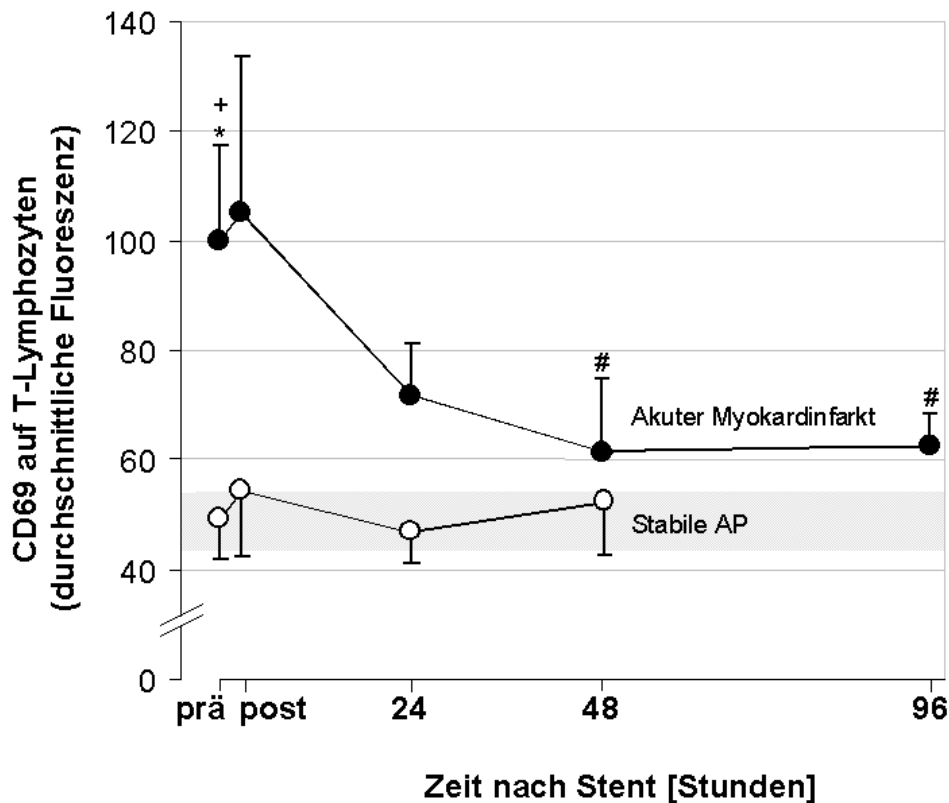


Abbildung 6: Verlauf der mittleren anti-CD69-Fluoreszenz auf T-Lymphozyten. Patienten mit Myokardinfarkt im Verlauf vor und nach PTCA und Stentimplantation. * P=0,03 im Vergleich zur Kontrollgruppe. + P=0,03 im Vergleich zu den Gesunden. # P=0,04 im Vergleich zur anti-CD69-Fluoreszenz bei Aufnahme. Grauer Balken entspricht Gesunde \pm sem.

4.2.2 CD2

Bei den Infarktpatienten fand sich bei Aufnahme eine signifikant erhöhte anti-CD2-Fluoreszenz sowohl gegenüber der Kontrollgruppe als auch gegenüber den Gesunden. Im weiteren Verlauf fiel dieser Wert signifikant unterhalb das Niveau der Kontrollgruppe.

So zeigten die Infarktpatienten direkt vor der PTCA eine signifikant erhöhte mittlere anti-CD2-Fluoreszenz von $101,4 \pm 0,5$ gegenüber den Patienten mit stabiler Angina pectoris ($76,9 \pm 4,8$; -24,2%; P=0,04) und der gesunden Kontrollgruppe ($74,8 \pm 4,0$; -26,2%; P=0,02).

Im weiteren Verlauf fand sich ein signifikanter Abfall der mittleren anti-CD2-Fluoreszenz auf T-Lymphozyten der Infarktpatienten von $101,4 \pm 0,5$ vor

PTCA über $78,2 \pm 8,9$ (-22,9%; $P=0,03$) unmittelbar nach Intervention auf minimal $68,6 \pm 5,0$ (-32,3%; $P=0,01$) 24 Stunden nach Intervention. (Abbildung 7).

Im Vergleich zur Kontrollgruppe fand sich eine signifikante Änderung 24 Stunden nach Intervention. Zu diesem Zeitpunkt war die mittlere anti-CD2-Fluoreszenz der T-Lymphozyten der Infarktpatienten 16,8% niedriger als die der Kontrollgruppe ($68,6 \pm 5,0$ vs. $82,4 \pm 3,6$; $P=0,04$).

Im Verlauf fand sich in der Kontrollgruppe keine signifikante Änderung der mittleren anti-CD2-Fluoreszenz.

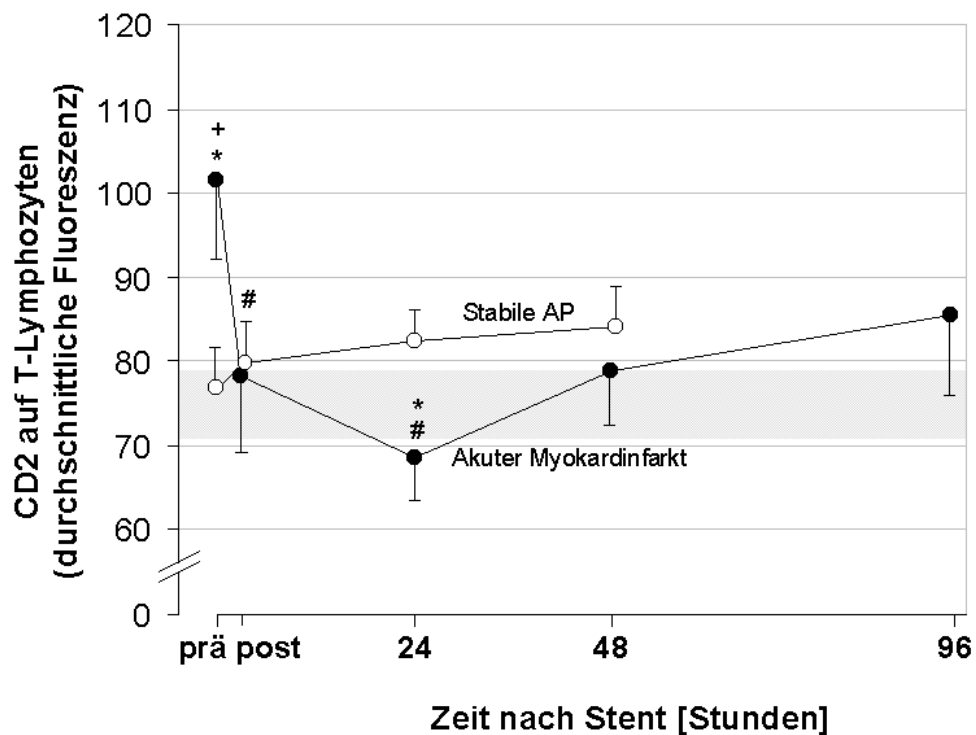


Abbildung 7: Verlauf der mittleren anti-CD2-Fluoreszenz auf T-Lymphozyten. Patienten mit Myokardinfarkt im Verlauf vor und nach PTCA und Stentimplantation. * $P < 0,05$ im Vergleich zur Kontrollgruppe. + $P = 0,02$ im Vergleich zu den Gesunden. # $P < 0,05$ im Vergleich zur anti-CD2-Fluoreszenz bei Aufnahme. Grauer Balken entspricht Gesunde \pm sem.

4.3 Monozyten-Aktivierung

4.3.1 CD11b

Bei den Infarktpatienten kam es 48 Stunden nach Intervention zu einem signifikanten Anstieg der mittleren anti-CD11b-Fluoreszenz. Bei Aufnahme fanden sich keine signifikanten Unterschiede in der mittleren anti-CD11b-Fluoreszenz zwischen den Infarktpatienten, der Kontrollgruppe und den Gesunden.

Im weiteren Verlauf nach Intervention stieg die mittlere anti-CD11b-Fluoreszenz nach 48 Stunden signifikant von $60,5 \pm 5,5$ bei Aufnahme auf $69,8 \pm 5,2$ (+15,5%; $P=0,04$) an (Abbildung 8). Nach 24 Stunden fand sich bereits ein Trend, der jedoch nicht signifikant war ($69,1 \pm 6,1$; +14,4%; $P=0,06$). Im Verlauf fand sich in der Kontrollgruppe keine signifikante Änderung der mittleren anti-CD11b-Fluoreszenz.

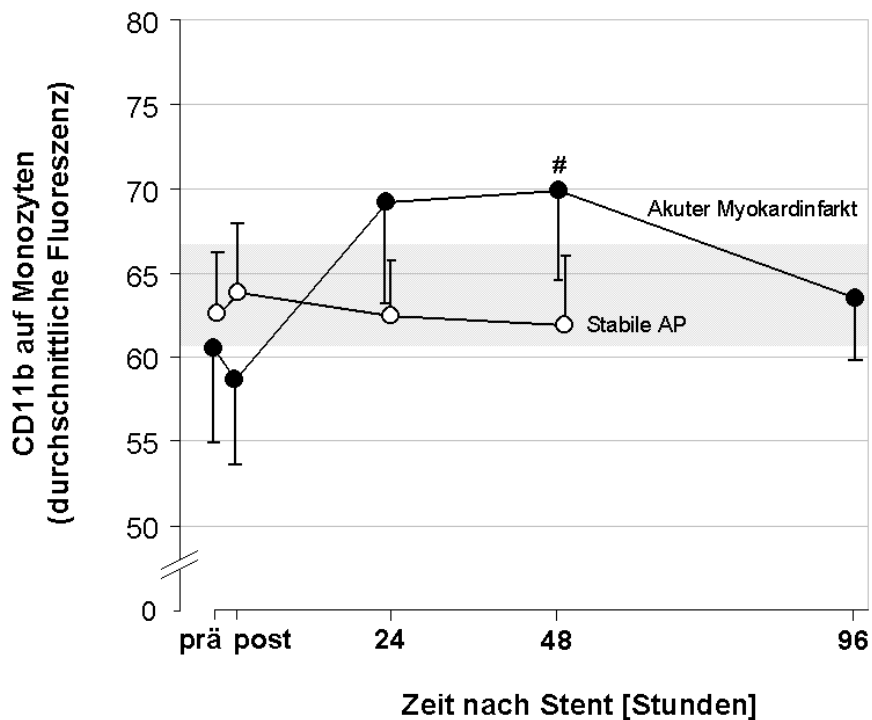


Abbildung 8: Verlauf der mittleren Fluoreszenz von anti-CD11b auf Monozyten. Patienten mit Myokardinfarkt im Verlauf vor und nach PTCA und Stentimplantation. # $P=0,04$ im Vergleich zur anti-CD11b-Fluoreszenz bei Aufnahme. Grauer Balken entspricht Gesunde \pm sem.

4.4 Koaggregate von Monozyten und T-Lymphozyten

In der Gruppe der Infarktpatienten war der prozentuale Anteil der Monozyten-Lymphozyten-Koaggregate an allen Monozyten, also der Anteil der sowohl CD14- als auch CD3-positiven Zellen im Verhältnis zu allen CD14-positiven Zellen, unmittelbar vor Intervention sowohl gegenüber der Kontrollgruppe als auch gegenüber den Gesunden signifikant vermehrt. Im weiteren Verlauf nach 48 Stunden und 96 Stunden nahm dieser Anteil signifikant ab.

So lag der prozentuale Anteil der Koaggregate der Infarktpatienten zum Zeitpunkt der Aufnahme signifikant höher als in der Kontrollgruppe ($3,96\% \pm 0,67$ vs. $2,38\% \pm 0,15$, $P=0,04$). Dieser Anteil war auch gegenüber den Gesunden signifikant erhöht ($3,96\% \pm 0,67$ vs. $1,8\% \pm 0,53$; $P=0,02$) (Abbildung 9).

Während vor Intervention noch $3,96\% \pm 0,67$ aller Monozyten als Koaggregate identifiziert werden konnten, fiel dieser Anteil nach 48 Stunden auf $1,98\% \pm 0,18$ ($-49,9\%$; $P=0,02$) und nach 96 Stunden auf nur noch $1,69\% \pm 0,18$ ($-57,3\%$; $P=0,01$) signifikant ab.

In der Kontrollgruppe konnten nach Intervention keine signifikanten Änderungen in der Anzahl der Koaggregate gefunden werden.

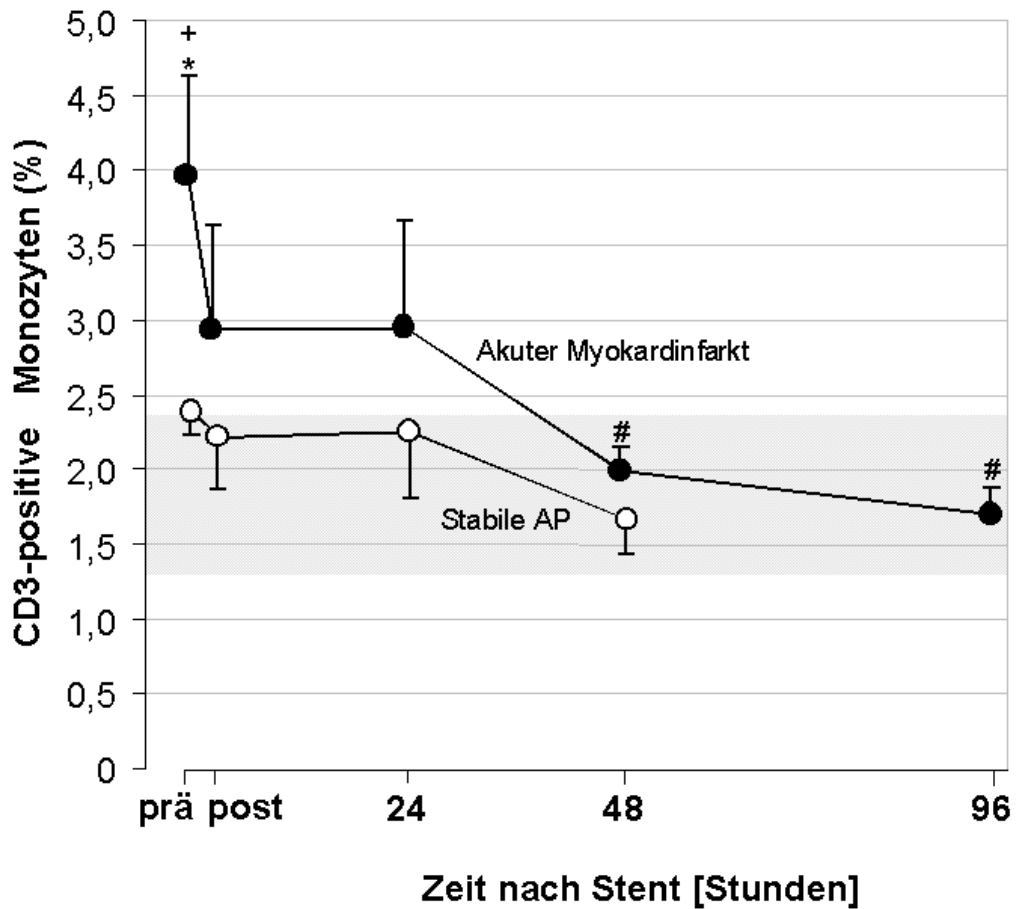


Abbildung 9: Verlauf des prozentualen Anteils von Monozyten-Lymphozyten-Koaggregaten an allen Monozyten. Patienten mit Myokardinfarkt im Verlauf vor und nach PTCA und Stentimplantation. * $P=0,04$ im Vergleich zur Kontrollgruppe. + $P=0,02$ im Vergleich zu den Gesunden. # $P=0,02$ bzw. $P=0,01$ im Vergleich zum Koagregatanteil bei Aufnahme. Grauer Balken entspricht Gesunde \pm sem.

Abbildung 10 zeigt anhand eines exemplarischen Dotplots eines Patienten die deutliche Verringerung der Koagregate 48 Stunden nach PTCA und Stentimplantation im Vergleich zu direkt vor Intervention. Abbildung 11 zeigt die Histogramme des gleichen Patienten, auf denen die Verkleinerung der Population ebenfalls sehr gut zu erkennen ist.

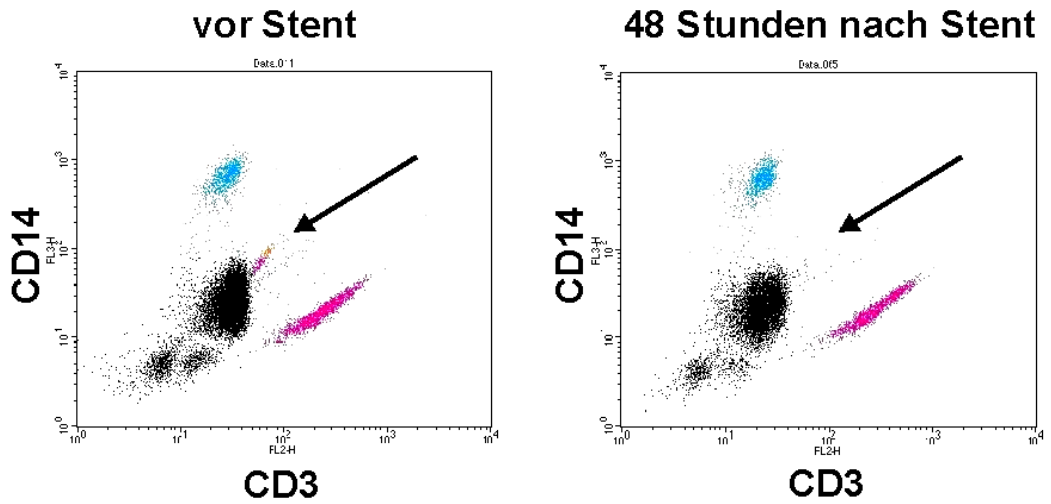


Abbildung 10: Exemplarischer Dotplot eines Patienten: Der Pfeil zeigt auf die Monozyten-Lymphozyten-Koaggregate. Nach 48 Stunden ist diese Zellpopulation nicht mehr erkennbar.

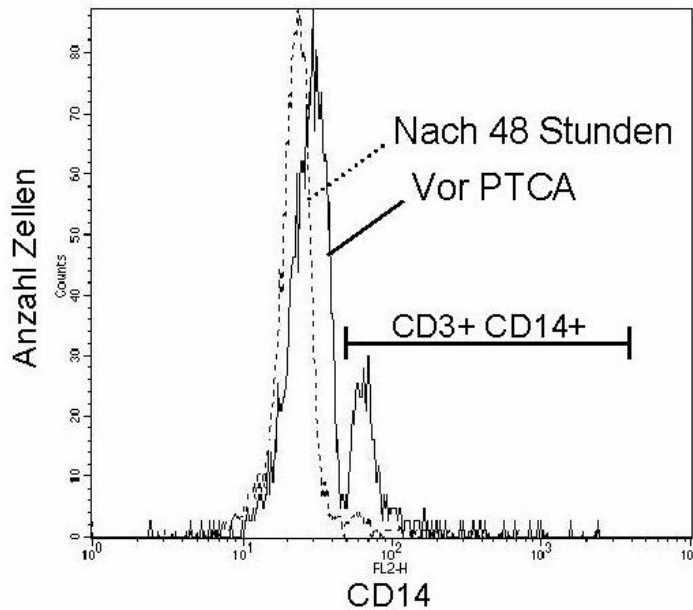


Abbildung 11: Exemplarische Histogramme eines Patienten. Die durchgezogene Linie zeigt die Anzahl aller Monozyten vor PTCA und Stentimplantation, die gestrichelte Linie 48 Stunden nach Intervention. Man erkennt die deutliche Verringerung der Anzahl der unterhalb des mit "CD3+CD14+" beschrifteten Balkens gelegenen Zellen.

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Ergebnisse

Diese Studie zeigt unseres Wissens als erste eine vermehrte Anzahl von Koagregaten zwischen T-Lymphozyten und Monozyten im peripher venösen Blut von Patienten mit akutem Myokardinfarkt.

Mit Hilfe der Durchflußzytometrie wurde gezeigt, daß im akuten Stadium des Myokardinfarktes noch vor Rekanalisation durch PTCA und Stentimplantation etwa 4% der Monozyten Koagregate mit T-Lymphozyten gebildet haben.

Die Anzahl der Koagregate war bei Aufnahme ins Krankenhaus in der Gruppe der Infarktpatienten sowohl gegenüber den Gesunden als auch gegenüber der Referenzgruppe der Patienten mit stabiler Angina pectoris signifikant erhöht und fiel dann 48 Stunden bis 96 Stunden nach Intervention signifikant ab.

Damit verlief die Koagregatebildung zwischen Monozyten und T-Lymphozyten parallel zum Verlauf des Aktivierungszustandes der T-Lymphozyten, der anhand der Aktivierungsparameter CD69 und CD2 charakterisiert wurde und unmittelbar vor PTCA und Stentimplantation am höchsten war. Nach der Intervention kam es dann zu einer Abnahme der Aktivierung der T-Lymphozyten. In der Referenzgruppe der Patienten mit stabiler Angina pectoris fand sich dagegen weder eine signifikante Änderung der Aktivierung der T-Lymphozyten im Vergleich zwischen vor und nach Intervention noch eine signifikante Aktivierung gegenüber den Gesunden.

Zu einer Aktivierung von Monozyten, die anhand der Expression des Adhäsionsmoleküls CD11b bestimmt wurde, kam es dann 24 Stunden bis 48 Stunden nach Infarkt. Eine vermehrte Expression von CD11b war in der Kontrollgruppe nicht nachzuweisen.

5.2 Monozytenaktivierung

5.2.1 Theoretische Grundlagen

Wir untersuchten die Expression des Adhäsionsmoleküls und intravasalen Aktivierungsparameters CD11b (Mac-1) auf Monozyten (86). Aktivierte Monozyten haben wegen ihrer Fähigkeit Tissue Factor, den Initiator der extrinsischen Gerinnungskaskade (12), zu exprimieren, eine große Bedeutung bei thrombotischen Ereignissen bzw. Zuständen, die mit einer erhöhten Thromboseneigung verbunden sind, wie z.B. bei einer Sepsis. Sie tragen durch Tissue Factor wesentlich zur pro-koagulatorischen Aktivität ("*pro-coagulant activity*", PCA) bei (12, 99, 72). So fand sich bei Patienten mit instabiler Angina pectoris eine gesteigerte Thrombinbildung, die auf die Expression von Tissue Factor-ähnlicher Aktivität durch aktivierte Monozyten zurückgeführt wurde (94). Eine gesteigerte PCA fand sich auch nach akutem Myokardinfarkt (106, 38, 131), wofür als Ursache die etwa 48h nach Infarkt ereignis nachweisbare gesteigerte Tissue Factor-Expression der Monozyten vermutet wurde (61, 104).

Der wichtigste Ligand von CD11b ist ICAM-1, das u.a. auf Endothelzellen exprimiert wird. Damit ist CD11b wesentlich für die Adhäsivität der Monozyten verantwortlich. Durch die Adhäsion von Monozyten an Endothelzellen kommt es sowohl zu einer vermehrten Tissue Factor-Expression der Endothelzellen (72) als auch der Monozyten (71). Nach Adhäsion an glatte Muskelzellen konnte *in vitro* sowohl eine Zunahme der PCA als auch der Tissue Factor-mRNA und Tissue Factor-Expression der Monozyten gezeigt werden (76). Insgesamt scheint eine vermehrte CD11b-Expression mit einer vermehrten Tissue Factor-Expression auf Monozyten assoziiert zu sein (86). Zusätzlich steigert CD11b durch die Umwandlung von Gerinnungsfaktor X zu Xa und die Bindung an Fibrinogen möglicherweise auch direkt die pro-koagulatorische Aktivität der Monozyten (3).

Wir wiesen eine vermehrte CD11b-Expression auf den Monozyten der Infarktpatienten etwa 24h bis 48h nach Infarkt ereignis nach. Die Referenzgruppe der Patienten, die wegen stabiler Angina pectoris-Symptomatik elektiv eine Angioplastie und Stentimplantation erhielt, zeigte dem gegenüber nach Intervention keine signifikante Veränderung der CD11b-Expression der Monozyten.

5.2.2 Vergleich mit anderen Studien

Diese Ergebnisse bestätigen die Ergebnisse einer früher durchgeführten Untersuchung. Dort wurde ebenfalls eine signifikant vermehrte Expression von CD11b auf Monozyten von Infarktpatienten 24 Stunden und 48 Stunden nach PTCA gefunden (106). In einer weiteren Studie wurde eine vermehrte CD11b-Expression auf Monozyten und Neutrophilen am vierten Tag nach Myokardinfarkt nachgewiesen (83).

Bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung wurde eine vermehrte Expression von CD11b auf Neutrophilen nach PTCA dokumentiert (53, 98).

Im Gegensatz zu unserer Studie fand Mickelson et al. nach elektiver 1-Gefäß-Angioplastie eine signifikant vermehrte Expression von CD11b auf Neutrophilen und Monozyten. Diese vermehrte Expression konnte dabei auch mit einer Häufung klinischer Ereignisse wie Myokardinfarkt, instabiler Angina pectoris-Symptomatik oder einer Progression der Stenose während des sechsmonatigen Nachsorgezeitraumes korreliert werden (86). Die betroffenen Patienten wiesen auch eine größere Zahl an Koaggregaten zwischen Leukozyten und Thrombozyten auf. Daraus wurde geschlossen, daß die vermehrte CD11b-Expression der Monozyten und die vermehrte Bindung von Thrombozyten an die Monozyten Gründe für das schlechtere klinische Ergebnis dieser Patienten sein könnte (86).

Eine Erklärung für den Unterschied in der CD11b-Expression nach PTCA zwischen unserer Untersuchung und der Untersuchung von Mickelson liegt möglicherweise in der Auswahl der Patienten. So untersuchten Mickelson et al. Patienten, die zwar keinen Hinweis auf einen akuten Myokardinfarkt hatten, sich aber mit zunehmender Angina pectoris-Symptomatik - und da-

mit nach klinischen Kriterien einer instabilen Angina pectoris - vorstellten. Bei Patienten mit instabiler Angina pectoris ist jedoch im Gegensatz zu Patienten mit stabiler Belastungsangina eine vermehrte CD11b-Expression von Monozyten bekannt (79, 24). Wir untersuchten dagegen nur Patienten, die eine stabile Belastungsangina aufwiesen.

5.2.3 Ursachen und Bedeutung der Monozytenaktivierung

5.2.3.1 Interaktion mit aktivierten Thrombozyten

Mehrere Mechanismen können zu der in unserer Untersuchung beobachteten vermehrten CD11b-Expression auf den Monozyten beitragen. Eine Möglichkeit ist die Interaktion der Monozyten mit aktivierten Thrombozyten (100), die bei akuten Koronarsyndromen nachweisbar sind (137). So wurde bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt eine vermehrte Bildung von Koaggregaten zwischen Thrombozyten und Leukozyten bzw. Monozyten nachgewiesen (119, 97, 86, 84).

Der erste Schritt dieser Koagregat-Bildung erfolgt dabei über die Interaktion von P-Selektin, einem Adhäsionsmolekül, das auf aktivierten Thrombozyten exprimiert wird, und dem Gegenrezeptor P-Selektin Glykoprotein Ligand-1 (PSGL-1), der u.a. auch auf Monozyten exprimiert wird (41).

Nach Bindung von P-Selektin an PSGL-1 kommt es dann zu einer Aktivierung von Leukozyten-Proteinkinasen und nachfolgend zu einer Aktivierung von CD11b (36, 109). Im Rahmen dieser Aktivierung kommt es auch zu einer vermehrten Expression von CD11b (105, 100). Durch die Bindung von CD11b an einen - bisher unbekannt - Gegenrezeptor auf den Thrombozyten wird die Adhäsion der Leukozyten an den Thrombozyten dann stabilisiert.

Durch Blockade des Adhäsionsmoleküls Glykoproteins GPIIb/IIIa der Thrombozyten durch einen monoklonalen Antikörper kam es zu einer Reduktion der an Monozyten adhärierenden Thrombozyten und einer Reduktion der CD11b-Expression der Monozyten (100). Auch auf Neutrophilen wurde nach Gabe eines Antikörpers gegen GPIIb/IIIa im

Rahmen einer Koronarangioplastie eine Reduktion der CD11b-Expression beobachtet (85).

5.2.3.2 *Interaktion mit Endothelzellen*

5.2.3.2.1 Mikrozirkulation

Eine weitere Möglichkeit zur Aktivierung der Monozyten ist die Interaktion mit Endothelzellen. So gibt es Hinweise, daß es bei der Passage der Monozyten durch die Mikrozirkulation des Myokards zu einer Aktivierung kommt. Da bei Patienten mit instabiler Angina pectoris die CD11b-Expression auf Monozyten, die aus dem Koronarostium gewonnen wurden, niedriger war als auf Monozyten, die aus dem Koronarsinus gewonnen wurden (24), wurde vermutet, daß die vermehrte CD11b-Expression eine Folge des Kontaktes der Monozyten mit Endothelzellen darstellt (24, 79).

Während bei Patienten mit instabiler Angina pectoris also bereits während der Koronarangiographie gewonnene Monozyten eine vermehrte Expression von CD11b zeigen (24), zeigten unsere Patienten mit gesichertem Myokardinfarkt und anschließender Revaskularisierung durch PTCA und Stentimplantation erst nach 24 Stunden bis 48 Stunden eine Steigerung der CD11b-Expression.

Grund für diese längere Dauer bis zur Nachweisbarkeit der vermehrten CD11b-Expression im peripheren Blut könnte sein, daß es bei Patienten mit akut aufgetretenem Infarkt erst zu Veränderungen am Endothel kommen muß. Dies ist bei Patienten mit instabiler Angina, z.B. wegen der rezidivierenden Phasen der Sauerstoffminderperfusion, bereits geschädigt und von dem normalerweise vorherrschenden anti-thrombotischen Zustand in einen pro-thrombotischen Zustand übergegangen. (91, 89, 7).

Außerdem müssen zum Nachweis einer Aktivierung bei Entnahme von Blut aus einer peripheren Vene im Gegensatz zur Blutentnahme aus dem Koronarsinus bzw. -ostium sehr viel mehr Monozyten diese vermehrte Expression aufweisen, da es zu einem Verdünnungseffekt mit nicht aktivierten Monozyten aus dem übrigen systemischen Kreislauf kommt.

5.2.3.2.2 Tissue Factor-Bildung

Andererseits können Monozyten ihrerseits zur Aktivierung von Endothelzellen beitragen. So werden nach Adhäsion von Monozyten an Endothelzellen über CD11b und ICAM-1 vermehrt die Zytokine Interleukin-(IL)-1 β und Tumor-Nekrose-Faktor-(TNF)- α durch Monozyten gebildet (72). Diese Zytokine führen wiederum zu einer vermehrten Bildung von Tissue Factor auf Endothelzellen und können so zu einer erhöhten Thromboseneigung beitragen (72).

5.2.3.2.3 Reperfusionsschaden

Die große Bedeutung von CD11b zeigt sich auch nach der Reperfusion eines vorher ischämischen Gewebes. Zwar stellt die Reperfusion einer verschlossenen Koronararterie nach Myokardinfarkt die einzige Möglichkeit dar, die nicht mehr mit Sauerstoff versorgten Zellen zu retten und funktionsfähiges Myokard zu erhalten. Dies kann aber durch den sogenannten Reperfusionsschaden auch zu einer Zunahme der Schädigung am Myokard führen (144, 54).

Denn durch die Schädigung der Myozyten und die während der Ischämie gebildeten Stoffwechselprodukte (Komplementfaktoren, Zytokine, freie Sauerstoffradikale) kommt es zu einer Aktivierung von Leukozyten und Endothelzellen und nach Reperfusion zum Einwandern dieser aktivierten Leukozyten in das betroffene Myokard und zu einer massiven Entzündungsreaktion mit deletären Folgen (125, 33, 37, 98).

Außerdem kann es zu einer Verstopfung der Kapillaren durch Neutrophile, Thrombozyten, Monozyten und Fibrin ("microvascular plugging") kommen. Im Extremfall kann dies trotz Revaskularisation der betroffenen Koronararterie die Blut- und Sauerstoffversorgung in der Mikrozirkulation des Myokards völlig verhindern ("No-Reflow"-Phänomen) (112).

An diesen Prozessen ist die über CD11b vermittelte Interaktion von Monozyten und Neutrophilen mit Endothelzellen entscheidend beteiligt (64, 54). Zum einen kommt es nach dem über P-Selektin auf Endothelzellen und

PSGL-1 auf den Leukozyten vermittelten "Rolling" durch die Bindung von CD11b an den Gegenrezeptor ICAM-1 auf den Endothelzellen zu einer festen Bindung der Leukozyten an die Gefäßwand. Dies ermöglicht schließlich die transendotheliale Migration der Leukozyten in das myokardiale Parenchym (64, 33, 144). Bei dieser Interaktion kommt es auch zu einer weiteren Aktivierung der adhärenen Zellen (80).

Zum anderen kann es durch die Bindung des nach Reperfusion - zumindest auf Neutrophilen - vermehrt nachweisbaren CD11b (98, 122) und dem ebenfalls vermehrt exprimierten monozytären ICAM-1 (83) auch durch Quervernetzung zwischen CD11b und ICAM-1 zur Bildung von kleinen Mikrothromben aus Neutrophilen und Monozyten kommen. Diese könnten dann durch Mikroembolisation die Kapillaren verstopfen und zu dem "No Reflow"-Phänomen beitragen (83).

5.2.3.2.4 Instabilität arteriosklerotischer Plaques

Neben den lokalen Prozessen an dem betroffenen Plaque bzw. dem betroffenen Myokard könnte durch eine vermehrte Expression von Adhäsionsmolekülen auf Monozyten auch ein Effekt an anderen Stellen des Gefäßsystems hervorgerufen werden. Die Monozyten könnten sich an die vermehrt ICAM-1 exprimierenden Endothelzellen von arteriosklerotischen Gefäßen und Plaques adhären (7) und so auch in diesen Plaques zur Destabilisierung führen. In der Tat lassen sich bei Patienten mit Myokardinfarkt nicht nur dort, wo die Plaqueruptur oder Plaqueerosion den Infarkt ausgelöst hat, sondern an vielen Stellen im gesamten Koronararteriensystem instabile arteriosklerotische Plaques nachzuweisen (43).

5.2.3.3 *Interaktion mit T-Lymphozyten*

Neben der Aktivierung durch den Kontakt mit anderen Zellen können Monozyten insbesondere auch durch Zytokine stimuliert werden. Einer der stärksten Aktivatoren ist dabei Interferon-(IFN)- γ , das v.a. von aktivierten T-Lymphozyten und Natural-Killer-Zellen sezerniert wird und in arteriosklerotischen Plaques nachgewiesen werden konnte (48, 40). Bei Patienten

mit instabiler Angina pectoris änderte sich die Zusammensetzung des T-Lymphozyten-Pools im arteriosklerotischen Plaque hin zu einem vermehrt IFN- γ produzierenden Subtyp (68, 69).

Bei Patienten mit instabiler Angina pectoris wurde bereits nachgewiesen, daß die Monozyten - zumindest zum Teil - durch IFN- γ aktiviert worden waren (70). Wir fanden in unserer Studie auch eine Aktivierung von T-Lymphozyten, so daß es möglich erscheint, daß die Aktivierung der Monozyten und die vermehrte CD11b-Expression auch durch IFN- γ oder andere von aktivierten T-Lymphozyten sezernierte Zytokine hervorgerufen wird.

Ein weiteres Zytokin, daß zu einer Induktion der monozytären Tissue Factor-Expression führt, ist IL-6 (99, 75). IL-6 wurde mit einem maximalen Serumspiegel 48 Stunden nach Revaskularisierung durch PTCA bei Myokardinfarktpatienten nachgewiesen (106). Allerdings ist unklar, woher dieses Zytokin stammt, da viele verschiedene Zellarten nach Stimulation *in vitro* IL-6 sezernieren können (106). Experimentelle Studien lassen jedoch vermuten, daß Endothelzellen und Myozyten der Ursprung dieses Zytokins bei akutem Myokardinfarkt sind (98). Die maximale IL-6-Serumkonzentration ist dabei nicht mit der anhand der maximalen Creatinkinase abgeschätzten Größe des Myokardinfarktes korreliert, da möglicherweise das reperfundierte Gewebe und nicht das bereits nekrotische Myokard für die Zytokinsekretion verantwortlich ist (106).

5.2.4 Mögliche therapeutische Konsequenzen

Diese über CD11b vermittelten Mechanismen und die gerinnungsmodulierende Wirkung von CD11b eröffnen einen neuen therapeutischen Ansatz bei der Behandlung des Myokardinfarktes und des Reperfusionsschadens, der immerhin bei mehr als einem Drittel aller Myokardinfarktpatienten auftritt (15).

So konnte im Tiermodell durch den Einsatz von monoklonalen Antikörpern gegen CD11b bzw. CD18 (Mac-1) nach Myokardinfarkt eine bessere

Durchblutung in der Mikrozirkulation erzielt ("*microvascular reflow*") und mehr Myokard vor der Nekrose gerettet werden ("*myocardial salvage*") (127, 63). Die Adhäsivität der Monozyten von Patienten mit Myokardinfarkt an Endothelzellen konnte durch einen monoklonalen Antikörper gegen CD11b deutlich reduziert werden (78). Die Ergebnisse klinischer Studien am Menschen mit monoklonalen Antikörpern gegen dieses Adhäsionsmolekül sind bisher jedoch enttäuschend (37).

Einen ähnlichen Effekt wie monoklonale Antikörper gegen Mac-1 hat auch das standardmäßig bei Myokardinfarkt - so auch bei unseren Patienten verwendete - Heparin. So vermindert Heparin die Bindung von Mac-1 an seine Liganden und könnte so neben dem bekannten klinischen Nutzen durch die gerinnungshemmenden Eigenschaften noch einen zusätzlichen positiven Effekt durch Verminderung von Zell-Zell-Interaktionen und damit der Entzündungsreaktion nach Reperfusion haben (108).

Neuere Studien zeigen einen direkten Zusammenhang zwischen der Serum-LDL-Konzentration und der monozytären CD11b-Expression (123, 146). Nach mehrwöchiger Behandlung mit einem HMG-CoA-Reduktase-Inhibitor (Simvastatin, Lovastatin) zeigte sich eine Verringerung sowohl des Serum-LDLs als auch der monozytären CD11b-Expression. Die verringerte CD11b-Expression ging insbesondere auch mit einer deutlichen Reduktion der Adhäsivität der Monozyten an Endothelzellen einher. Dieser Zusammenhang könnte eine Erklärung für den klinischen Nutzen der HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren unabhängig von ihrer LDL-senkenden Wirkung sein (123, 146).

Der klinische Nutzen der Angiotensin-Converting-Enzym-Inhibitoren beruht neben der blutdrucksenkenden Eigenschaft möglicherweise zum Teil auch auf ihrer Fähigkeit, die Tissue Factor-Expression in Monozyten zu reduzieren (92).

5.3 T-Lymphozytenaktivierung

5.3.1 Theoretische Grundlagen

T-Lymphozyten spielen in allen Entwicklungsstadien von arteriosklerotischen Plaques eine wichtige Rolle (56, 47). Insbesondere in rupturierten und ruptur-gefährdeten Plaques konnten aktivierte T-Lymphozyten nachgewiesen werden (48, 142, 44).

Dabei fanden sich dort v.a. T-Lymphozyten aus der Untergruppe der Th1-Zellen, die über die Sekretion von pro-inflammatorischen Zytokinen zur Aktivierung von Makrophagen und der Gefäßwand führen und damit zur Destabilisierung des arteriosklerotischen Plaques beitragen können (40).

Die Rolle der systemisch nachweisbaren T-Lymphozyten in akuten Koronarsyndromen ist jedoch widersprüchlich. So sind systemisch nachweisbare aktivierte T-Lymphozyten möglicherweise ein direkter Auslöser von akuten Koronarsyndromen (94, 95), andererseits scheinen aktivierte T-Lymphozyten auch einen protektiven Effekt zu haben und das klinische Outcome von Patienten mit instabiler Angina pectoris zu verbessern (11). Eine Erklärung für diese widersprüchlichen Effekte könnte im funktionellen Antagonismus der Untergruppen der Th1- und Th2-Zellen begründet liegen.

Wir wählten als Parameter für die Aktivierung der T-Lymphozyten die Oberflächenrezeptoren CD69 und CD2. CD69 gilt als unspezifischer Aktivierungsparameter von T-Lymphozyten und erreicht bereits etwa 3h nach T-Lymphozytenaktivierung seine maximale Expression (118). Es wird mit der Pathogenese verschiedener Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis, chronisch entzündlichen Lebererkrankungen und Lupus erythematodes in Verbindung gebracht (77).

Mit CD2 untersuchten wir einen Oberflächenmarker, der auf praktisch allen peripheren T-Zellen exprimiert wird und der eine Schlüsselrolle bei vielen wichtigen zellulären Vorgängen spielt, u.a. bei Zell-Zell-Adhäsion, der Zytokinsynthese und insbesondere bei der Interaktion von T-Zellen mit antigen-präsentierenden Zellen (APC, "*antigen-presenting cells*") (140, 110, 21, 60).

Wir fanden eine sowohl gegenüber den Gesunden als auch gegenüber der Referenzgruppe der Patienten mit stabiler Angina pectoris signifikant erhöhte CD69-Expression auf T-Lymphozyten bei Aufnahme im Krankenhaus. Nach 48 Stunden bzw. 96 Stunden war die CD69-Expression der Infarktpatienten auf ein mit der Referenzgruppe vergleichbares Niveau abgesunken.

Die CD2-Expression der Infarktpatienten war bei Aufnahme gegenüber den Gesunden ebenfalls signifikant vermehrt. Unmittelbar und 24 Stunden nach PTCA kam es dann zu einem Abfall der CD2-Expression, die nach 24 Stunden sogar signifikant niedriger als die CD2-Expression der Referenzpatienten war.

5.3.2 Vergleich mit anderen Studien

Unsere Ergebnisse sprechen für eine systemisch nachweisbare T-Lymphozytenaktivierung im Akutstadium des Myokardinfarktes noch vor Durchführung einer Revaskularisierung durch PTCA, da sowohl eine vermehrte Expression des frühen Aktivierungsparameters CD69 als auch eine vermehrte Expression von CD2 auf T-Lymphozyten unmittelbar bei Aufnahme im Krankenhaus nachgewiesen wurde.

Auch andere Arbeitsgruppen wiesen eine systemische Aktivierung von T-Lymphozyten bei akuten Koronarsyndromen nach (95, 94, 68, 128). Diese Aktivierung wurde dabei auch als ein möglicher Auslöser eines akuten Koronarsyndromes identifiziert, da die aktivierten Lymphozyten der Patienten mit akuten Koronarsyndromen in der Lage waren, in Monozyten eine gesteigerte PCA zu induzieren (94). Der Aktivierungszustand der T-Lymphozyten nahm dabei über 6 bis 8 Wochen langsam ab (95).

Allerdings sind aktivierte T-Lymphozyten auch bei stabiler Angina pectoris nachzuweisen. Mehrere Arbeitsgruppen zeigten eine erhöhte Serumkonzentration von sIL-2R bei Patienten mit stabiler Angina pectoris (133, 10, 126, 102). sIL-2R ist von entscheidender Bedeutung bei der autokrinen Wachstumsstimulation nach T-Zell-Aktivierung durch ein Antigen und wird deshalb als Aktivierungsmarker für T-Lymphozyten verwendet (27, 134).

Persistierte nach PTCA bei den Patienten mit bereits vor PTCA erhöhtem sIL-2R-Spiegel dieser Aktivierungsparameter, wurde dies als ein Hinweis auf eine möglicherweise nicht erfolgreiche PTCA angesehen (10) bzw. mit einer erhöhten Restenoserate assoziiert (102). Die Abnahme der T-Lymphozytenaktivierung im Verlauf wurde dabei als Folge der Zerstörung der arteriosklerotischen Plaques durch die Angioplastie und einer Abnahme der in den Plaques enthaltenen Antigene angesehen (10).

Andererseits wurde ein erhöhter sIL-2R-Spiegel nicht nur bei Patienten mit stabiler Angina pectoris, sondern auch bei Patienten mit instabiler Angina pectoris gefunden (94). Wahrscheinlich handelt es sich bei der Gruppe der Patienten mit der klinischen Symptomatik einer stabilen Angina pectoris um eine heterogene Gruppe von Patienten. So konnte innerhalb der Gruppe der Patienten mit stabiler Angina pectoris eine Gruppe von Patienten mit nachweisbarer T-Lymphozytenaktivierung und erhöhter sIL-2R-Serumkonzentration und eine Gruppe mit normalen sIL-2R-Spiegeln nachgewiesen werden (10).

Eine Erklärung für diese Daten könnte sein, daß bei Patienten mit einer stabilen Angina pectoris verschiedene Phasen der Plaqueentwicklung mit unterschiedlicher Beteiligung von (aktivierten) T-Lymphozyten ablaufen. So scheint es einerseits Phasen zu geben, in denen keine T-Lymphozytenaktivierung nachzuweisen ist und die möglicherweise auch nicht mit einem Plaquewachstum einher gehen, andererseits könnten die Phasen mit nachweisbarer T-Lymphozytenaktivierung den gleichen Prozess repräsentieren, der schließlich auch zu akuten Koronarsyndromen führt (10).

Diese Studien zeigen auch, daß der Zeitrahmen, in dem die Blutabnahmen erfolgen, von entscheidender Bedeutung ist. In den Studien, die Patienten mit instabiler Angina pectoris untersuchten, wurde meist ein mehr oder weniger großer Zeitraum bis zur ersten Blutabnahme von etwa 24 bis 48 Stunden nach Krankenhauseinweisung bzw. Symptombeginn zugelassen. Wir nahmen den Myokardinfarktpatienten dagegen unmittelbar bei Aufnahme die erste Blutprobe ab. Im weiteren Verlauf wählten wir als festen

zeitlichen Bezugspunkt die Implantation des Stents und bestimmten den Zeitpunkt der weiteren Blutabnahmen in Abhängigkeit davon. Um eine möglichst große Vergleichbarkeit der Patienten zu erreichen, beschränkten wir uns in dieser Studie auch auf die Untersuchung von Patienten mit manifestem Myokardinfarkt, also auf Patienten mit Ischämie, Nekrose und Reperfusion des Myokards. Patienten mit instabiler Angina pectoris bzw. anderen akuten Koronarsyndromen wurden nicht eingeschlossen.

Ein weiteres Problem, das zu den unterschiedlichen Ergebnissen bei Messungen der T-Lymphozytenaktivierung führen kann, liegt in der Bestimmung von löslichen Faktoren. In den meisten oben genannten Untersuchungen wurde die Aktivierung der T-Lymphozyten anhand von sIL-2R und IFN- γ bestimmt. Dies birgt aber das Risiko, daß die gemessenen Serumspiegel nicht nur auf eine Sezernierung durch T-Lymphozyten, sondern auch durch andere Quellen zurückzuführen sein können. Daher bestimmten wir in unserer Studie nicht die Serumspiegel von löslichen Faktoren, sondern die Expression von Aktivierungsmarkern direkt auf den Zellen selbst.

Es wird vermutet, daß die plötzliche Aktivierung einer Untergruppe von T-Lymphozyten akute Koronarsyndrome auslösen kann (9). Dabei scheint insbesondere die Untergruppe der Th1-Zellen eine wesentliche Rolle zu spielen, da diese pro-inflammatorische und damit plaquedestabilisierende Zytokine wie insbesondere IFN- γ sezernieren und in akuten Koronarsyndromen vermehrt in arteriosklerotischen Plaques nachweisbar sind (68, 69, 40). Auch durch Zunahme der zytotoxischen Eigenschaften gegenüber Endothelzellen könnten T-Zellen zur Destabilisierung der Plaques beitragen (91).

Andererseits könnte eine Aktivierung von T-Lymphozyten auch einen protektiven Effekt haben, da Th2-Zellen teilweise eine antagonistische Wirkung - so u.a. auf die pro-koagulatorische Aktivität von Monozyten (26) - haben. Durch die Sekretion anti-inflammatorisch wirkender Zytokine wie

IL-4 und IL-10 durch Th2-Zellen könnten arteriosklerotische Plaques möglicherweise stabilisiert werden.

In der Tat wurde anhand des prozentualen Anteils von aktivierten T-Lymphozyten (CD3+/DR+) am gesamten T-Lymphozyten-Pool gezeigt, daß es nach der initialen akuten Entzündungsreaktion bei Patienten mit instabiler Angina pectoris zu einer vorübergehenden Aktivierung von T-Lymphozyten kam und dies mit einer klinischen Stabilisierung der Patienten korreliert war (11). Eine Unterteilung der aktivierten T-Lymphozyten in Th1- und Th2-Zellen wurde in dieser Untersuchung allerdings nicht durchgeführt.

5.3.3 Ursachen und Bedeutung der T-Lymphozytenaktivierung

Unklar ist, woher die systemisch nachweisbaren aktivierten T-Lymphozyten stammen. Prinzipiell sind T-Lymphozyten für die Abwehr in den Organismus eingedrungener Erreger zuständig (1 (S.16)) und wurden in aktiviertem Zustand in arteriosklerotischen Plaques, insbesondere in der besonders ruptur-gefährdeten Schulterregion der Faserkappe, nachgewiesen (87, 48, 22, 142, 44).

Epidemiologische Daten zeigen andererseits ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko für Patienten mit erhöhten serologischen Markern für eine Infektion mit Bakterien und Viren (67, 17, 5). Dabei scheint insbesondere eine hohe Belastung des Organismus mit Erregern ("*infectious burden*") mit einem größeren Ausmaß der Arteriosklerose und einer schlechteren Langzeit-Prognose assoziiert zu sein (116, 35). Daher wurde vermutet, daß die lokal in arteriosklerotischen Plaques nachweisbare Aktivierung der T-Lymphozyten durch Kontakt mit spezifischen Erregern bzw. Antigenen hervor gerufen wird (67, 16, 124).

Die Ergebnisse unserer Untersuchung geben einen Hinweis darauf, daß die systemisch nachweisbare T-Lymphozytenaktivierung antigen-vermittelt ist. Nach Aktivierung von T-Lymphozyten über den TCR-CD3-Komplex kommt es zu einer vermehrten CD2-Expression (2). CD2 spielt seinerseits eine entscheidende Rolle bei der Antigen-Erkennung durch den T-Zell-

Rezeptor-(TCR)-CD3-Komplex, indem CD2 einerseits durch signalübermittelnde Funktionen die Antigen-Erkennung durch den TCR-CD3-Komplex verbessert und andererseits wesentlich an der Adhäsion von T-Lymphozyten an antigen-präsentierenden Zellen beteiligt ist (21, 140, 45, 59, 1 (S.159)). Die Aktivierung von T-Lymphozyten ist nach Bindung von CD2 an den Gegenrezeptor LFA-3, der auf antigen-präsentierenden Zellen - und auch auf Monozyten - exprimiert wird, wesentlich größer als nach Aktivierung durch CD3 alleine (45). Die gleichzeitige Stimulation von CD2 und CD3 führt zu einer CD69-Expression (8). Die hier nachgewiesene vermehrte Expression von CD2 und CD69 könnte also eine direkte Folge einer Aktivierung von T-Lymphozyten über den TCR-CD3-Komplex sein. Als antigen-präsentierende Zellen kommen z.B. die in ruptur-gefährdeten Plaques vermehrt nachweisbaren Makrophagen in Betracht (142, 58, 88).

Die vermehrte CD2-Expression hat auch Einfluß auf die Sekretion von Zytokinen. So reguliert CD2 die Sekretion von IL-1 β durch Monozyten (81) und nach Bindung von CD2 an LFA-3 kommt es zur Sekretion von IL-2 und TNF- α (60). TNF- α wiederum kann Makrophagen zur Sekretion von Matrix-Metalloproteinasen anregen, die eine wichtige Rolle bei der Plaquestabilisierung führen (66, 111, 18, 19).

Letztlich bleibt jedoch unklar, ob die systemisch nachweisbaren T-Lymphozyten tatsächlich im arteriosklerotischen Plaque aktiviert wurden. Dagegen spricht die Beobachtung, daß es nach Zerstörung der Plaques durch die Angioplastie bei unseren Kontrollpatienten zu keiner vermehrten CD69 bzw. CD2-Expression kam. T-Lymphozyten können auch durch viele verschiedene andere Mechanismen aktiviert werden, z.B. durch Kontakt mit Endothelzellen, Monozyten oder auch durch Zytokine (117, 51, 7, 135, 99).

5.4 Koaggregate von Monozyten und T-Lymphozyten

5.4.1 Theoretische Grundlagen

Sowohl T-Lymphozyten als auch Monozyten sind an der Entwicklung arteriosklerotischer Plaques beteiligt (120, 56). Monozyten sind ein Teil des mononukleären phagozytären Systems und damit eine Art von antigen-präsentierenden Zellen (1 (S.122)). Durch ihre Eigenschaft - insbesondere nach Aktivierung - Tissue Factor zu exprimieren sind sie wahrscheinlich auch an der Pathogenese akuter Koronarsyndrome beteiligt (103, 55, 79, 24, 70, 94). T-Lymphozyten werden nach Präsentation eines Antigens durch eine antigen-präsentierende Zelle aktiviert und können ihrerseits z.B. durch die Sekretion von Zytokinen zur Aktivierung von anderen Zellen führen (1 (S.139)). T-Lymphozytenaktivierung - z.B. durch Kontakt mit spezifischen Antigenen in arteriosklerotischen Plaques - scheint bei akuten Koronarsyndromen ebenfalls eine wesentliche Rolle zu spielen (94, 95, 48, 142, 44).

Da die Expression von monozytärem Tissue Factor durch Lymphozyten deutlich gesteigert werden kann (31, 72), könnte die Bildung von Monozyten-Lymphozyten-Koaggregaten eine Rolle bei akuten Koronarsyndromen spielen.

Wir konnten eine signifikant vermehrte Koaggregate-Bildung zwischen Monozyten und T-Lymphozyten im Akutstadium eines Myokardinfarktes nachweisen. Durchschnittlich zeigten etwa 4% aller Monozyten bei Aufnahme ins Krankenhaus eine Koaggregate-Bildung mit T-Lymphozyten. Nach Revaskularisierung durch PTCA und Stentimplantation fielen diese Werte schnell auf den auch bei Gesunden gemessenen Prozentsatz ab. Parallel zum Verlauf der Koaggregatebildung konnte auch eine Aktivierung von T-Lymphozyten beobachtet werden. Zu einer Monozyten-Aktivierung kam es dagegen erst nach 24 bis 48 Stunden.

5.4.2 Vergleich mit anderen Studien

Dies ist unseres Wissens die erste Studie, die Koaggregate von Monozyten und Lymphozyten in akuten Koronarsyndromen nachweist. Koaggregate von anderen Zellarten, so z.B. zwischen Thrombozyten und Leukozyten, sind dagegen sowohl bei Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit (42) als auch bei Patienten mit akuten Koronarsyndromen (105, 97) sowie nach Koronarangioplastie (86) nachgewiesen worden. Dabei scheinen Koaggregate auch eine prognostische Bedeutung zu haben, da eine vermehrte Leukozyten-Thrombozyten-Koaggregate-Bildung mit einem schlechteren klinischen Outcome nach Koronarangioplastie korreliert war (86).

Die bei akutem Myokardinfarkt vermehrt nachweisbaren Koaggregate von Monozyten und Thrombozyten (119, 84) eigneten sich sogar zur Identifizierung der Patienten mit akutem Myokardinfarkt unter allen wegen Brustschmerzen ins Krankenhaus eingelieferten Patienten (41). Die Thrombozyten-Aktivierung, die eine Schlüsselrolle in der Pathogenese von akuten Koronarsyndromen spielt (137), ließ sich durch die Thrombozyten-Monozyten-Koaggregate besser abschätzen als anhand der Expression des bisher verwendeten P-Selektins (84).

5.4.3 Ursachen und Bedeutung der Koaggregate

5.4.3.1 Ursprung der Koaggregate

Als Ursache der Koaggregatebildung kommt die T-Lymphozytenaktivierung in Frage, da diese parallel zur Koaggregatebildung verläuft. Eine Aktivierung von Monozyten scheint dagegen zur Koaggregatebildung weniger beizutragen, da es erst ein bis zwei Tagen nach akutem Myokardinfarkt zu einer nachweisbaren Monozytenaktivierung kam.

Für eine Rolle der T-Lymphozyten bei der Koaggregatebildung spricht auch die hier nachgewiesene vermehrte Expression des Adhäsionsmoleküls CD2, das u.a. nach Aktivierung von T-Lymphozyten durch Antigene vermehrt exprimiert wird (2, 21). Die antigen-vermittelte T-Lymphozytenaktivierung benötigt jedoch einen direkten Zell-Zell-Kontakt

zwischen einer antigen-präsentierenden Zelle und einem T-Lymphozyten, wobei bei dieser Interaktion CD3 und CD2 eine wesentliche Rolle spielen (1 (S.139)).

5.4.3.2 *Tissue Factor*

Die hier nachgewiesenen Koaggregate von Monozyten und T-Lymphozyten könnten direkten Einfluß auf die Tissue Factor-Expression der Monozyten haben, da bekannt ist, daß T-Lymphozyten zu einer maximalen Verstärkung der Tissue Factor-Expression der Monozyten nach Aktivierung notwendig sind (72, 37, 49). Auch der Kontakt mit anderen Zellarten wie z.B. mit Endothelzellen oder Thrombozyten kann zur monozytären Tissue Factor-Expression führen (71, 12, 82). Dabei wird die Tissue Factor-Expression durch Bindung des auf Endothelzellen und Thrombozyten exprimierten Adhäsionsmoleküls P-Selektin an den Gegenrezeptor PSGL-1 vermittelt (13, 72).

Zwar ist die Zahl der hier gemessenen Lymphozyten-Monozyten-Koaggregate insgesamt relativ gering, allerdings ist Tissue Factor sehr thrombogen, und bereits eine sehr geringe Zahl an aktivierten und vermehrt Tissue Factor-exprimierenden Monozyten könnte zu einer relevanten Aktivierung der Gerinnungskaskade und nachfolgend zur Thrombusbildung führen (82, 12). Auch die relativ geringen Mengen Tissue Factor in einem arteriosklerotischen Plaque entscheiden über die Thrombogenität des Plaques und damit über den klinischen Verlauf nach Plaqueruptur (138).

Eine weitere Verstärkung der Tissue Factor-Expression könnte auch durch das Akut-Phase-Protein CRP entstehen. Aus mehreren Studien ist CRP als Risikofaktor bekannt und eine Erhöhung ist mit einer schlechteren Prognose bei akuten Koronarsyndromen korreliert (114, 5, 6, 25, 139). CRP kann jedoch, insbesondere bei Beteiligung des von T-Lymphozyten sezernierten Zytokins IFN- γ , eine monozytäre Tissue-Factor-Expression verstärken (14, 90).

Allerdings war es nicht Gegenstand dieser Untersuchung zu klären, ob auf den systemisch nachweisbaren Koaggregaten tatsächlich auch vermehrt

Tissue Factor exprimiert wird. Dagegen spricht, daß eine systemisch nachweisbare vermehrte Tissue Factor-Expression der Monozyten erst 96 Stunden nach Myokardinfarkt nachweisbar war (104). Auch ein Anstieg der prokoagulatorischen Aktivität fand sich erst 72 Stunden nach Myokardinfarkt (106). Da Tissue Factor jedoch mit einer sehr hohen Wahrscheinlichkeit ursächlich an der Entwicklung eines Myokardinfarkts beteiligt ist (87, 138, 61), wurde vermutet, daß vermehrt Tissue Factor-exprimierende Monozyten möglicherweise in der Mikrozirkulation gefangen sind und deshalb nicht im peripheren Blut nachgewiesen werden können (55).

Für eine Tissue Factor-Expression der Koaggregate spricht, daß Monozyten nach Adhäsion an andere Zellarten wie z.B. an Endothelzellen oder Thrombozyten Tissue Factor exprimieren (72, 103, 82).

5.4.3.3 Zytokine

Neben den durch den direkten Zell-Zell-Kontakt vermittelten Effekten auf Tissue Factor-Expression und Aktivierung der Zellen könnten die Koaggregate auch zu systemischen Veränderungen durch Zytokine führen. Daß es zur Sekretion von Zytokinen durch die Koaggregate zwischen Monozyten und T-Lymphozyten kommt, ist sehr wahrscheinlich, da eines der grundlegenden immunologischen Prinzipien nach dem Kontakt zwischen einer antigen-präsentierenden Zelle und einem T-Lymphozyten die Aktivierung des Immunsystems durch Zytokine wie $\text{TNF-}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$, IL-6 und $\text{IFN-}\gamma$ ist (1 (S.253), 107, 65). Diese Zytokine beeinflussen auf unterschiedlichste Art und Weise das Immunsystem.

So führt z.B. IL-6 zur Synthese von verschiedenen Akut-Phase-Proteinen wie Fibrinogen und CRP in der Leber. IL-6 konnte im Verlauf bei Patienten mit Myokardinfarkt in erhöhten Serumkonzentrationen nachgewiesen werden (135, 98, 121, 74). IL-6 hat wiederum auch Einfluß auf die prokoagulatorische Aktivität, da es eine vermehrte Tissue Factor-Expression auf Monozyten induzieren kann (99, 82).

5.5 Studienbeschränkungen

5.5.1 Methodik

Die vorliegende Arbeit vergleicht Patienten mit Myokardinfarkt mit Patienten mit einer stabilen Belastungsangina. Alle Patienten beider Patientengruppen erhielten eine Angioplastie und eine Stentimplantation. Dabei konnte bei allen Patienten die betroffene Arterie dilatiert werden und es kam nach der Intervention bei allen Patienten zu einer Wiederherstellung des Blutflusses (TIMI III).

Unsere Studienpopulation umfasst nur Patienten, die einen manifesten Myokardinfarkt mit akuter Ischämie, Nekrose und Reperfusion des Myokards erlitten. Patienten mit instabiler Angina pectoris sind nicht eingeschlossen worden. In der Gruppe der Kontrollpatienten sind dagegen nur Patienten aufgenommen worden, die eine stabile Angina pectoris und somit keine akute Ischämie oder Myokardnekrose aufwiesen.

Da in beiden Gruppen die gleiche Prozedur mit PTCA und Stentimplantation durchgeführt wurde, ist es unwahrscheinlich, daß die gemessenen Unterschiede in der Expression der verschiedenen Parameter eine Folge dieser Intervention sind.

5.5.2 Bearbeitung

Studien, die sich mit der Funktion von Leukozyten beschäftigen, müssen immer die Möglichkeit in Betracht ziehen, daß es durch die Bearbeitung der Proben zu einer Aktivierung und mithin zu einer Verfälschung der Ergebnisse kommt (106).

Um potentielle Artefakte durch die Isolierung von Leukozyten zu minimieren, führten wir die Inkubationen mit den fluoreszenzmarkierten Antikörper in durch Cyfix fixiertem Vollblut durch. Außerdem stellten wir sicher, daß die Zeit zwischen Abnahme der Proben und Bearbeitung bei allen Proben gleich war und alle Blutproben nach Abnahme sofort auf Eis kamen. Das Bearbeitungsprotokoll war für alle Proben der Infarktpatienten und der Kontrollpatienten identisch. Zur Vermeidung von Monozytenaktivierung ex

vivo führten wir regelmäßige Untersuchungen der verwendeten Reagenzien auf die Kontamination mit Endotoxin durch.

5.5.3 Durchflußzytometrie und Koaggregate

Die Population der Monozyten wurde in der Durchflußzytometrie zum einen anhand der Fluoreszenz für CD14 und zum anderen anhand des charakteristischen Forward- und Sideward-Scatters identifiziert.

Die zu Beginn der Untersuchung vorgenommenen Einstellungen des Meßgerätes (FACScalibur, Becton Dickinson) und die Einstellung des Softwareprogramms (CellQuest, Becton Dickinson) für die Auswertung der Fluoreszenzen wurden bei allen Patienten und allen Messungen beibehalten.

Zwar gibt es neben den Monozyten auch andere Zellarten, die CD14-positiv sein können, z.B. Makrophagen (1 (S.159)). Allerdings weisen diese ein anderes Forward/Sideward-Scatter-Muster auf und zirkulieren normalerweise aufgrund ihrer hohen Adhäsivität nicht im peripheren Blut (1 (S.159)). Es ist daher wahrscheinlich, daß die gemessene CD14-positive Zellpopulation zirkulierende Monozyten darstellt.

Bei der Messung der Monozyten-Lymphozyten-Koaggregate verwendeten wir zunächst ein Meßfenster, daß alle CD14-positiven Zellen einschloß. Alle in diesem Meßfenster gemessenen Zellen wurden dann auf ihre CD3-Fluoreszenz hin abgebildet. Die CD3-positiven Zellen in diesem zweiten Meßfenster wurden so als CD3- und CD14-positive Zellen identifiziert und stellen somit Koaggregate dar. Zur Kontrolle wurden diese Koaggregate schließlich im Forward- und Sideward-Scatter im Kontext mit allen anderen gemessenen Leukozyten dargestellt. Ein exemplarischer Dotplot ist in Abbildung 10 dargestellt.

Allerdings kann nicht mit endgültiger Sicherheit bewiesen werden, daß es sich tatsächlich um Monozyten-Lymphozyten-Koaggregate handelt. Dazu müssten diese Koaggregate direkt mikroskopisch nachgewiesen werden. Dies ist aufgrund der geringen Anzahl der Koaggregate wenig aussichtsreich und wurde von uns nicht versucht.

5.5.4 *Medikation*

Ein weiterer Aspekt, der theoretisch zu einer Beeinflussung der Leukozytenfunktion führen kann, ist die Medikation der Patienten (133).

Allerdings erhielten beide Gruppen peri-interventionell die gleiche Medikation (abciximab 0,25mg/kg als Bolus und dann für 12 Stunden 10µg/min als kontinuierliche Infusion, sowie einen Bolus von 70U/kg Heparin und 500mg Acetylsalicylsäure). Die post-interventionelle antithrombotische Medikation war ebenfalls gleich (Einmalgabe von 250mg Ticlopidin und 100mg Acetylsalicylsäure täglich). Damit erscheint eine Beeinflussung der Ergebnisse durch die Medikation unwahrscheinlich.

5.6 **Schlußfolgerung**

Diese Untersuchung zeigt eine erhöhte Zahl an Monozyten-Lymphozyten-Koaggregaten im akuten Stadium eines Myokardinfarktes. So wiesen durchschnittlich etwa 4% aller Monozyten unmittelbar bei Aufnahme ins Krankenhaus eine Adhäsion von Lymphozyten auf.

Dabei scheinen die Koaggregate eine Folge der Aktivierung der T-Lymphozyten zu sein, da die Expression der Aktivierungsparameter der T-Lymphozyten und die Anzahl der Koaggregate einen parallelen Verlauf zeigten. Zu einer Aktivierung von Monozyten kam es erst im Verlauf.

Durch die Koaggregatebildung könnte es zu einem Anstieg der prokoagulatorischen Aktivität der Monozyten kommen. Damit stellen die Koaggregate ein potentiell Ziel für therapeutische Interventionen dar.

6 Zusammenfassung

Hintergrund: T-Lymphozyten sind an der Entstehung akuter Koronarsyndrome beteiligt. Aktivierte Monozyten produzieren Gewebsthromboplastin, einen wichtigen Aktivator der Gerinnungskaskade. Koaggregate zwischen Monozyten und T-Lymphozyten könnten über Aktivierung zu einer Steigerung der pro-koagulatorischen Aktivität führen und dadurch eine wichtige Rolle in der Pathogenese akuter Koronarsyndrome spielen.

Methodik: Als Studienpopulation dienten 17 Patienten (Alter 49 bis 87 Jahre), die wegen eines akuten Myokardinfarkts eine Koronarangioplastie und eine Stentimplantation der betroffenen Arterie erhielten. Die Kontrollpopulation bestand aus 20 Patienten, bei denen eine Koronarangioplastie und eine Stentimplantation wegen einer stabilen Angina pectoris (CCS Klasse II) durchgeführt wurde, sowie 14 Gesunden. Mittels Durchflußzytometrie untersuchten wir verschiedene Aktivierungsparameter von Monozyten (CD11b) und T-Lymphozyten (CD2, CD69) und die Häufigkeit von Monozyten-Lymphozyten-Koaggregaten im Verlauf nach Koronarintervention.

Ergebnisse: Bei Patienten mit Myokardinfarkt bestand unmittelbar vor Koronarintervention im Vergleich zur Kontrollpopulation eine signifikant erhöhte Anzahl von Monozyten-Lymphozyten-Koaggregaten und eine gesteigerte Aktivität von T-Lymphozyten, die im Verlauf abfiel. Die Anzahl der Koaggregate verlief parallel zur Aktivierung der T-Lymphozyten. Zu einer Aktivierung von Monozyten kam es nach 24 bis 48 Stunden.

Schlußfolgerung: Die im Akutstadium eines Myokardinfarktes erhöhte Anzahl von Monozyten-Lymphozyten-Koaggregaten könnte eine Folge der T-Lymphozyten-Aktivierung sein. Durch die Koaggregatebildung könnte es zur Aktivierung und damit zu einem Anstieg der pro-koagulatorischen Aktivität der Monozyten kommen. Damit stellen die Koaggregate ein potentiell Ziel für therapeutische Interventionen dar.

7 Literatur

1. ABBAS A.K., LICHTMAN A.H., POBER J.S., Cellular and Molecular Immunology, W.B.Saunders Company, Philadelphia, 1997, 3rd Edition.
2. ALBEROLA-ILA J., PLACES L., DE LA CALLE O., ROMERO M., YAGÜE J., GALLART T., VIVES J., LOZANO F., Stimulation Through the TCR/CD3 Complex Up-Regulates the CD2 Surface Expression On Human T Lymphocytes, *J Immunol*, 1991, Vol.146, S.1085-1092
3. ALTIERI D.C., MORRISSEY J.H., EDGINGTON T.S., Adhesive Receptor Mac-1 Coordinates the Activation of Factor X On Stimulated Cells of Monocytic and Myeloid Differentiation: An Alternative Initiation of the Coagulation Protease Cascade, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1988, Vol.85, S.7462-7466
4. AMBROSE J.A., MARTINEZ E.E., A New Paradigm for Plaque Stabilization, *Circulation*, 2002, Vol.105, S.2000-2004
5. ANDERSON J.L., CARLQUIST J.F., MUHLESTEIN J.B., HORNE B.D., ELMER S.P., Evaluation of C-Reactive Protein, an Inflammatory Marker, and Infectious Serology as Risk Factors for Coronary Artery Disease and Myocardial Infarction, *J Am Coll Cardiol*, 1998, Vol.32, S.35-41
6. ANZAI T., YOSHIKAWA T., SHIRAKI H., ASAKURA Y., AKAISHI M., MITAMURA H., OGAWA S., C-Reactive Protein as a Predictor of Infarct Expansion and Cardiac Rupture After a First Q-Wave Acute Myocardial Infarction, *Circulation*, 1997, Vol.96, S.778-784
7. BECKER B.F., HEINDL B., KUPATT C., ZAHLER S., Endothelial Function and Hemostasis, *Z Kardiol*, 2000, Vol.89, S.160-167

8. BERNEY M.S., SCHAAN T., WOLF R.E., VAN DER HEYDE H., ATKINSON T.P., CD2 (OKT11) Augments CD3-Mediated Intracellular Signaling Events in Human T Lymphocytes, *J Investig Med*, 2000, Vol.48, S.102-109
9. BIASUCCI L.M., LIUZZO G., ANGIOLILLO D.J., SPERTI G., MASERI A., Inflammation and Acute Coronary Syndromes, *Herz*, 2000, Vol.25, S.108-112
10. BLUM A., SCLAROVSKY S., SHOHAT B., T Lymphocyte Activation in Stable Angina Pectoris and After Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty, *Circulation*, 1995, Vol.91, S.20-22
11. CALIGIURI G., LIUZZO G., BIASUCCI L.M., MASERI A., Immune System Activation Follows Inflammation in Unstable Angina: Pathogenetic Implications, *J Am Coll Cardiol*, 1998, Vol.32, S.1295-304
12. CAMERER E., KOLSTØ A.-B., PRYDZ H. , Cell Biology of Tissue Factor, the Principal Initiator of Blood Coagulation, *Thromb Res*, 1996, Vol.81, S.1-41
13. CELI A., PELLGRINI G., LORENZET R., DE BLASI A., READY N., FURIE B.C., FURIE B., P-Selectin Induces the Expression of Tissue Factor On Monocytes, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, Vol.91, S.8767-8771
14. CERMAK J, KEY N.S., BACH R.R., BALLA J., JACOB H.S., VERCELLOTTI G.M., C-Reactive Protein Induces Human Peripheral Blood Monocytes to Synthesize Tissue factor, *Blood*, 1993, Vol.82, S.513-520
15. CLAEYS M.J., BOSMANS J., VEENSTRA L., JORENS P., DE RAEDT H., VRINTS C.J, Determinants and Prognostic Implications of Persistent ST-Segment Elevation After Primary Angioplasty For Acute Myocardial Infarction – Importance of Microvascular Reperfusion Injury on Clinical Outcome, *Circulation*, 1999, Vol.99, S.1972-1977

16. DANESH J., WHINCUP P., WALKER M., LENNON L., THOMSON A., APPLEBY P., GALLIMORE J.R., PEPYS M.B., Low Grade Inflammation and Coronary Heart Disease: Prospective Study and Updated Meta-Analyses, *BMJ*, 2000, Vol.321, S.199-204
17. DANESH J., WHINCUP P., WALKER M., LENNON L., THOMSON A., APPLEBY P., WONG Y.-K., BERNARDES-SILVA M., WARD M., Chlamydia Pneumoniae IgG Titres and Coronary Heart Disease: Prospective Study and Meta-Analysis, *BMJ*, 2000, Vol.321, S.208-213
18. DAVIES M.J., The Composition of Coronary Artery Plaques, *N Engl J Med*, 1997, Vol.336, S.1312-1314
19. DAVIES M.J., Reactive Oxygen Species, Metalloproteinases, and Plaque Stability, *Circulation*, 1998, Vol.97, S.2382-2383
20. DAVIS S.J., IKEMIZU S., WILD M.K., VAN DER MERWE P.A., CD2 and the Nature of Protein Interactions Mediating Cell-Cell Recognition, *Immunol Rev*, 1998, Vol.163, S.217-236
21. DAVIS S.J., VAN DER MERWE P.A., The Structure and Ligand Interactions of CD2: Implications for T-Cell Function, *Immunol Today*, 1996, Vol.17, S.177-187
22. DE BOER O.J., HIRSCH F., VAN DER WAL A.C., VAN DER LOOS C.M., DAS P.K., BECKER A.E., Costimulatory Molecules in Human Atherosclerotic Plaques: An Indication of Antigen Specific T Lymphocyte Activation, *Atherosclerosis*, 1997, Vol.133, S.227-234
23. DE GAETANO G., CERLETTI C., EVANGELISTA V., Recent Advances in Platelet-Polymorphonuclear Leukocyte Interaction, *Haemostasis*, 1999, Vol.29, S.41-49
24. DE SERVI S., MAZZONE A., RICEVUTI G., MAZZUCHELLI I., FOSSATI G., ANGOLI L., VALENTINI P., BOSCHETTI E., SPECCHIA G., Expression of Neutrophil and Monocyte CD11b/CD18 Adhesion Molecules at Different Sites of the Coronary Tree in Unstable Angina Pectoris, *Am J Cardiol*, 1996, Vol.78, S.564-568

25. DE SUTTER J., DE BUYZERE M., GHEERAERT P., VAN DE WIELE C., VOET J., DE PAUW M., DIERCKX R., DE BACKER G., TAEYMANS Y., Fibrinogen and C-Reactive Protein on Admission as Markers of Final Infarct Size After Primary Angioplasty for Acute Myocardial Infarction, *Atherosclerosis*, 2001, Vol.157, S.189-196
26. DEL PRETE G., DE CARLI M., LAMMEL R.M., D'ELIOS M.M., DANIEL K.C., GIUSEPPE B., ABBATE R., ROMAGNANI S., Th1 and Th2 T-Helper Cells Exert Opposite Regulatory Effects on Procoagulant Activity and Tissue Factor Production by Human Monocytes, *Blood*, 1995, Vol.86, S.250-257
27. DUMMER R., POSSECKERT G., SUGAMURA K., GRUNDMANN H., BURG G., Circulating Interleukin-2 Receptors are a Group of Multimeric Proteins with Immunoreactivity for Interleukin-2 Receptor Alpha, Beta, and Gamma Chains., *J Interferon Cytokine Res*, 1996, Vol.16, S.315-320
28. DUSTIN M.L., GOLAN D.E., ZHU D.-M., MILLER J.M., MEIER W., DAVIES E.A., VAN DER MERWE P.A., Low Affinity Interaction of Human or Rat T Cell Adhesion Molecule CD2 With Its Ligand Aligns Adhering Membranes to Achieve High Physiological Affinity, *J Biol Chem*, 1997, Vol.272, S.30889-30898
29. DUSTIN M.L., SANDERS M.E., SHAW S., SPRINGER T.A., Purified Lymphocyte Function-associated Antigen 3 Binds to CD2 and Mediates T Lymphocyte Adhesion, *J Exp Med*, 1987, Vol.165, S.677-692
30. DUSTIN M.L., SPRINGER T.A., Role of Lymphocyte Adhesion Receptors in Transient Interactions and Cell Locomotion, *Annu Rev Immunol*, 1991, Vol.9, S.27-66
31. EDWARDS R.L., RICKLES F.R., The Role of Human T Cells (and T Cell Products) for Monocyte Tissue Factor Generation, *J Immunol*, 1980, Vol.125, S.606-609

32. ENTMAN M.L., BALLANTYNE C.M., Association of Neutrophils with Platelet Aggregates in Unstable Angina - Should We Alter Therapy?, *Circulation*, 1996, Vol.94, S.1206-1208
33. ENTMAN M.L., SMITH C.W., Postreperfusion Inflammation: A Model For Reaction to Injury in Cardiovascular Disease, *Cardiovasc Res*, 1994, Vol.28, S.1301-1311
34. ERNST E., HAMMERSCHMIDT D.E., BAGGE U., MATRAI A, DORMANDY J.A., Leukocytes and the Risk of Ischemic Diseases, *JAMA*, 1987, Vol.257, S.2318-2324
35. ESPINOLA-KLEIN C., RUPPRECHT H.J., BLANKENBERG S., BICKEL C., KOPP H., RIPPIN G., VICTOR A., HAFNER G., SCHLUMBERGER W., MEYER J. FOR THE ATHEROGENE INVESTIGATORS, Impact of Infectious Burden on Extent and Long-Term Prognosis of Atherosclerosis, *Circulation*, 2002, Vol.105, S.15-21
36. EVANGELISTA V., MANARINI S., SIDERI R., ROTONDO S., MARTELLI N., PICCOLI A., TOTANI L., PICCARDONI P., VESTWEBER D., DE GAETANO G., CERLETTI C., Platelet/Polymorphonuclear Leukocyte Interaction: P-Selectin Triggers Protein-Tyrosine Phosphorylation-Dependent CD11b/CD18 Adhesion: Role of PSGL-1 as a Signaling Molecule, *Blood*, 1999, Vol.93, S.876-885
37. FRANGOIANNIS N.G., SMITH C.W., ENTMAN M.L., The Inflammatory Response in Myocardial Infarction, *Cardiovasc Res*, 2002, Vol.53, S.31-47
38. FREEBURN J.C., WALLACE J.M.W., STRAIN J.J., SINNAMON D.G., CRAIG B.M., JOHNSON D., Monocyte Tissue Factor-Like Activity in Post Myocardial Infarction Patients, *Br J Haematol*, 1998, Vol.102, S.605-608
39. FREEDMAN J.E., LOSCALZO J., Platelet-Monocyte Aggregates - Bridging Thrombosis and Inflammation, *Circulation*, 2002, Vol.105, S.2130-2132

40. FROSTEGÅRD J., ULFGREN A.-K., NYBERG P., HEDIN U., SWEDENBORG J., ANDERSSON U., HANSSON G.K., Cytokine Expression in Advanced Human Atherosclerotic Plaques: Dominance of Pro-Inflammatory (Th1) and Macrophage-Stimulating Cytokines, *Atherosclerosis*, 1999, Vol.145, S.33-43
41. FURMANN M.I., BARNARD M.R., KRUEGER L.A., FOX M.L., SHILALE E.A., LESSARD D.M., MARCHESI P., FRELINGER A.L., GOLDBERG R.J., MICHELSON A.D., Circulating Monocyte-Platelet Aggregates are an Early Marker of Acute Myocardial Infarction, *J Am Coll Cardiol*, 2001, Vol.38, S.1002-1006
42. FURMANN M.I., BENOIT S.E., BARNARD M.R., VALERI C.R., BORBONE M.L., BECKER R.C., HECHTMAN H.B., MICHELSON A.D., Increased Platelet Reactivity and Circulating Monocyte-Platelet Aggregates in Patients with Stable Coronary Artery Disease, *J Am Coll Cardiol*, 1998, Vol.31, S.352-358
43. GOLDSTEIN J.A., DEMETRIOU D., GRINES C.L., PICA M., SHOUKFEH M., O'NEILL W.W., Multiple Complex Coronary Plaques in Patients With Acute Myocardial Infarction, *N Engl J Med*, 1999, Vol.343, S.915-922
44. GUTSTEIN D.E., FUSTER V., Pathophysiology and Clinical Significance of Atherosclerotic Plaque Rupture, *Cardiovasc Res*, 1999, Vol.41, S.323-333
45. HAHN W.C., BURAKOFF S.J., BIERER B.E., Signal Transduction Pathways Involved in T Cell Receptor-Induced Regulation of CD2 Avidity For CD58, *J Immunol*, 1993, Vol.150, S.2607-2619
46. HAMALAINEN H., ZHOU H., CHOU W., HASHIZUME H., HELLER R., LAHESMAA R., Distinct Gene Expression Profiles of Human Type 1 and Type 2 T Helper Cells, *Genome Biology*, 2001, Vol.2, Research0022.1-0022.11
47. HANSSON G.K., Immune Mechanisms in Atherosclerosis, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2001, Vol.21, S.1876-1890

48. HANSSON G.K., HOLM J., JONASSON L, Detection of Activated T Lymphocytes in the Human Atherosclerotic Plaque., *Am J Pathol*, 1989, Vol.135, S.169-175
49. HELIN H., EDGINGTON T.S., A Distinct "Slow" Cellular Pathway Involving Soluble Mediators for the T Cell-Instructed Induction of Monocyte Tissue Factor Activity in an Allogeneic Immune Response, *J Immunol*, 1984, Vol.132, S.2457-2463
50. HOFFMEISTER H.M., HELLER W., SEIPEL L., Gerinnung und Fibrinolyse bei Arteriosklerose, *Z Kardiol*, 1999, Vol.88, S.315-323
51. HUGHES C.C.W., SAVAGE C.O.S., POBER J.S., The Endothelial Cell As A Regulator of T-Cell Function, *Immunol Rev*, 1990, Vol.117, S.85-102
52. HÜNIG T., TIEFENTHALER G., MEYER ZUM BÜSCHENFELDE K.-H., MEUER S.C., Alternative Pathway Activation of T Cells by Binding of CD2 to its Cell-Surface Ligand, *Nature*, 1987, Vol.326, S.298-301
53. IKEDA H., NAKAYAMA H. ODA T, KUWANO K., YAMAGA A., UENO T., YOH M., HIYAMUTA K., KOGA Y. TOSHIMA H, Neutrophil Activation After Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty, *Am Heart J*, 1994, Vol.128, S.1091-1098
54. JORDAN J.E., ZHAO Z.-Q., VINTEN-JOHANSEN J., The Role of Neutrophils in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury, *Cardiovasc Res*, 1999, Vol.43, S.860-878
55. JUDE B., AGRAOU B., MCFADDEN E.P., SUSEN S., BAUTERS C., LEPELLEY P., VANHAESBROUCKE C., DEVOS P., COSSON A., ASSEMAN P., Evidence For Time-Dependent Activation of Monocytes in the Systemic Circulation in Unstable Angina But Not in Acute Myocardial Infarction or in Stable Angina, *Circulation*, 1994, Vol.90, S.1662-1668
56. KÁDÁR A., GLASZ T., Development of Atherosclerosis and Plaque Biology, *Cardiovasc Surg*, 2001, Vol.9, S.109-121

57. KOJIMA S., NONOGI H., MIYAO Y., MIYAZAKI S., GOTO Y., ITOH A., DAIKOKU S., MATSUMOTO T., MORII I., YUTANI C., Is Preinfarction Angina Related to the Presence or Absence of Coronary Plaque Rupture?, *Heart*, 2000, Vol.83, S.64-68
58. KOVANEN P.T., KAARTINEN M., PAAVONEN T., Infiltrates of Activated Mast Cells at the Site of Coronary Atheromatous Erosion or Rupture in Myocardial Infarction, *Circulation*, 1995, Vol.92, S.1084-1088
59. KOYASU S., LAWTON T., NOVICK D., RECNY M.A., SILICIANO R.F., WALLNER B.P., REINHERZ E.L., Role of Interaction of CD2 Molecules With Lymphocyte Associated Antigen 3 in T-Cell Recognition of Nominal Antigen, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990, Vol.87, S.2603-2607
60. LE GUINER S., LE DRÉAN E., LABARRIÈRE N., FONTENEAU J.-F., VIRET C., DIEZ E., JOTEREAU F., LFA-3 Co-stimulates Cytokine Secretion By Cytotoxic T Lymphocytes by Providing a TCR-Independent Activation Signal, *Eur J Immunol*, 1998, Vol.28, S.1322-1331
61. LEATHAM E.W., BATH P.M.W., TOOZE J.A., CAMM A.J., Increased Monocyte Tissue Factor Expression in Coronary Disease, *Br Heart J*, 1995, Vol.73, S.10-13
62. LEE W.H., LEE Y., KIM Y.R., CHU J.A., LEE S.Y., JUNG J.O., KIM J.S., KIM S., SEO J.D., RHEE S.S., PARK J.E., Activation of Monocytes, T-Lymphocytes and Plasma Inflammatory Markers in Angina Patients, *Exp Mol Med*, 1999, Vol.31, S.159-164
63. LEFER D.J., SHANDELYA S.M., SERRANO JR. C.V., BECKER L.C., KUPPUSAMY P., ZWEIER J.L., Cardioprotective Actions of a Monoclonal Antibody Against CD-18 in Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury, *Circulation*, 1993, Vol.88, S.1779-1787
64. LEY K., Molecular Mechanisms of Leukocyte Recruitment in the Inflammatory Process, *Cardiovasc Res*, 1996, Vol.32, S.733-742

65. LI J.M., ISLER P., DAYER J.M., BURGER D., Contact-Dependent Stimulation of Monocytic Cells and Neutrophils by Stimulated Human T-Cell Clones, *Immunology*, 1995, Vol.84, S.571-576
66. LIBBY P., Current Concepts of the Pathogenesis of the Acute Coronary Syndromes, *Circulation*, 2001, Vol.104, S.365-372
67. LIBBY P., EGAN D., SKARLATOS S., Roles of Infectious Agents in Atherosclerosis and Restenosis, *Circulation*, 1997, Vol.96, S.4095-4103
68. LIUZZO G., GORONZY J.J., YANG H., KOPECKY S.L., HOLMES D.R., FRYE R.L., WEYAND C.M., Monoclonal T-Cell Proliferation and Plaque Instability in Acute Coronary Syndromes, *Circulation*, 2000, Vol.102, S.2883-2888
69. LIUZZO G., KOPECKY S.L., FRYE R.L., O'FALLON M., MASERI A., GORONZY J.J., WEYAND C.M., Perturbation of the T-Cell Repertoire in Patients with Unstable Angina, *Circulation*, 1999, Vol.100, S.2135-2139
70. LIUZZO G., VALLEJO A.N., KOPECKY S.L., FRYE R.L., HOLMES D.R., GORONZY J.J., WEYAND C.M., Molecular Fingerprint of Interferon- γ Signaling in Unstable Angina, *Circulation*, 2001, Vol.103, S.1509-1514
71. LO S.K., CHEUNG A., ZHENG Q., SILVERSTEIN R.L., Induction of Tissue Factor on Monocytes by Adhesion to Endothelial Cells, *J Immunol*, 1995, Vol.154, S.4768-4777
72. LORENZET R., NAPOLEONE E., CELI A., PELLIGRINI G., DI SANTO A., Cell-Cell Interaction and Tissue Factor Expression, *Blood Coag Fibrinol*, 1998, Vol.9 (Suppl 1), S49-S59
73. MANN KG, VAN'T VEER C., CAWThERN K., BUTENAS S., The Role of the Tissue Factor Pathway in Initiation of Coagulation, *Blood Coag Fibrinol*, 1998, Vol.9 (Suppl 1), S3-S7

74. MANTEN A., DE WINTER R.J., MINNEMA M.C., TEN CATE H., LIJMER J.G., ADAMS R., PETERS R.J.G., VAN DEVENTER S.J.H., Procoagulant and Proinflammatory Activity in Acute Coronary Syndromes, *Cardiovasc Res*, 1998, Vol.40, S.389-395
75. MARX N., NEUMANN F.-J., OTT I., GAWAZ M., KOCH W., PINKAU T., SCHÖMIG A., Induction of Cytokine Expression in Leukocytes in Acute Myocardial Infarction, *J Am Coll Cardiol*, 1997, Vol.30, S.165-170
76. MARX N., NEUMANN F.-J., ZOHLNHÖFER D., DICKFELD T., FISCHER A., HEIMERL S., SCHÖMIG A., Enhancement of Monocyte Procoagulant Activity by Adhesion on Vascular Smooth Muscle Cells and Intercellular Adhesion Molecule-1-Transfected Chinese Hamster Ovary Cells, *Circulation*, 1998, Vol.98, S.906-911
77. MARZIO R., MAUEL J., BETZ-CORRADIN S., CD69 and Regulation of the Immune Function, *Immunopharmacol Immunotoxikol*, 1999, Vol.21, S.565-582
78. MAY A.E., SCHMIDT R., KANSE S.M., CHAVAKIS T., STEPHENS R.W., SCHÖMIG A., PREISSNER K.T., NEUMANN F.-J., Urokinase Receptor Surface Expression Regulates Monocyte Adhesion in Acute Myocardial Infarction, *Blood*, 2002, Vol.100, S.3611-3617
79. MAZZONE A., DE SERVI S., RICEVUTI G., MAZZUCHELLI I., FOSSATI G., PASOTTI D., BRAMUCCI E., ANGOLI L., MARSICO F., SPECCHIA G ET AL., Increased Expression of Neutrophil and Monocyte Adhesion Molecules in Unstable Coronary Artery Disease, *Circulation*, 1993, Vol.88, S.358-363
80. MAZZONI M.C., SCHMID-SCHÖNBEIN G.W., Mechanisms and Consequences of Cell Activation in the Microcirculation, *Cardiovasc Res*, 1996, Vol.32, S.709-719
81. MCALLISTER P.T., ELLIS T.M., CD2 Regulates T Cell-Dependent Induction of Monocytes IL-1 β mRNA During Anti-CD3 Mitogenesis, *Cell Immunol*, 1996, Vol.170, S.120-126

82. MCVEY J.H., Tissue Factor Pathway, *Baillière's Best Pract Res Clin Haematol*, 1999, Vol.12, S.361-372
83. MEISEL S.R., SHAPIRO H., RADNAY J., NEUMAN Y., KHASKIA A.R., GRUENER N., PAUZNER H., DAVID D., Increased Expression of Neutrophil and Monocyte Adhesion Molecules LFA-1 and Mac-1 and Their Ligand ICAM-1 and VLA-4 Throughout the Acute Phase of Myocardial Infarction - Possible Implications For Leukocyte Aggregation and Microvascular Plugging, *J Am Coll Cardiol*, 1998, Vol.31, S.120-125
84. MICHELSON A.D., BARNARD M.R., KRUEGER L.A., VALERI C.R., FURMANN M.I., Circulating Monocyte-Platelet Aggregates are a More Sensitive Marker of in Vivo Platelet Activation Than Platelet Surface P-Selectin - Studies in Baboons, Human Coronary Intervention, and Human Acute Myocardial Infarction, *Circulation*, 2001, Vol.104, S.1533-1537
85. MICKELSON J.K., ALI M.N., KLEIMAN N.S., LAKKIS N.M., CHOW T.W., HUGHES B.J., SMITH C.W., Chimeric 7E3 Fab (Reopro) Decreases Detectable CD11b on Neutrophils from Patients Undergoing Coronary Angioplasty, *J Am Coll Cardiol*, 1999, Vol.33, S.97-106
86. MICKELSON J.K., LAKKIS N.M., VILLAREAL-LEVY G., HUGHES B.J., SMITH C.W., Leukocyte Activation With Platelet Adhesion After Coronary Angioplasty: A Mechanism for Recurrent Disease?, *J Am Coll Cardiol*, 1996, Vol.28, S.345-53
87. MORENO P.R., BERNARDI V.H., LOPEZ-CUELLAR J., MURCIA A.M., PALACIOS I.F., GOLD H.K., MEHRAN R., SHARMA S.K., NEMERSON Y., FUSTER V., FALLON J.T., Macrophages, Smooth Muscle Cells, and Tissue Factor in Unstable Angina - Implications for Cell-Mediated Thrombogenicity in Acute Coronary Syndromes, *Circulation*, 1996, Vol.94, S.3090-3097

88. MORENO P.R., FALK E., PALACIOS I.F., NEWELL J.B., FUSTER V., FALLON J.T., Macrophage Infiltration in Acute Coronary Syndromes. Implications For Plaque Rupture., *Circulation*, 1994, Vol.90, S.775-778
89. MUTIN M., CANAVY I., BLANN A., BORY M., SAMPOL J., DIGNAT-GEORGE F., Direct Evidence of Endothelial Injury in Acute Myocardial Infarction and Unstable Angina by Demonstration of Circulating Endothelial Cells, *Blood*, 1999, Vol.93, S.2951-2958
90. NAKAGOMI A., FREEMAN S.B., GECZY C.L., Interferon- γ and Lipopolysaccharide Potentiate Monocyte Tissue Factor Induction by C-Reactive Protein - Relationship with Age, Sex, and Hormone Replacement Treatment, *Circulation*, 2000, Vol.101, S.1785-1791
91. NAKAJIMA T., SCHULTE S., WARRINGTON K.J., KOPECKY S.L., FRYE R.L., GORONZY J.J., WEYAND C.M., T-Cell-Mediated Lysis of Endothelial Cells in Acute Coronary Syndromes, *Circulation*, 2002, Vol.105, S.570-575
92. NAPOLEONE E., DI SANTO A., CAMERA M., TREMOLI E., LORENZET R., Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors Downregulate Tissue Factor Synthesis in Monocytes, *Circ Res*, 2000, Vol.86, S.139-143
93. NEMERSON Y., GIESEN P.L.A., Some Thoughts About Localization and Expression of Tissue Factor, *Blood Coag Fibrinol*, 1998, Vol.9 (Suppl 1), S45-S47
94. NERI SERNERI G.G., ABBATE R., GORI A.M., ATTANASIO M., MARTINI F., GIUSTI B., DABIZZI P., POGGESI L., MODESTI P.A., TROTTA F., ROSTAGNO C., BODDI M., GENSINI G.F., Transient Intermittent Lymphocyte Activation Is Responsible for the Instability of Angina, *Circulation*, 1992, Vol.86, S.790-797
95. NERI SERNERI G.G., PROSCO D., MARTINI F., GORI A.M., BRUNELLI T., POGGESI L., ROSTAGNO C., GENSINI G.F., ABBATE R., Acute T-Cell Activation Is Detectable in Unstable Angina, *Circulation*, 1997, Vol.95, S.1806-1812

96. NEUMANN F.-J., KASTRATI A., MIETHKE T., POGATSA-MURRAY G., MEHILLI J., VALINA C., JOGETHAEI N., DA COSTA C. P., WAGNER H., SCHÖMIG A., Treatment of *Chlamydia pneumoniae* Infection With Roxithromycin and Effect on Neointima Proliferation After Coronary Stent Placement (ISAR-3): A Randomised, Double-blind, Placebo-controlled Trial, *Lancet*, 2001, Vol.357, S.2085-2089
97. NEUMANN F.-J., MARX N., GAWAZ M., BRAND K., OTT I., ROKITTA C., STICHERLING C., MEINL C., MAY A., SCHÖMIG A., Induction of Cytokine Expression in Leukocytes by Binding of Thrombin-Stimulated Platelets, *Circulation*, 1997, Vol.95, S.2387-2394
98. NEUMANN F.-J., OTT I., GAWAZ M., RICHARDT G., HOLZAPFEL H., JOCHUM M., SCHÖMIG A., Cardiac Release of Cytokines and Inflammatory Responses in Acute Myocardial Infarction, *Circulation*, 1995, Vol.92, S.748-755
99. NEUMANN F.-J., OTT I., MARX N., LUTHER T., KENNGOTT S., GAWAZ M., KOTZSCH M., SCHÖMIG A., Effect of Human Recombinant Interleukin-6 and Interleukin-8 On Monocyte Procoagulant Activity, *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1997, Vol.17, S.3399-3405
100. NEUMANN F.-J., ZOHLNHÖFER D., FAKHOURY L., OTT I., GAWAZ M., SCHÖMIG A., Effect of Glycoprotein IIb/IIIa Receptor Blockade on Platelet-Leukocyte Interaction and Surface Expression of the Leukocyte Integrin Mac-1 in Acute Myocardial Infarction, *J Am Coll Cardiol*, 1999, Vol.34, S.1420-1426
101. O'GARRA A., ARAI N., The Molecular Basis of T Helper 1 and T Helper 2 Cell Differentiation, *Trends Cell Biol*, 2000, Vol.10, S.542-550
102. OSADA M., TAKEDA S., OGAWA R., KOMORI S., TAMURA K., T Lymphocyte Activation and Restenosis After Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty, *J Interferon Cytokine Res*, 2001, Vol.21, S.219-21

103. ØSTERUD B., Tissue Factor Expression By Monocytes: Regulation and Pathophysiological Roles, *Blood Coag Fibrinol*, 1998, Vol.9 (Suppl 1), S9-S14
104. OTT I., ANDRASSY M., ZIEGLGÄNSBERGER D., GEITH S., SCHÖMIG A., NEUMANN F.-J., Regulation of Monocyte Procoagulant Activity in Acute Myocardial Infarction: Role of Tissue Factor and Tissue Factor Pathway Inhibitor-1, *Blood*, 2001, Vol.97, S.3721-3726
105. OTT I., NEUMANN F.-J., GAWAZ M., SCHMITT M., SCHÖMIG A., Increased Neutrophil-Platelet Adhesion in Patients with Unstable Angina, *Circulation*, 1996, Vol.94, S.1239-1246
106. OTT I., NEUMANN F.-J., KENNGOTT S., GAWAZ M., SCHÖMIG A., Procoagulant Inflammatory Responses of Monocytes After Direct Balloon Angioplasty in Acute Myocardial Infarction, *Am J Cardiol*, 1998, Vol.82, S.938-942
107. PARRY S.L., SEBBAG M., FELDMANN M., BRENNAN F.M., Contact With T Cells Modulates Monocyte IL-10 Production - Role of T Cell Membrane TNF- α , *J Immunol*, 1997, Vol.158, S.3673-3681
108. PETER K., SCHWARZ M., CONRADT C., NORDT T., MOSER M., KÜBLER W., BODE C., Heparin Inhibits Ligand Binding to the Leukocyte Integrin Mac-1 (CD11b/CD18), *Circulation*, 1999, Vol.100, S.1533-1539
109. PICCARDONI P., SIDERI R., MANARINI S., PICCOLI A., MARTELLI N., DE GAETANO G., CERLETTI C., EVANGELISTA V., Platelet/Polymorphonuclear Leukocyte Adhesion: A New Role for SRC Kinases in Mac-1 Adhesive Function Triggered by P-Selectin, *Blood*, 2001, Vol.98, S.108-116
110. PLUNKETT M.L., SANDERS M.E., SELVARAJ P., DUSTIN M.L., SPRINGER T.A., Rosetting of Activated Human T-Lymphocytes With Autologous Erythrocytes - Definition of the Receptor and Ligand Molecules as CD2 and Lymphocyte Function-associated Antigen 3 (LFA-3), *J Exp Med*, 1987, Vol.165, S.664-676

111. RABBANI L.E., Acute Coronary Syndromes – Beyond Myocyte Necrosis, *N Engl J Med*, 2001, Vol.345, S.1057-1059
112. REZKALLA S.H., KLONER R.A., No-Reflow Phenomenon, *Circulation*, 2002, Vol.105, S.656-662
113. RIDKER P.M., On Evolutionary Biology, Inflammation, Infection, and the Causes of Atherosclerosis, *Circulation*, 2002, Vol.105, S.2
114. RIDKER P.M., CUSHMAN M., STAMPFER M.J., TRACY R.P., HENNEKENS C.H., Inflammation, Aspirin, and the Risk of Cardiovascular Disease in Apparently Healthy Men, *N Engl J Med*, 1997, Vol.336, S.973-979
115. ROSS R., Atherosclerosis - An Inflammatory Disease, *N Engl J Med*, 1999, Vol.340, S.115-126
116. RUPPRECHT H.J., BLANKENBERG S., BICKEL C., RIPPIN G., HAFNER G., PRELLWITZ W., SCHLUMBERGER W., MEYER J. FOR THE ATHEROGENE INVESTIGATORS, Impact of Viral and Bacterial Infectious Burden on Long-Term Prognosis in Patients with Coronary Artery Disease, *Circulation*, 2001, Vol.104, S.25-31
117. SANCHO D., YÁÑEZ-MÓ M., TEJEDOR R., SÁNCHEZ-MADRID F., Activation of Peripheral Blood T Cells By Interaction and Migration Through Endothelium: Role of Lymphocyte Function Antigen-1/Intercellular Adhesion Molecule-1 and Interleukin-15, *Blood*, 1999, Vol.93, S.886-896
118. SANTIS A.G., LOPEZ-CABRERA M., SANCHEZ-MADRID F., PROUDFOOT N., Expression of the Early Lymphocyte Activation Antigen CD69, a C-Type Lectin, is Regulated by mRNA Degradation Associated with AU-Rich Sequence Motifs., *Eur J Immunol*, 1995, Vol.25, S.2142-2146
119. SARMA J., LAAN C.A., ALAM S., JHA A., FOX K.A.A., DRANSFIELD I., Increased Platelet Binding to Circulating Monocytes in Acute Coronary Syndromes, *Circulation*, 2002, Vol.105, S.2166-2171
120. SCHMITZ G., HERR A.S., ROTHE G., T-Lymphocytes and Monocytes in Atherogenesis, *Herz*, 1998, Vol.23, S.168-77

121. SEINO Y., SETSUTA K., TOMITA Y., NEJIMA J., TAKANO T., HAYAKAWA H., Increased Plasma Levels of Interleukin-6 and Myocardial Stunning After Coronary Reperfusion Therapy, *Am J Cardiol*, 1995, Vol.76, S.718-720
122. SERRANO C.V., RAMIRES J.A.F., VENTURINELLI M., ARIE S., D'AMICO E., ZWEIER J.L., PILEGGI F., DA LUZ P.L. , Coronary Angioplasty Results in Leukocyte and Platelet Activation With Adhesion Molecule Expression - Evidence of Inflammatory Responses in Coronary Angioplasty, *J Am Coll Cardiol*, 1997, Vol.29, S.1276-83
123. SERRANO C.V., YOSHIDA V.M., VENTURINELLI M.L., D'AMICO E., MONTEIRO H.P., RAMIRES J.A., DA LUZ P.L., Effect of Simvastatin on Monocyte Adhesion Molecule Expression in Patients with Hypercholesterolemia, *Atherosclerosis*, 2001, Vol.157, S.505-512
124. SHAH P.K., Plaque Disruption and Thrombosis: Potential Role of Inflammation and Infection, *Cardiol Rev*, 2000, Vol.8, S.31-39
125. SHERIDAN F.M., DAUBER I.M., MCMURTRY I.F., LESNEFSKY E.J., HORWITZ L.D., Role of Leukocytes in Coronary Vascular Endothelial Injury Due to Ischemia and Reperfusion, *Circ Res*, 1991, Vol.69, S.1566-1574
126. SIMON A.D., YAZDANI S., WANG W., SCHWARTZ A., RABBANI L.E., Elevated Plasma Levels of Interleukin-2 and Soluble IL-2 Receptor in Ischemic Heart Disease, *Clin Cardiol*, 2001, Vol.24, S.253-256
127. SIMPSON P.J., TODD R.F. 3RD, FANTONE J.C., MICKELSON J.K., GRIFFIN J.D., LUCCHESI B.R., Reduction of Experimental Canine Myocardial Reperfusion Injury by a Monoclonal Antibody (Anti-Mo1, Anti-CD11b) That Inhibits Leukocyte Adhesion, *J Clin Invest*, 1988, Vol.81, S.624-629

128. SMITH-NOROWITZ T.A., SHANI J., WEISER W., SCHULHOFF N., NOROWITZ K., LICHSTEIN E., MOKHTARIAN F., Lymphocyte Activation in Angina Pectoris, *Clin Immunol*, 1999, Vol.93, S.168-175
129. SPRINGER T.A., DUSTIN M.L., KISHIMOTO T.K., MARLIN S.D., The Lymphocyte Function-Associated LFA-1, CD2, and LFA-3 Molecules: Cell Adhesion Receptors of the Immune System, *Annu Rev Immunol*, 1987, Vol.5, S.223-52
130. STEMME S., FABER B., HOLM J., WIKLUND O., WITZTUM J.L., HANSSON G.K., T Lymphocytes From Human Atherosclerotic Plaques Recognize Oxidized Low Density Lipoprotein, *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, Vol.92, S.3893-3897
131. SUEFUJI H., OGAWA H., YASUE H., KAIKITA K. SOEJIMA H., MOTOYAMA T., MIZUMI K., OSHIMA S., SAITO T., TSUJI I., KUMEDA K., KAMIKUBO Y., NAKAMURA S., Increased Plasma Tissue Factor Levels in Acute Myocardial Infarction, *Am Heart J*, 1997, Vol.134, S.253-259
132. SULLIVAN G.W., SAREMBOCK I.J., LINDEN J., The Role of Inflammation in Vascular Diseases, *J Leukoc Biol*, 2000, Vol.67, S.591-602
133. TAKESHITA S., ISSHIKI T., OCHIAI M., ISHIKAWA T., NISHIYAMA Y., FUSANO T., TOYOIZUMI H., KONDO K., ONO Y., SATO T., Systemic Inflammatory Responses in Acute Coronary Syndrome: Increased Activity Observed in Polymorphonuclear Leukocytes But Not T Lymphocytes, *Atherosclerosis*, 1997, Vol.135, S.187-192
134. TANIGUCHI T., Structure and Function of IL-2 and IL-2 Receptors, *Behring Inst Mitt*, 1992, Vol.91, S.87-95
135. TASHIRO H., SHIMOKAWA H., YAMAMOTO K., NAGANO M., MOMOHARA M., MURAMUTU K., TAKESHITA A., Monocyte-Related Cytokines in Acute Myocardial Infarction, *Am Heart J*, 1995, Vol.130, S.446-52

136. TESTI R. D'AMBROSIO D. DE MARIA R., SANTONI A., The CD69 Receptor: A Multipurpose Cell-Surface Trigger For Hematopoietic Cells, *Immunol Today*, 1994, Vol.15, S.479-483
137. TOPOL E.J., Toward A New Frontier in Myocardial Reperfusion Therapy - Emerging Platelet Preeminence, *Circulation*, 1998, Vol.97, S.211-218
138. TOSCHI V., GALLO R., LETTINO M., FALLON J.T., GERTZ S.D., FERNANDEZ-ORTIZ A., CHESEBRO J.H., BADIMON L., NEMERSON Y., FUSTER V., BADIMON J.J, Tissue Factor Modulates the Thrombogenicity of Human Atherosclerotic Plaques, *Circulation*, 1997, Vol.95, S.594-599
139. TOSS H., LINDAHL B., SIEGBAHN A., WALLENTIN L. FOR THE FRISC STUDY GROUP, Prognostic Influence of Increased Fibrinogen and C-Reactive Protein Levels in Unstable Coronary Artery Disease, *Circulation*, 1997, Vol.96, S.4204-4210
140. VAN DER MERWE P.A., A Subtle Role for CD2 in T Cell Antigen Recognition, *J Exp Med*, 1999, Vol.10, S.1371-1374
141. VAN DER WAL A.C., BECKER A.E., Atherosclerotic Plaque Rupture - Pathologic Basis of Plaque Stability and Instability, *Cardiovasc Res*, 1999, Vol.41, S.334-344
142. VAN DER WAL A.C., BECKER A.E., VAN DER LOOS C.M., DAS P.K., Site of Intimal Rupture or Erosion of Thrombosed Coronary Atherosclerotic Plaques Is Characterized by an Inflammatory Process Irrespective of the Dominant Plaque Morphology, *Circulation*, 1994, Vol.89, S.36-44
143. VAN DER WAL A.C., DAS P.K., BENTZ VAN DE BERG D., VAN DER LOOS C.M., BECKER A.E., Atherosclerotic Lesions in Humans. In Situ Immunophenotypic Analysis Suggesting an Immune Mediated Response., *Lab Invest*, 1989, Vol.61, S.166-170

144. VERMEIREN G.L.J., CLAEYS M.J., VAN BOCKSTAELE D., GROBBEN B., SLEGERS H., BOSSAERT L., JORENS P.G., Reperfusion Injury After Focal Myocardial Ischemia: Polymorphonuclear Leukocyte Activation and its Clinical Implications, *Resuscitation*, 2000, Vol.45, S.35-61
145. WATANABE T., FAN J., Atherosclerosis and Inflammation - Mononuclear Cell Recruitment and Adhesion Molecules with Reference to the Implication of ICAM-1/LFA-1 Pathway in Atherogenesis, *Int J Card*, 1998, Vol.66 (Suppl 1), S45-S53
146. WEBER C., ERL W., WEBER K.S., WEBER P.C., HMG-CoA-Reductase Inhibitors Decrease CD11b Expression and CD11b-Dependent Adhesion of Monocytes to Endothelium and Reduce Increased Adhesiveness of Monocytes Isolated from Patients with Hypercholesterolemia, *J Am Coll Cardiol*, 1997, Vol.30, S.1212-1217
147. YOUKER K.A., BEIRNE J., LEE J., MICHAEL L.H., SMITH C.W., ENTMAN M.L., Time-Dependent Loss of Mac-1 from Infiltrating Neutrophils in the Reperfused Myocardium, *J Immunol*, 2000, Vol.164, S.2752-2758
148. ZALAI C.V., KOLODZIEJCZYK M.D., PILARSKI L., CHRISTOV A., NATION P.N., LUNDSTROM-HOBMAN M., TYMCHAK W., DZAVIK V., HUMEN D.P., KOSTUK W.J., JABLONSKY G., PFLUGFELDER P.W., BROWN J.E., LUCAS A., Increased Circulating Monocyte Activation in Patients with Unstable Coronary Syndromes, *J Am Coll Cardiol*, 2001, Vol.38, S.1340-1347

8 Abkürzungsverzeichnis

ACS	Akutes Koronarsyndrom (<i>acute coronary syndrome</i>)
APC	Antigen-präsentierende Zelle (<i>antigen presenting cell</i>)
CCS	<i>Canadian Cardiovascular Society</i>
CD	<i>cluster of differentiation</i>
CK	Kreatinkinase
CRP	C-reaktives Protein
CPDA	Natrium-Citrat, Phosphatpuffer, Dextrose, Adenin
ELISA	enzymgekoppelter Immunabsorptionstest (<i>enzyme-linked immunoabsorption assay</i>)
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
EKG	Elektrokardiogramm
FACS	Fluoreszenz-aktivierter Zellsortierer (<i>fluorescence-activated cell sorter</i>)
FITC	Fluorescein 5-Isothiocyanat
ICAM-1	<i>Intercellular adhesion molecule-1</i>
IgG	Immunglobulin G
IFN- γ	Interferon- γ
IL	Interleukin
KHK	Koronare Herzerkrankung
LAD	Ramus interventricularis anterior (<i>left anterior descending coronary artery</i>)
LFA	<i>leukocyte function-associated antigen</i>
mAb	monoklonaler Antikörper (<i>monoclonal antibody</i>)
MHC	<i>major histocompatibility complex</i>
PFA	Paraformaldehyd
PCA	pro-koagulatorische Aktivität (<i>pro-coagulant activity</i>)
PBS	Phosphatpuffer (<i>phosphate buffered saline</i>)
PE	Phycoerythrin
PSGL-1	P-Selektin Glykoprotein Ligand-1
PTCA	perkutane transluminale Koronarangioplastie
rpm	Umdrehungen pro Minute (<i>rounds per minute</i>)
RCA	rechte Koronararterie

RCX	Ramus circumflexus der linken Koronararterie
TF	Gewebefaktor (<i>tissue factor</i>)
TFPI	<i>Tissue Factor Pathway Inhibitor</i>
TIMI	<i>Thrombolysis In Myocardial Infarction Trial</i>
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor (<i>tumor necrosis factor</i>)

9 Originalarbeiten

Ott I, Andrassy M, Zieglgänsberger D, Geith S, Schömig A, Neumann FJ.
Regulation of monocyte procoagulant activity in acute myocardial infarction: role of tissue factor and tissue factor pathway inhibitor-1. Blood
2001;97:3721-26

Lebenslauf

Dominik Zieglgänsberger
geboren am 14. November 1973 in München

Schulbildung und Zivildienst

1979 - 1983	Grundschule an der Ostpreußenstraße München
1983 - 1992	Wilhelm-Hausenstein-Gymnasium München
1992 - 1993	Zivildienst und Pflegepraktikum im Städtischen Krankenhaus München-Bogenhausen

Hochschulausbildung

Mai 1994	Beginn des Studiums der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität, München
März 1996	Physikum
März 1997	1. Staatsexamen
April 2000	2. Staatsexamen
bis März 2001	Praktisches Jahr (Wahlfach: Neurologie)
Mai 2001	3. Staatsexamen, Gesamtnote: "gut"

Beruflicher Werdegang

ab Oktober 2001	Arzt im Praktikum in der Abteilung für Neurologie und Klinische Neurophysiologie am Städtischen Krankenhaus München-Bogenhausen
seit April 2003	Assistenzarzt ebendort

Danksagung

Ich möchte mich besonders bei Herrn Prof. Dr. med. Franz-Josef Neumann für die Überlassung des interessanten Themas und die Unterstützung beim Zustandekommen dieser Arbeit bedanken.

Sehr herzlich danke ich Frau Dr. med. Ilka Ott, die mir bei der Realisierung und der Vollendung dieser Arbeit stets zur Seite stand, für die persönliche Beratung und Betreuung.

Mein besonderer Dank gilt den medizinisch-technischen und labor-technischen Assistentinnen, insbesondere Frau Corinna Huber und Frau Tanja Nordte, ohne die diese Arbeit nicht entstehen hätte können.

Weiterhin möchte ich mich bei meinen Mitdoktoranden Valerie Malouvier und Stefanie Geith für die produktive Zusammenarbeit und gegenseitige Unterstützung bedanken.