Aus der

Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen

Abteilung Innere Medizin III

(Schwerpunkt: Kardiologie und Angiologie)

# Die Bedeutung von CXCR4/CXCR7 und Interaktionspartnern in den verschiedenen Subtypen von Monozyten bei der Entstehung der koronaren Herzkrankheit und des akuten Koronarsyndroms

**Inaugural-Dissertation**
**zur Erlangung des Doktorgrades**
**der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät**
**der Eberhard Karls Universität**
**zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Naeeni, Soheil**

**2024**

Dekan: Professor Dr. B. Pichler

1. Berichterstatter: Privatdozentin Dr. I. Müller
2. Berichterstatter: Professor Dr. C. Burgstahler

Tag der Disputation: 03.06.2024

# Inhaltsverzeichnis

Abbildungsverzeichnis

Tabellenverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1. Einleitung....1
1.1 Die Koronare Herzkrankheit....1
1.2 Die Atherosklerose....1
1.2.1 Response to Injury Theory....2
1.2.2 Klinische Ausprägung der KHK....7
1.3 Monozyten und monozytäre Marker....7
1.3.1 Morphologie und Funktion von Monozyten und Makrophagen....8
1.3.2 CD14....9
1.3.3 CD16....9
1.3.4 Chemokine und Chemokinrezeptoren....10
1.3.5 Die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse....11
1.3.5.1 Die Rolle der SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse bei der Entstehung der KHK und des ACS....13
1.3.6 MIF....16
1.3.6.1 Die Rolle von MIF in der Atherosklerose und KHK....17
1.4 Ziele der Studie....19
2. Material und Methoden....20
2.1 Materialien....20
2.1.1 Datenauswertung....22
2.2 Methoden....23
2.2.1 Patientenkollektiv....23
2.2.2 Blutabnahme und Aufbereitung....24
2.2.3 Durchflusszytometrie....24
2.2.4 Auswertung der Messungen....26
2.2.5 Statistische Auswertung....28
3. Ergebnisse....29
3.1 Charakteristika der Studienkohorte....29
3.2 Expression der Oberflächenrezeptoren in den verschiedenen Monozyten-Subtypen....32

3.2.1 Die SDF-1-Expression zeigt bei keinem der Monozyten-Subtypen einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit KHK und ACS.....32
3.2.2 Die CXCR4-Expression zeigt bei keinem der Monozyten-Subtypen einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit KHK und ACS.....34
3.2.3 Die CXCR7-Expression ist auf klassischen Monozyten bei Patienten mit ACS signifikant höher als bei Patienten mit SAP.....36
3.2.4 Die MIF-Expression zeigt bei keinem der Monozyten-Subtypen einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit KHK und ACS.....38
4. Diskussion.....41
4.1 Patientencharakteristika.....41
4.2 Klinische Bedeutung der Oberflächenexpression von SDF-1.....42
4.3 Klinische Bedeutung der Oberflächenexpression von CXCR4.....43
4.4 Klinische Bedeutung der Oberflächenexpression von CXCR7.....45
4.5 Klinische Bedeutung der Oberflächenexpression von MIF.....47
4.6 Limitation.....48
5. Zusammenfassung.....49
6. Literaturverzeichnis.....51
7. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift.....64
8. Danksagung.....65

**Abbildungsverzeichnis**

Abbildung 1: Migration von Monozyten aus dem Blut in die Intima.....3
Abbildung 2: Bildung einer fibrös-fettigen Plaque.....4
Abbildung 3: Ausreifung der atherosklerotischen Plaque.....5
Abbildung 4: Thrombotische Komplikationen einer Atherosklerose.....6
Abbildung 5: Prinzip der Durchflusszytometrie.....26
Abbildung 6: Gating-Strategie zur isolierten Betrachtung von Monozyten und Aufteilung dieser in die Monozyten-Subtypen.....27
Abbildung 7: SDF-1 Expression auf klassischen Monozyten.....33
Abbildung 8: SDF-1 Expression auf nicht klassischen Monozyten.....33
Abbildung 9: SDF-1 Expression auf intermediären Monozyten.....34
Abbildung 10: CXCR4-Expression auf klassischen Monozyten.....35
Abbildung 11: CXCR4-Expression auf nicht klassischen Monozyten.....35
Abbildung 12: CXCR4-Expression auf intermediären Monozyten.....36
Abbildung 13: CXCR7-Expression auf klassischen Monozyten.....37
Abbildung 14: CXCR7-Expression auf nicht klassischen Monozyten.....37
Abbildung 15: CXCR7-Expression auf intermediären Monozyten.....38
Abbildung 16: MIF-Expression auf klassischen Monozyten.....39
Abbildung 17: MIF-Expression auf nicht klassischen Monozyten.....39
Abbildung 18: MIF-Expression auf intermediären Monozyten.....40

**Tabellenverzeichnis**

Tabelle 1: Verbrauchsmaterialien.....20
Tabelle 2: Technische Hilfsmittel.....21
Tabelle 3: Antikörper zur Färbung.....21
Tabelle 4: Chemikalien zur Aufbereitung.....22
Tabelle 5: Materialien für das FACS.....22
Tabelle 6: Einteilung Patientencharakteristika.....23
Tabelle 7: Patientencharakteristika.....29

**Abkürzungsverzeichnis**

| | |
|---|---|
| ACE | Angiotensin Converting Enzyme |
| ACKR3 | Atypical Chemokine Receptor 3 |
| ACS | Akutes Koronarsyndrom |
| ADCC | Antibody-Dependent-Cell-Mediated Cytotoxicity |
| ADP | Adenosindiphosphat |
| ASS | Acetylsalicylsäure |
| AT1 | Angiotensin-1 |
| CCL2 | C-C Chemokine Ligand 2 |
| CCR2 | C-C Chemokine Receptor Type 2 |
| CD | Cluster of Differentiation |
| CK | Kreatinkinase |
| CPDA | Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin |
| CRP | C-reaktives Protein |
| CX3CL1 | CX3 Chemokine Ligand 1 |
| CX3CR1 | CX3 Chemokine Receptor 1 |
| CXCL12 | CXC-Motiv-Chemokin 12 |
| CXCR4 | CXC-Chemokinrezeptor 4 |
| CXCR7 | CXC-Chemokinrezeptor 7 |
| EF | Ejektionsfraktion |
| EKG | Elektrokardiographie |
| FSC | Forward Scatter |
| FMO | Fluorescence Minus One |
| GPIIb/IIIa | Glykoprotein IIb/IIIa |
| HIF-1 | Hypoxie-induzierter Faktor 1 |
| HIV | Human Immunodeficiency Virus |
| NSTEMI | Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt |
| IAP | Instabile Angina Pectoris |

| | |
|---|---|
| IL-6 | Interleukin-6 |
| KHK | Koronare Herzkrankheit |
| LBP | Lipopolysaccharid-bindendes Protein |
| LDL | Low Density Lipoproteine |
| LV | Linksventrikulär |
| LVEF | Linksventrikuläre Ejektionsfraktion |
| MAPK | Mitogen-Activated Protein Kinase |
| MFI | Mean Fluorescence Intensity |
| MHC-2 | Major Histocompatibility Complex 2 |
| MIF | Macrophage Migration Inhibitory Factor |
| NT-proBNP | N-terminal pro Brain Natriuretic Peptide |
| PBS | Phosphate-Buffered Saline |
| PFA | Paraformaldehyd |
| SAP | Stabile Angina Pectoris |
| SDF | Stromal-Cell-Derived-Factor |
| SSC | Side Scatter |
| STEMI | ST-Streckenhebungsinfarkt |
| TLR4 | Toll-Like-Rezeptor 4 |
| TNF | Tumor-Nekrose-Faktor |

# 1. Einleitung

## 1.1 Die Koronare Herzkrankheit

Die KHK (Koronare Herzkrankheit) gehört zu den Herz-Kreislauferkrankungen. Diese sind die häufigste Todesursache in den Industrienationen. Laut dem Statistischen Bundesamt sind sie mit einem Anteil von 37 % auch die häufigste Todesursache in der Bundesrepublik Deutschland. Von den insgesamt 344 524 Menschen, die im Jahr 2017 an einer Herz-Kreislauferkrankung verstorben sind, bildeten mit 76 900 Toten die chronisch ischämischen Herzkrankheiten, wie die KHK auch genannt wird, die größte Gruppe (1). In der Studie zur Gesundheit Erwachsener des Robert-Koch-Instituts zeigte sich in Deutschland bei 40- bis 79-Jährigen eine Lebenszeitprävalenz der KHK von 9,3 % (Frauen 6,4 %; Männer 12,3 %) (2). Damit ist die KHK auch eine der häufigsten Erkrankungen in Deutschland.

Als Hauptursache der KHK gilt die Atherosklerose (3). Durch die Verengung des Gefäßlumens der Koronargefäße kommt es zu einer verminderten Blutversorgung der Herzmuskulatur. Dies führt dazu, dass die Sauerstoffversorgung geringer als der Sauerstoffbedarf ist. Es gibt zwei Gruppen, in die sich diese Erkrankung aufteilen lässt. Bei der ersten Gruppe handelt es sich um die stabile Angina Pectoris (SAP) als chronische Form der KHK und bei der zweiten Gruppe um das akute Koronarsyndrom (ACS), das die instabile Angina Pectoris (IAP), den Nicht-ST-Streckenhebungsinfarkt (NSTEMI) und ST-Streckenhebungsinfarkt (STEMI) beschreibt.

## 1.2 Die Atherosklerose

Bei der Atherosklerose handelt es sich um eine chronisch entzündliche Erkrankung der arteriellen Gefäßwand, die insbesondere größere Arterien wie beispielsweise die Aorta, Carotiden und Herzkranzgefäße betrifft und zu einer Verengung des Gefäßlumens führt (4,5). Die Atherosklerose als Hauptursache der KHK hat verschiedenste Ursachen, die bisher jedoch nicht gänzlich geklärt sind.

Aktuell gilt die von Ross und Glosmet dargestellte und im Laufe der Zeit immer wieder zur Studienlage aktualisierte „Response to Injury Theory“ als das gängigste pathophysiologische Erklärungsmodell und wird im Folgenden weiter erläutert (6).

### 1.2.1 Response to Injury Theory

Erste Phase: Endotheldysfunktion

Die Atherosklerose beginnt zunächst mit einer Endotheldysfunktion. Verschiedene Risikofaktoren für eine Endotheldysfunktion und damit auch für eine KHK wie Nikotinkonsum, Bluthochdruck, Adipositas, das Lebensalter und Hypercholesterinämie wurden in der Framingham-Studie entdeckt. Durch eine chronische Endothelbelastung kommt es auf Dauer zu einer Zunahme der Arterienwanddicke, die daraufhin zu einer vermehrten Adhäsion von Thrombozyten und Leukozyten führt (6). Es kommt dabei auch zur Einlagerung sogenannter Low Density Lipoproteine (LDL) in die Intima der Gefäße und zu einer Lipidperoxidation durch freie Radikale (7).

Zweite Phase: Inflammatorische Phase

Oxidiertes LDL führt zu einer Chemotaxis von Monozyten. Dabei werden Adhäsionsmoleküle von Endothelzellen exprimiert. Daraufhin wandern vermehrt Entzündungszellen in die Intima der Gefäße ein (8).

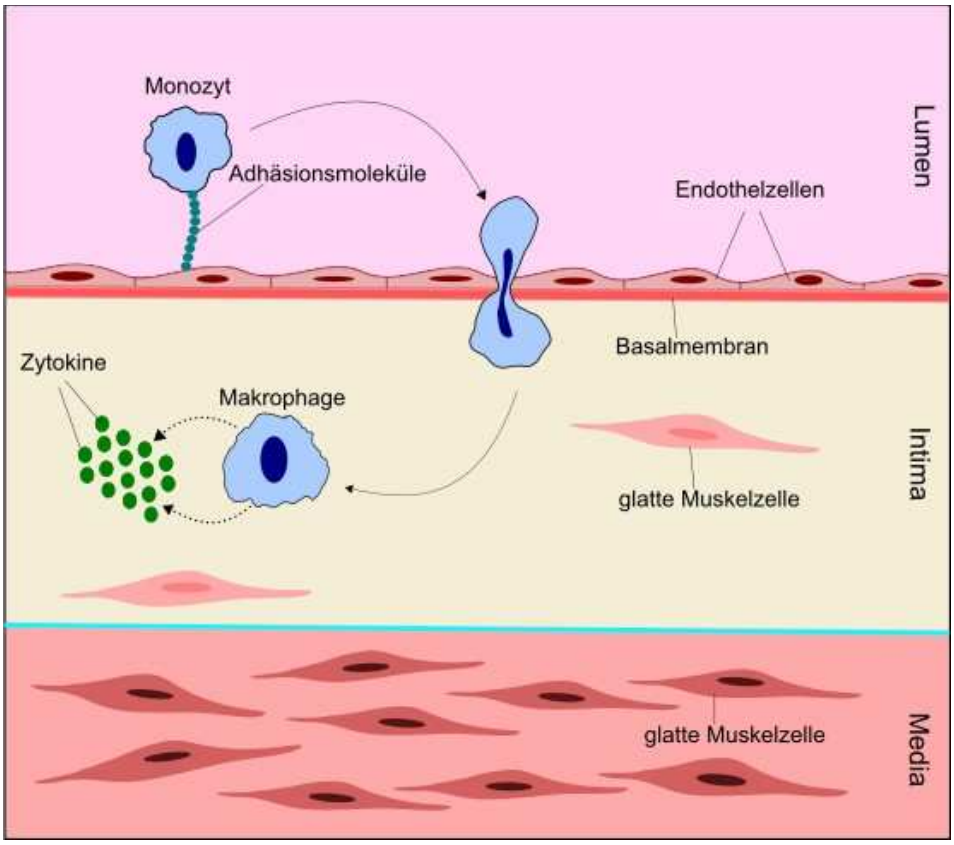


Abbildung 1: Migration von Monozyten aus dem Blut in die Intima (modifiziert nach (8)). Die arterielle Gefäßwand ist aus drei Schichten aufgebaut. Zum Lumen hin ist die innerste Schicht die Intima mit einer Schicht aus Endothelzellen auf einer Basalmembran als Grenze zum Blut. Darunter liegt die Media bestehend aus glatten Muskelzellen und einer elastinreichen Extrazellulärmatrix. Die Adventitia als dritte und äußerste Schicht ist hier nicht dargestellt. Auf der Intima kommt es zur Expression von Adhäsionsmolekülen durch oxidativen oder inflammatorischen Stress aufgrund von Risikofaktoren. Diese Adhäsionsmoleküle führen dann zur Bindung und Migration von immunologischen Zellen wie beispielsweise Monozyten.

### Dritte Phase: Differenzierung von Schaumzellen

In der dritten Phase differenzieren sich die Monozyten innerhalb der Gefäßintima durch Zytokine beeinflusst zu Makrophagen. Mit Hilfe des Scavenger Receptor nehmen sie anschließend oxidiertes LDL auf (8). Dass oxidiertes LDL zur Differenzierung von Monozyten zu Schaumzellen führt, hat man bereits 1987 vermutet (9).

Vierte Phase: Einwanderung der glatten Muskelzellen und Bildung einer Plaque
Glatte Muskelzellen wandern von der Tunica Media in die Intima ein. Dieser Prozess geschieht aufgrund von Stimulationsreizen verschiedener Zytokine, wie beispielsweise platelet-derived growth factor. Vermittelt durch die Sekretion proinflammatorischer Mediatoren durch Schaumzellen produzieren die eingewanderten glatten Muskelzellen vermehrt extrazelluläre Matrix-Moleküle wie beispielsweise Kollagen, Elastin und Glykosaminoglykane (8).

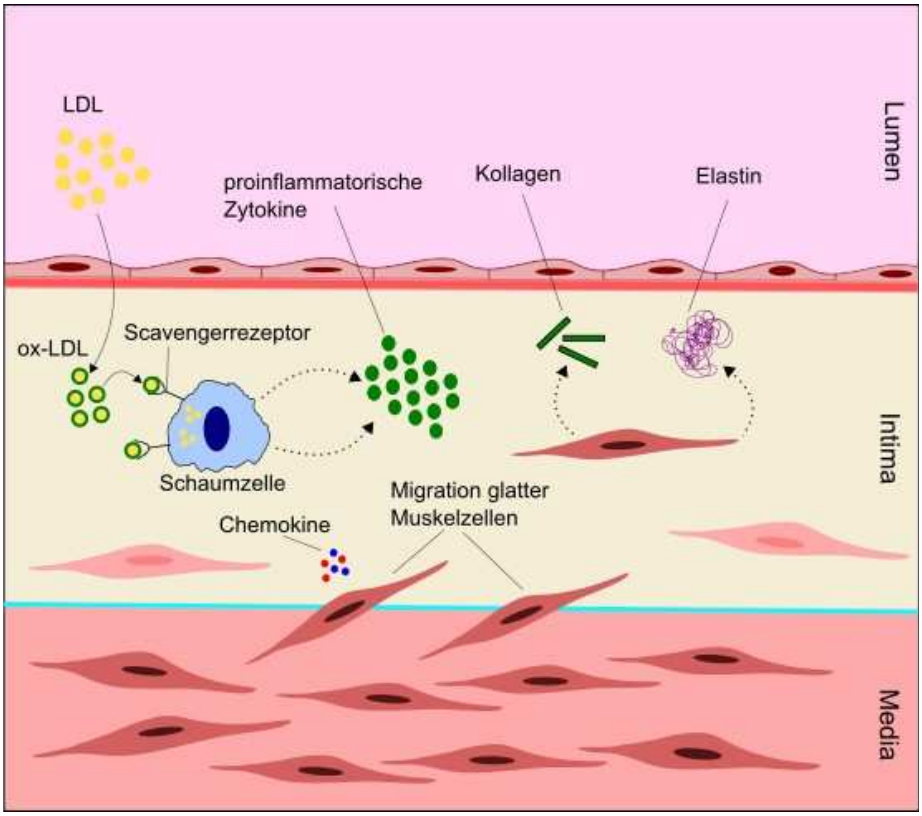


Abbildung 2: Bildung einer fibrös-fettigen Plaque (modifiziert nach (8)). Zur Bildung einer fibrösen Plaque kommt es durch die Migration glatter Muskelzellen aus der Media in die Intima. Hier bilden sie vermehrt Kollagen und Elastin und geben sie in die Extrazellulärmatrix ab. Die eingewanderten Makrophagen in der Intima nehmen über Rezeptoren oxidiertes LDL (ox-LDL) auf und differenzieren sich zu Schaumzellen um. Dabei geben sie verschiedene Stoffe wie Zytokine/Chemokine ab, welche die weitere Migration und die Produktion von Extrazellulärmatrix der glatten Muskelzellen fördern.

Daraus entsteht eine fibröse Schutzschicht, welche auf der thrombogenen Lipidplaque sitzt und zu einer Trennung der Plaque vom Blut führt. Die

Bestandteile der Plaque sind Debris, Schaumzellen und Lipide (8). Im Laufe der Zeit kann die Plaque das Gefäßlumen immer weiter verengen.

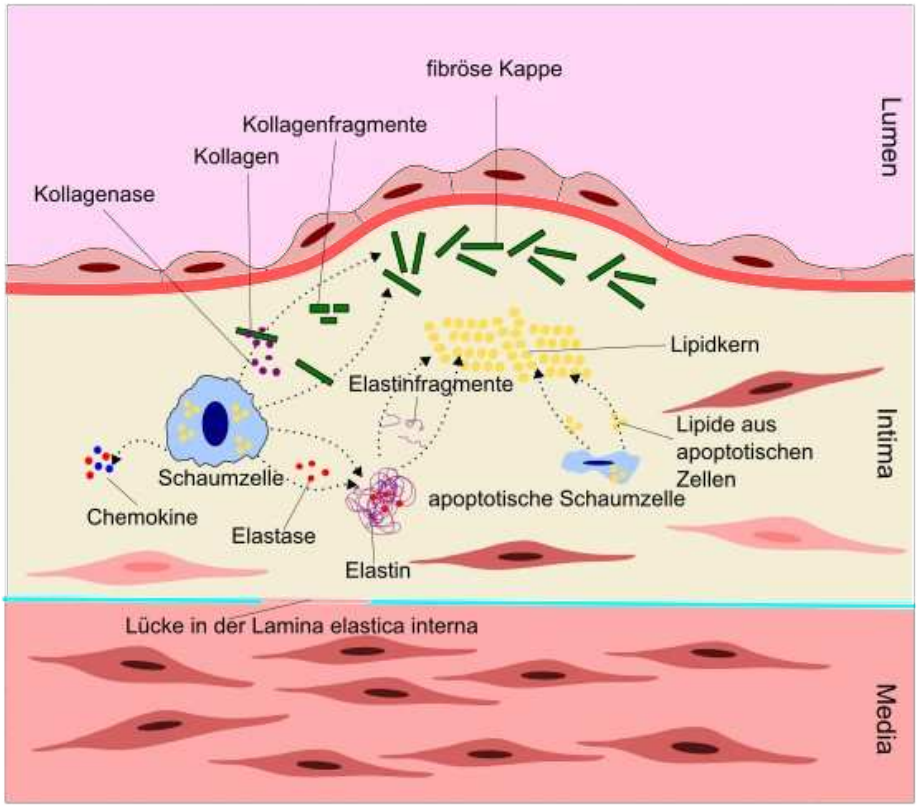


Abbildung 3: Ausreifung der atherosklerotischen Plaque (modifiziert nach (8)). Ausgereifte Läsionen entwickeln eine fibröse Kappe aus dichter Extrazellulärmatrix, die Kollagen und Elastin enthält. Es bildet sich ein Lipidkern, der viele lebende oder apoptotische Makrophagen, Zellreste, und extrazelluläre Lipidansammlungen enthält. Entzündungsfördernde Chemokine können die Zellapoptose verstärken. Insbesondere aktivierte Makrophagen sezernieren Proteinasen, welche die Makromoleküle der Extrazellulärmatrix aufspalten. Dies kann zu einer Schwächung der fibrösen Kappe führen.

Fünfte Phase: Plaqueruptur und Thrombembolien

Verschiedene Proteinasen werden durch den Einfluss inflammatorischer Zytokine exprimiert. Diese können die extrazellulären Matrixmoleküle spalten und damit die fibröse Schutzschicht der Plaques destabilisieren. Dadurch steigt die Gefahr einer Plaqueruptur (10).

Komplizierte Läsionen wie beispielsweise Plaquerupturen haben, wie bereits 1982 gezeigt, ein höheres Risiko zum plötzlichen Herztod oder einem akuten Herzinfarkt zu führen als unkomplizierte Läsionen (11). Insbesondere der

Schulterbereich von Plaques ist von Instabilitäten betroffen und kann damit auch zu Thrombembolien führen, was in Studien gezeigt werden konnte (12).

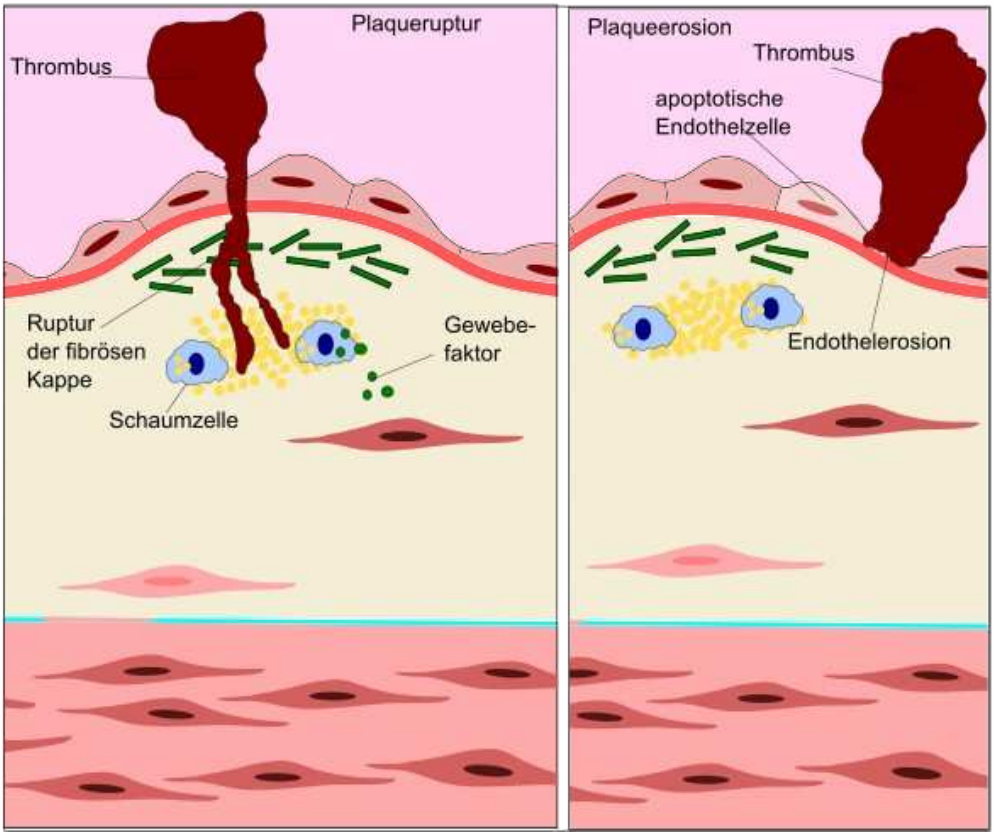


Abbildung 4: Thrombotische Komplikationen einer Atherosklerose (modifiziert nach (8)). Es sind zwei Mechanismen bekannt, über die eine Atherosklerose zu einer Thrombosierung des Gefäßes führen kann. Auf dem linken Bild ist eine Plaqueruptur dargestellt. Hierbei kommt es durch die zuvor genannten Prozesse zu einer Schwächung der fibrösen Kappe, die schließlich zu einer vollständigen Ruptur dieser führt. Dadurch kommt es zum Kontakt von Bestandteilen der Plaque mit Blut, was zur Aktivierung der Blutgerinnung führt. Der zweite Mechanismus ist die Plaqueerosion möglicherweise durch Apoptose von Endothelzellen.

Verschiedene Arbeiten konnten zeigen, dass eine Plaqueruptur die Hauptursache für eine Koronarthrombose ist, unabhängig davon wie ein Patient sich klinisch präsentiert (13). Kommt es durch die zuvor genannten Proteinasen zu einer Ruptur der Schutzschicht, können sich Bestandteile des Blutes wie Gerinnungsfaktoren an den Gewebefaktor der Makrophagen und glatten Muskelzellen binden und zu einer Thrombosierung führen (8).

Eine weitere Form der Plaqueschädigung, die jedoch noch nicht ganz verstanden ist, ist die Plaqueerosion. Da im erodierten Bereich das Endothel fehlt, haben die Intima und die darin enthaltenen Proteoglykane und glatten Muskelzellen Kontakt zum Thrombus. Im Gegensatz zu einer Plaqueruptur ist hierbei die Media noch intakt (14).

### 1.2.2 Klinische Ausprägung der KHK

Die KHK kann aufgrund ihrer verschiedenen Ätiologien, unterschiedlichen Schweregrade der Gefäßverschlüsse, Thrombenbildung und Größe des Infarktareals verschiedene klinische Ausprägungen zeigen. Damit lässt sich die stabile Angina Pectoris vom akuten Koronarsyndrom unterscheiden. Als Kriterien zur Unterscheidung dienen die Klinik, die Elektrokardiographie (EKG) und bestimmte Laborwerte (15).

Eine sehr gering ausgeprägte Klinik, ein Normalbefund im EKG und eine fehlende Erhöhung des Troponins sprechen am ehesten gegen eine kardiale Erkrankung. Bei steigender klinischer Symptomatik und steigendem Troponin erhöht sich auch die Wahrscheinlichkeit für einen Herzinfarkt. Tritt zusätzlich noch eine ST-Streckenhebung im EKG auf, so ist dies ein Zeichen für einen STEMI im Gegensatz zu einem NSTEMI bei fehlender ST-Streckenhebung. Von einer stabilen Angina Pectoris spricht man, wenn die Klinik in Zusammenhang mit Sport, körperlicher Aktivität und unter emotionaler Belastung auftritt. Jede neu aufgetretene Angina Pectoris (de-novo-Angina) und eine Angina Pectoris in Ruhe werden als instabile Angina Pectoris bezeichnet (15).

## 1.3 Monozyten und monozytäre Marker

Monozyten sind, wie bereits gezeigt, maßgeblich an der Entstehung der Atherosklerose und damit auch der KHK beteiligt. Daher werden sie und ihre monozytären Adhäsionsproteine im Folgenden genauer beschrieben.

### 1.3.1 Morphologie und Funktion von Monozyten und Makrophagen

In der Regel differenzieren sich Zellen im Blut entweder aus der lymphatischen oder myeloischen Stammzelllinie (16).

Monozyten stammen aus myeloischen Stammzellen und gehören zur Untergruppe der Leukozyten. Im Körper erfüllen sie hauptsächlich immunologische Funktionen. Ihre Bluttransitzeit beträgt etwa 32 Stunden und sie haben einen Anteil von 5-10 % an den Leukozyten (17). Sobald Monozyten das Blut verlassen und in das umgebende Gewebe wandern, differenzieren sie sich zu dendritischen Zellen oder Makrophagen (17,18). Dies geschieht insbesondere bei akuten Entzündungsreaktionen (19), um den Körper vor äußeren Einflüssen zu schützen (20).

Bei den Monozyten handelt es sich um eine sehr heterogene Gruppe, insbesondere was ihre Differenzierungsfähigkeit zu anderen Zellen, ihre Größe und ihre Oberflächenrezeptoren angeht. Humane Monozyten können mit Hilfe der durchflusszytometrisch entdeckten Oberflächenmoleküle CD14 und CD16 (Cluster of Differentiation 14/16) (21) in die drei Untergruppen klassisch ($CD14^{++}/CD16^{-}$), nicht klassisch ($CD14^{+}/CD16^{++}$) und intermediär ($CD14^{++}/CD16^{+}$) eingeteilt werden (21,22).

80-90 % der Monozyten sind der klassischen Gruppe zuzuordnen und sind hauptsächlich für Phagozytose verantwortlich. Sie tragen den C-C Chemokine Receptor Type 2 (CCR2) und können beeinflusst durch die chemotaktische Wirkung des C-C-Chemokin-Ligand 2 (CCL2) wandern (23).

Nicht-klassische Monozyten produzieren besonders viel Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) und MHC-2 (22). Sie können insbesondere bei Patienten mit Sepsis und akuten und chronischen Infektionen erhöht sein (24,25).

Intermediäre Monozyten wandern in Gewebe ein, welche CX3CL1 (CX3 Chemokine Ligand 1) exprimieren und tragen selbst CX3CR1 (CX3 Chemokine Receptor 1) und CD16 (23). Sie können auch eine antiinflammatorische Wirkung haben, indem sie Interleukin-10 bilden und sind phagozytotisch aktiver

als nicht klassische Monozyten, wobei sie weniger Antigene präsentieren (26). Man vermutet, dass intermediäre Monozyten eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Atherosklerose spielen. Sie exprimieren nämlich auch CD11b, das wichtig für die Bindung der Monozyten an das Gefäßendothel ist (27) und außerdem zur Bindung von LDL an die Monozyten führt (28), wodurch sie wiederum vermehrt CD11b exprimieren (29).

Zusammenfassend zeigt sich, dass Monozyten durch ihre Migration zu Entzündungsherden und ihre Differenzierung wichtige immunologische Funktionen erfüllen. Verschiedene Chemokine können durch Bindung an Oberflächenrezeptoren ihre Funktion von außen beeinflussen und sie können auch selbst Zytokine und Chemokine abgeben (30). Phagozytose und Antigenpräsentation, beispielsweise an T-Lymphozyten, gehören zu den weiteren Aufgaben der Monozyten (31).

### 1.3.2 CD14

Das Oberflächenprotein CD14 wird insbesondere von Makrophagen und Monozyten auf der Zellmembran exprimiert, befindet sich jedoch auch gelöst im Blut. Die Bindung zur Membran besteht aus einem Glycosylphosphatidyl-inositol-Anker (32). Eine Funktion von CD14 findet sich bei der Phagozytose von Zellen nach ihrer Apoptose (33). Außerdem ist es auch ein Co-Rezeptor und verstärkt die Funktion des Toll-Like-Rezeptor 4 (TLR4) und des Lipopolysaccharid-bindenden-Proteins (LBP), die den Makrophagen und Monozyten bei der Entdeckung von bakteriellen Lipopolysacchariden helfen (34,35). Dadurch geben sie bei Kontakt proinflammatorische Zytokine ab.

### 1.3.3 CD16

Das Oberflächenprotein CD16 hat Einfluss auf immunologische und inflammatorische Prozesse. Es handelt sich dabei um einen Typ 3 Fcγ-Rezeptor, den es in den zwei Isoformen FcyIIIa (CD16a), sowie FCyIIIb (CD16b) gibt (36). Mastzellen, Makrophagen und natürliche Killerzellen exprimieren CD16a.

CD16b wird von neutrophilen Granulozyten exprimiert und spielt eine wichtige Rolle bei ihrer Degranulation. Es ist mit einem GPI-Anker an die Zellmembran der neutrophilen Granulozyten gebunden (36). Die antikörperabhängige zellvermittelte Zytotoxizität (ADCC) der NK-Zellen wird durch CD16 ausgelöst. CD16 kann auch mit MHC-Klasse-1-Molekülen (Major Histocompatibility Complex-1) in Wechselwirkung treten, um die Apoptose von beispielsweise Krebszellen oder von Viren befallenen Zellen auszulösen (37).

### 1.3.4 Chemokine und Chemokinrezeptoren

Chemokine gehören zu den Zytokinen. Sie sind die größte Gruppe innerhalb der Zytokine (38). Es handelt sich dabei um niedermolekulare Proteine. Sie steuern die Wanderung von Zellen als Mediatoren (39,40). In den Genen von sieben Spezies wurden bislang insgesamt 127 verschiedene Chemokine und 70 verschiedene Chemokinrezeptoren entdeckt (41), wobei über 40 dieser Chemokine beim Menschen identifiziert wurden (42).

Durch die Bindung von Chemokinen an G-Protein gekoppelte Rezeptoren werden über intrazelluläre Signalübertragung Zellmigration und Zellaktivierung gefördert (40). Zur Klasse A der G-Protein-gekoppelten Chemokinrezeptoren lassen sich die meisten Chemokinrezeptoren zuordnen. Sie haben mit sieben Transmembrandomänen und α-Helix den klassischen Aufbau von G-Proteinen (43).

Chemokine werden anhand des biochemischen Aufbaus in die vier Gruppen CXC, CC, CX3C und C eingeteilt. Diese Eingruppierung erfolgt auf Basis der unterschiedlichen Abfolgen der ersten zwei von vier Cysteinresten (44). α-Chemokine, die auch als CXC-Chemokine bezeichnet werden, haben zwischen den ersten beiden Cysteinresten eine weitere Aminosäure (44). Bei β-Chemokinen, auch CC-Chemokine genannt, befinden sich die ersten zwei Cysteinreste direkt nebeneinander (44). γ-Chemokine oder CX3C-Chemokine haben drei beliebige Aminosäuren zwischen den ersten beiden Cysteinresten (44). Bei den δ-Chemokinen, die auch als C-Chemokine bezeichnet werden, gibt es nur zwei der sonst vier Cysteinreste an der üblichen Position (44). Chemokinliganden tragen noch zusätzlich ein L im Namen, während

Chemokinrezeptoren ein R in der Bezeichnung tragen, wie beispielsweise CXCL oder CXCR (44).
Neben der G-Protein gekoppelten ist eine weitere Art der Signalübertragung bekannt, die über Glykosaminoglykane funktioniert (45).
Es gibt Chemokinrezeptoren, die nur einen Liganden binden, aber auch welche, die mehrere Liganden binden können (46). Chemokine sind nicht nur bei der Zellmigration mitbeteiligt, sondern auch bei Angiogenese, Hämatopoese, Regeneration und Inflammation (47,48).

### 1.3.5 Die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse

Die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse ist eine Chemokin-Rezeptor-Achse, die eine wichtige Rolle bei verschiedensten Zellfunktionen wie Zellmigration und Zelldifferenzierung bei diversen Zellarten spielt (49–52). Der Aufbau und die Funktion der einzelnen Elemente der SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse wird im Folgenden erläutert und der bisher bekannte Einfluss auf die Entstehung und den Progress der KHK und des ACS erklärt.

Bei SDF-1α handelt es sich um ein Chemokin, das zur Untergruppe der α-Chemokine gehört und auch den Namen CXCL12 trägt (53,54). Den Namen stromal-cell-derived-factor (SDF) hat das Chemokin daher, dass es ursprünglich als wachstumsfördernd für B-Lymphozyten beschrieben wurde und man es erstmals aus der Stromazelllinie von Mäuseknochenmark isolierte (55). Bisher kennt man die sechs Isoformen SDF-1α, SDF-1β, SDF-1γ, SDF-1δ, SDF-1ε und SDF-1φ, wobei SDF-1α am häufigsten vorkommt (56).
Physiologisch wird besonders viel SDF-1 im Knochenmark produziert und unter anderem im Gehirn, in der Lunge, in der Leber und von Endothelzellen (57,58). Es bindet an die Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 (49–51).
SDF-1 hat eine große Breite an Funktionen und spielt unter anderem eine Rolle bei der Neurogenese, Angiogenese und Zellmigration (52,59). Insbesondere bei der Stammzellmigration und Proliferation ist SDF-1 relevant (60). Knockout-Mäuse mit fehlendem SDF-1-Gen waren nicht lebensfähig und zeigten schwere neuronale, vaskuläre, kardiale und hämatopoetische Schäden (61,62). Als

klinisch relevant zeigte SDF-1 sich bei HIV-Infektionen, diversen Krebserkrankungen und Multipler Sklerose (59,63–65).

CXCR4, auch CD184 genannt, wurde ursprünglich als LESTR bezeichnet (66). Es handelt sich dabei um einen G-Protein gekoppelten α-Chemokinrezeptor mit sieben Transmembrandomänen. Anfangs wurde er nur als Co-Faktor für den Eintritt von HIV in Zellen beschrieben (67). Als erster Ligand von CXCR4 wurde SDF-1 entdeckt (63,68). Ein weiterer Ligand des Rezeptors ist MIF (69).
Diverse Zellen sind in der Lage CXCR4 zu exprimieren. Dazu gehören Leukozyten, hämatopoetische Stammzellen und außerdem Endothel-, Stroma- und Epithelzellen des Knochenmarks, der Lunge und des Dünndarms (70). Nicht nur das bereits beschriebene Ausschalten des SDF-1-Gens bei Mäusen, sondern auch des CXCR4-Gens führt zum perinatalen Tod (62). Über die SDF-1-CXCR4-Achse wird das Überleben und die Migration embryonaler Stammzellen gesteuert (71). Auch das sogenannte Homing von Stamm- und Progenitorzellen zum Knochenmark und ihre Mobilisation wird darüber gelenkt (72).
CXCR4 scheint eine Rolle in der Pathogenese und bei der Metastasierung verschiedener Krebsarten zu spielen (73). Hypoxische Bedingungen steigern die Expression von CXCR4 im betroffenen Gewebe über die Ausschüttung von HIF-1 (Hypoxie-induzierter Faktor 1) und sorgen damit für eine verstärkte Migration, Adhäsion und ein gesteigertes Überleben der Zellen (74–76).

Bei CXCR7, auch ACKR3 genannt, handelt es sich wie bei CXCR4 um einen α-Chemokinrezeptor (77). Ursprünglich als RDC-1 bezeichnet hat es eine zehnfache höhere Affinität zu SDF-1 als CXCR4 (51) und fungiert auch als Co-Rezeptor beim Eindringen von HIV in Zellen (78). Im Gegensatz zu CXCR4 handelt es sich hierbei nicht um einen typischen G-Protein-gekoppelten Rezeptor. Stattdessen findet die Signalübertragung über β-Arrestin und MAPK (Mitogen Activated Protein Kinase) vermittelt statt (79,80). Außerdem ist CXCR7 ein Scavengerrezeptor und entfernt daher SDF-1 aus der Umgebung der Zelle (64,81). Es konnte gezeigt werden, dass es durch SDF-1 zu einer

Heterodimerisierung von CXCR4 und CXCR7 kommen kann, was zu einer Aktivierung des β-Arrestin vermittelten Signalwegs führt (82), während der G-Protein gekoppelte Signalweg gehemmt wird (82,83). CXCR7 wird auf verschiedenen Zellen exprimiert wie neuronalen Vorläuferzellen, aktivierten Endothelzellen und hämatopoetischen Zellen (70).

Neben SDF-1 bindet auch MIF an CXCR7 und verhindert die Apoptose von Thrombozyten (84). Durch die Aktivierung von CXCR7 kommt es zu einem gesteigerten Zellüberleben und einer gesteigerten Zelladhäsion, was unter anderem auch bei Krebserkrankungen eine Rolle spielt (85). Der Einfluss von CXCR7 auf Krebserkrankungen zeigt sich auch darin, dass verschiedene Tumorarten wie Brust- und Lungenkrebs CXCR7 exprimieren (64,85). Mäuse mit fehlendem CXCR7 zeigten kardiovaskuläre Schäden und eine erhöhte postnatale Mortalität (86,87). Unter Hypoxie kommt es insbesondere in Tumorgewebe und in mesenchymalen Stammzellen zu einer gesteigerten Oberflächenexpression von CXCR7 (88,89)

#### 1.3.5.1 Die Rolle der SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse bei der Entstehung der KHK und des ACS

In bisherigen Studien konnte ein wichtiger Einfluss der SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse auf die Entstehung der KHK, des ACS und auf die Monozytenfunktion festgestellt werden, wie im Folgenden genauer erläutert wird.

SDF-1-Gaben zeigten in einer Studie an Mäusen einen stabilisierenden Effekt auf endotheliale Läsionen und atherosklerotischen Plaques (90). Zu diesem Effekt kam es durch SDF-1 induzierte Migration von Stammzellen des Endothels und der glatten Muskulatur in die betroffenen Gefäße (91,92). Wie bereits erläutert, spielen Thrombozyten eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der Atherosklerose und können neben den bereits genannten Gewebearten bei Aktivierung auch SDF-1 abgeben (93–95). Das freigegebene SDF-1 führt zur Differenzierung von $CD34^+$-Stammzellen in Endothelzellen oder Makrophagen bzw. Schaumzellen (96,97). SDF-1 scheint außerdem einen kardioprotektiven Effekt zu haben, indem es für den Erhalt der linksventrikulären Funktion nach einem Myokardinfarkt sorgt (98). Patienten, die

an einem ACS leiden, zeigen eine erhöhte SDF-1 Expression in Thrombozyten (99).

CXCR4 kommt auf einer großen Zahl von Zellen vor wie Thrombozyten und Monozyten, die an der Entstehung einer Atherosklerose beteiligt sind (70,100). Da CXCR4 als Chemokinrezeptor von SDF-1 fungiert, werden viele der bereits beschriebenen Effekte von SDF-1 über CXCR4 vermittelt. Der kardioprotektive Effekt von SDF-1 nach Myokardinfarkt (98) beispielsweise wird über CXCR4 vermittelt, da in einer Studie nach Blockade des Rezeptors mit AMD3100 diese Wirkung ausblieb und es bei den Patienten zu einem schlechteren Outcome kam (101,102). Bei erhöhter CXCR4-Expression des Myokards laufen Reparaturvorgänge im Myokardgewebe durch mesenchymale Stammzellen verstärkt ab (103). Die SDF-1-CXCR4-Achse scheint auch eine Rolle bei der Restenose von Arterien nach Revaskularisation zu spielen, indem eine Intimahyperplasie gefördert wird (104). Dazu gibt es jedoch gegensätzliche Ergebnisse (105). Das in atherosklerotischen Plaques gehäuft vorkommende oxidierte LDL führt zu einer gesteigerten Expression von CXCR4. Dadurch kommt es zu einer erhöhten Migration von Makrophagen in das Gewebe (106). Patienten mit ACS zeigten im Vergleich zu gesunden Probanden eine gesteigerte Expression von CXCR4 auf Thrombozyten (107). Mittels nuklearmedizinischer Verfahren konnte eine gesteigerte CXCR4 Expression in makrophagenreichen Regionen atherosklerotischer Plaques in vivo nachgewiesen werden (108).

Die Oberflächenexpression von CXCR7 an Endothelzellen spielt eine wichtige Rolle für die vaskuläre Homöostase und das kardiale Remodeling nach einem Myokardinfarkt (109). Es konnte gezeigt werden, dass CXCR7 den Cholesterinstoffwechsel beeinflusst, da dessen Aktivierung zu einer gesteigerten Aufnahme von VLDL in das Fettgewebe führte und damit einen atheroprotektiven Effekt hat (110). Bei der Umwandlung von Monozyten zu Makrophagen/Schaumzellen kommt es zu einer Hochregulierung der Oberflächenexpression von CXCR7 und einer gesteigerten Phagozytoseaktivität (111).

Über CXCR7 kommt es zu einer Zelladhäsion von Monozyten an das thrombozytäre SDF-1 und zu einer Phagozytose von Thrombozyten. Über die SDF-1-CXCR7-Achse wird außerdem das Überleben und die Differenzierung von Monozyten zu Schaumzellen gefördert (112).
Die Migration kardialer Stammzellen wird neben CXCR4 auch über die SDF-1-CXCR7-Achse reguliert, was eine wichtige Rolle bei der Regeneration der Herzmuskulatur nach einem Myokardinfarkt spielt (113).
Die CXCR7-Expression auf Thrombozyten ist bei Patienten mit ACS gegenüber Patienten mit stabiler Angina pectoris erhöht. Die gesteigerte Expression ist assoziiert mit einer verbesserten Regeneration der Herzmuskulatur nach ACS und einem verlängerten Überleben der Thrombozyten nach STEMI (107,114).

Zusammenfassend hat die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse einen wichtigen Einfluss auf die Monozytenfunktion bei der Entstehung der KHK und des ACS (112). Dies zeigt sich bei der Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen, da CXCR7 dabei verstärkt exprimiert wird, während sich die Expression von CXCR4 verringert. Dabei werden proinflammatorische Signalwege aktiviert, die zu einer gesteigerten Phagozytoseaktivität von Monozyten führen (111). Es gibt Hinweise darauf, dass die SDF-1-vermittelte Migration von Monozyten eher durch Aktivierung von CXCR4 als CXCR7 gefördert wird (112). Es konnte auch gezeigt werden, dass die Zelladhäsion von Monozyten an aktivierte Thrombozyten über CXCR7 stattfindet, das an SDF-1 bindet. SDF-1 wird hier von Thrombozyten exprimiert, die sich in atherosklerotischen Plaques befinden (112). Auf die Zelladhäsion folgt die Phagozytose der Thrombozyten durch Monozyten. Dies wird durch Aktivierung von CXCR4 und CXCR7 durch von Thrombozyten exprimiertes SDF-1 gefördert (112). Chatterjee et al. konnten zeigen, dass nicht nur die Zelladhäsion und Phagozytoseaktivität von Monozyten über die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse gesteigert werden, sondern auch das Zellüberleben und infolgedessen die Zelldifferenzierung. Die Differenzierung von Monozyten durch Phagozytose von oxidiertem LDL wird über die Aktivierung von CXCR4 und CXCR7 durch SDF-1 gefördert. Über diese Prozesse führt die Aktivierung der SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse in

Monozyten letztendlich zu einer Förderung von Atherosklerose und damit auch der KHK und des ACS.
Daher bietet die Chemokinachse einen Ansatzpunkt für neue antiinflammatorische Medikamente, um die Entstehung und das Fortschreiten dieser Erkrankungen zu verhindern. Ein Beispiel für einen solchen Wirkstoff ist der CXCR4-Antagonist AMD3100. Es konnte in Studien gezeigt werden, dass es durch die Gabe von AMD3100 nach einem Myokardinfarkt zu einem besseren Outcome kam (115). Durch die Mobilisation von Stamm- und Vorläuferzellen aus dem Knochenmark führte es zu einer verbesserten Regeneration nach einem Myokardinfarkt (116).
Die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse könnte ein Ziel für antiinflammatorische Medikamente darstellen, durch welche sich eine Verbesserung der Therapie und Prognose von Patienten mit KHK und ACS ergeben kann.

### 1.3.6 MIF

Ursprünglich wurde der Macrophage Migration Inhibitory Factor (MIF) als ein Protein entdeckt, das von T-Lymphozyten abgegeben wird und, wie der Name schon zeigt, die Wanderung von Makrophagen hemmt (117–119). Inzwischen ist bekannt, dass es sich um ein komplexeres und pleiotropes Zytokin handelt, das verschiedenste Funktionen hat. Neben T-Lymphozyten produzieren auch Endothelzellen, Monozyten und Makrophagen MIF (120,121).
MIF hat einen entzündungsfördernden Effekt und wichtige Funktionen bei der toxischen Reaktion auf Endotoxämie und septischem Schock (122). Die Glukokortikoid vermittelte Hemmung der Zytokin-Ausschüttung durch Lipopolysaccharide wird von MIF verhindert (123).

Durch MIF stimulierte Makrophagen geben TNF-alpha ab und wirken proinflammatorisch, nachdem MIF durch TNF-alpha stimuliert wird (120). MIF beeinflusst unterschiedliche entzündliche Erkrankungen wie die Psoriasis, die rheumatoide Arthritis, die rheumatoide Vaskulitis, die juvenile idiopathische Arthritis und die Atherosklerose (124–126).

#### 1.3.6.1 Die Rolle von MIF in der Atherosklerose und KHK

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass MIF Einfluss auf die Entstehung und das Fortschreiten der Atherosklerose hat. MIF ist in kleinen Mengen in vaskulären Endothelzellen und glatten Muskelzellen von Arterien mit normaler Histologie nachzuweisen und wird bei progredienter Atherosklerose vermehrt sezerniert (127).

Durch oxidiertes LDL kommt es zu einer gesteigerten Abgabe von MIF durch Makrophagen. Außerdem sorgt MIF dafür, dass das interzelluläre Zelladhäsionsmolekül 1 hochreguliert wird (128,129).

Oxidiertes LDL führt folglich zu einer gesteigerten Ausschüttung von MIF und damit zu einer vermehrten Migration von Makrophagen in die Gefäßwand und einer Differenzierung von Makrophagen zu Schaumzellen. Da zusätzlich noch TNF-alpha MIF stimuliert, kommt es zu einer weiteren verstärkten Sekretion von Zytokinen mit proinflammatorischer Wirkung durch Makrophagen.

Nachdem Apolipoprotein-E-defizienten Mäusen Anti-MIF-Antikörper gegeben wurden, zeigten sie eine geringere Zahl an Makrophagen in den atherosklerotischen Läsionen und weniger lokale und zirkulierende entzündliche Mediatoren wie auch Fibrinogen und IL-6. Allerdings kam es zu keinem signifikanten Absinken des Plaquevolumens (130).

Mäuse, die mit Anti-MIF-Antikörpern behandelt wurden, zeigten nach einer Angioplastie einer geringere Gefäßinflammation, Zellproliferation und neointimale Verdickung (131).

In einer weiteren Studie wurde nachgewiesen, dass Apolipoprotein-E-defiziente Mäuse nach Blockierung von MIF einen Rückgang von atherosklerotischen Plaques und der Makrophagen- und T-Zelldichte zeigten, was eine Plaquestabilisierung zur Folge hatte (69).

Patienten mit einem ACS und sogenannten culprit lesions, die eine Plaqueruptur zur Folge hatten, zeigten erhöhte MIF-Konzentrationen (132). Bisher konnte nicht nachgewiesen werden, ob MIF bei Plaqueinstabilitäten als prognostischer Marker verwendet werden kann (133).

Die atherogene Wirkung von MIF wird über die Chemokinrezeptoren CXCR2 und CXCR4 vermittelt (69). In Studien konnten jedoch auch über CXCR7 vermittelte Signalwege von MIF gezeigt werden (84).
Es gibt allerdings Hinweise, dass MIF insbesondere in der postischämischen Phase bei ACS-Patienten eine kardioprotektive Wirkung haben kann (134,135). Dieser Effekt wird unter anderem über einen weiteren Rezeptor von MIF mit dem Namen CD74 vermittelt (135).

Es zeigt sich zusammenfassend, dass MIF als Chemokin über seine Rezeptoren, wie beispielsweise CXCR4 auf Monozyten, eine wichtige Rolle bei der Entstehung der KHK und des ACS spielt, indem es eine proinflammatorische Wirkung hat. In Bezug auf Monozyten sieht man dies an der gesteigerten Expression von MIF in diesen Zellen bei Patienten mit progredienter Atherosklerose (127). Gleichzeitig steigert MIF die Adhäsion von Monozyten an Endothelzellen (136). MIF fördert auch die Rekrutierung von Monozyten (69) und die Differenzierung dieser zu Schaumzellen. Dies geschieht unter anderem durch die gesteigerte Aufnahme von oxidiertem LDL durch Makrophagen (137).

Daher stellt auch MIF ein mögliches Ziel für antiinflammatorische Medikamente zur Therapie der KHK und des ACS dar. Wie bereits erwähnt, konnte in Studien durch Gabe von monoklonalen Anti-MIF-Antikörpern eine geringere Gefäßinflammation gezeigt werden (130). Es wurde außerdem die antiinflammatorische Wirkung bestimmter niedermolekularer Verbindungen als MIF-Inhibitoren festgestellt (138). Es sind jedoch noch weitere Studien nötig, um Auswirkungen der MIF-Inhibitoren auf die Entstehung der KHK und des ACS zu erforschen und daraus neue Therapiemöglichkeiten für diese Patientengruppen zu entwickeln.

### 1.4 Ziele der Studie

Bisher konnte nachgewiesen werden, dass die SDF-1-CXCR4-CXCR7-Achse in Kombination mit MIF die Funktion von Monozyten steuert und darüber eine wichtige Rolle bei der Entstehung und Progression der KHK und des ACS spielt. Dadurch wird unter anderem bei Monozyten die Migration in Gefäßwände und ihre Umwandlung in Schaumzellen gesteuert. Die genauen Mechanismen bei diesem Prozess sind jedoch bis heute nicht gänzlich geklärt und es liegen teilweise widersprüchliche Ergebnisse in bisherigen Studien vor. Insbesondere die Funktion der unterschiedlichen Monozyten-Subtypen bei der Krankheitsentstehung sind bisher noch nicht ganz verstanden. Neue Erkenntnisse auf diesem Gebiet könnten zur Entwicklung neuer antiinflammatorischer Medikamente führen, die eine Verbesserung der Therapie und Prognose von Patienten mit KHK und ACS zur Folge hätten.

In dieser Arbeit wurde die Expression von SDF-1, CXCR4, CXCR7 und MIF auf klassischen, nicht klassischen und intermediären Monozyten an Patienten mit SAP und ACS gemessen und analysiert. Die Messung erfolgte 24 Stunden vor oder nach einer Koronarangiographie. Gleichzeitig wurden zuvor festgelegte Basischarakteristika der Patienten wie Risikofaktoren, Begleitmedikation und Laborparameter erhoben.

Die Fragestellung dieser Studie lautet, ob sich die Expression der genannten Rezeptoren und Chemokine auf klassischen, nicht klassischen und intermediären Monozyten im Vergleich zwischen Patienten mit KHK und ACS unterscheidet. Ein weiteres Ziel dieser Arbeit ist es zu untersuchen, ob die Basischarakteristika dieser Patienten mit KHK und ACS einen signifikanten Unterschied zeigen.

# 2. Material und Methoden

## 2.1 Materialien

Tabelle 1: Verbrauchsmaterialien

| **Materialien** | **Hersteller** |
|---|---|
| Safety-Multifly-Kanüle | Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland |
| S-Monovette 8,5 ml CPDA | Sarstedt AG & Co. KG, Nümbrecht, Deutschland |
| Eppendorf Reference 100-1000 µl | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |
| Eppendorf 10 – 200 µl | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |
| Eppendorf Research 0,5-10 µl | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |
| Pipettenspitzen Blau 100-1000µl | ratiolab GmbH, Dreieich, Deutschland |
| Pipettenspitzen 10µl farblos | Biozym Scientific GmbH, Oldendorf, Deutschland |
| Round-Bottom Tube 5 ml Polystyrene | BD FalconTM, Franklin Lakes, USA |
| Safe-Lock Tubes 0,5 ml | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |
| Safe-Lock Tubes 1,5 ml | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |

Tabelle 2: Technische Hilfsmittel

| | |
|---|---|
| Haereus Multifuge 1s | Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA |
| Liebherr mediline GCv 4010-20c | Liebherr, Bulle, Schweiz |
| Vortex-Genie 2 | Scientific Industries Inc., Bohemia, USA |
| Pipette | Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland |

Tabelle 3: Antikörper zur Färbung

| **Antikörper** | **Bezeichnung** | **Hersteller** |
|---|---|---|
| CD14 | Human CD14 PE-conjugated antibody | R&D Systems, Minneapolis, USA |
| CD16 | Human FC gamma RIII (CD16) APC-conjugated antibody | R&D Systems, Minneapolis, USA |
| CXCR4 | CXCR4 FITC-conjugated antibody | R&D Systems, Minneapolis, USA |
| CXCR7 | CXCR7 FITC-conjugated antibody | R&D Systems, Minneapolis, USA |
| SDF-1 | SDF-1 FITC-conjugated antibody | R&D Systems, Minneapolis, USA |
| MIF | MIF conjugated to FITC | Biorbyt, Cambridge, England |
| IgG | IgG FITC-conjugated antibody | R&D Systems, Minneapolis, USA |

Tabelle 4: Chemikalien zur Aufbereitung

| **Chemikalien** | **Hersteller** |
|---|---|
| Lysepuffer | BD FACS™ Lysing Solution, Franklin Lakes USA |
| Paraformaldehyd | Merck-Schuchardt, Hohenbrunn, Deutschland |
| Sodium Hydroxide (NaOH) 10 mol/l | AppliChem, Darmstadt, Deutschland |
| Salzsäure Maßlösung 6 M | AppliChem, Darmstadt, Deutschland |
| Dulbecco´s PBS 500 ml | PAA Laboratories GmbH, Pasching Österreich |

Tabelle 5: Materialien für das FACS

| **Materialien** | **Hersteller** |
|---|---|
| BD FACS Calibur™ Flow Cytometer | BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland |
| Cell Quest Pro | BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland |
| FACS Clean | BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland |
| FACS Rinse | BD Biosciences, Heidelberg, Deutschland |
| destilliertes Wasser | TKA Wasseraufbereitungssystem, TKAGen Pure, Berlin, Deutschland |

### 2.1.1 Datenauswertung

Die Auswertung der Messdaten wurde mit FlowJo V10 durchgeführt. Die statistische Auswertung der Daten erfolgte mit der zu dem Zeitpunkt aktuellsten Version der Statistik-Software IBM SPSS Statistics 25.

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Patientenkollektiv

Für diese Studie wurden 106 Patienten mit SAP oder ACS innerhalb 24 Stunden vor oder nach einer Koronarangiographie in der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Tübingen ausgewählt. Eine schriftliche Einverständniserklärung lag bei allen Studienteilnehmern vor. Die Studie erfüllt die Grundsätze der Deklaration von Helsinki. Sie wurde von der Ethikkommission der Universität Tübingen genehmigt (Aktenzeichen 270/2011B02). Nach Blutentnahme und Monozytenfärbung erfolgte die Messung der Antikörperkonzentrationen für SDF-1, CXCR4, CXCR7 und MIF mittels Durchflusszytometrie (FACS).

Außerdem wurden zu allen Patienten folgende Basischarakteristika aus den Patientenakten entnommen:

Tabelle 6: Einteilung Patientencharakteristika

| | |
|---|---|
| Diagnose | SAP, IAP, NSTEMI, STEMI |
| Demographische Daten | Geschlecht, Alter |
| Klappenvitien | Aorten-, Mitral-, Trikuspidal-, Pulmonalklappenstenose/Insuffizienz |
| KHK | Keine, Ein-Gefäß, Zwei-Gefäß, Drei-Gefäß, Bypass |
| Ejektionsfraktion | • keine Einschränkung der LV (linksventrikulären)-Funktion: Ejektionsfraktion (EF) ≥ 55 %<br>• leichte Einschränkung der LV-Funktion:<br>EF von 45 % - 54 %<br>• mittelgradige Einschränkung der LV-Funktion:<br>EF von 35 % - 44 % |

| | |
|---|---|
| | • hochgradige Einschränkung der LV-Funktion:<br>EF < 35 % |
| Aufnahmelabor | CRP, CK, NT-proBNP, Troponin, Kreatinin |
| Aufnahmemedikation | ADP-Rezeptorblocker, Marcumar/Xarelto, GPIIb/IIIa-Inhibitor, ASS, Statine, ß-Blocker, AT1-Antagonisten, Ca-Kanal-Inhibitoren, Diuretika, Aldosteron-Antagonisten, Antidiabetika/Insulin, Heparin, α-Rezeptorblocker, Protonenpumpeninhibitoren |
| Kardiovaskuläre Risikofaktoren | Hyperlipoproteinämie, Diabetes mellitus, Niereninsuffizienz, arterielle Hypertonie, KHK, positive Familienanamnese, Nikotinabusus, Adipositas |
| Sonstige Begleiterkrankung | Vorhofflimmern |

### 2.2.2 Blutabnahme und Aufbereitung

Die Blutentnahme am Patienten erfolgte innerhalb 24 Stunden vor oder nach einer Koronarangiographie mit Hilfe einer Safety-Multifly-Kanüle. Das Blut wurde in eine 8,5 ml Citrat-Phosphat-Dextrose-Adenin-(CPDA-)Monovette gefüllt und sofort verwertet.

### 2.2.3 Durchflusszytometrie

Für die Färbung der Monozyten wurden 150 µl des gewonnenen CPDA-Vollblutes pro Ansatz in beschriftete FACS-Röhrchen überführt. Pro Röhrchen wurden anschließend 10 µl CD14 PE- und 10 µl CD16 APC-Antikörper zur Bestimmung der Monozyten-Subtypen hinzugegeben. Außerdem erfolgte die Zugabe jeweils eines der FITC-Antikörper (CXCR4, CXCR7, SDF-1,

MIF) pro Röhrchen und eine zusätzliche Kontrolle mit einem FITC-gefärbten IgG-Antikörper. Die Röhrchen mit den Färbeansätzen wurden dann gevortext und 30 Minuten im Dunkeln inkubiert. Anschließend wurden durch Zugabe eines 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnten Lysepuffers die Erythrozyten lysiert. Nach Inkubation im Dunkeln für zehn Minuten erfolgte eine Zentrifugation (1400 rpm, 9/9, 5 Minuten). Der Überstand wurde abgekippt und 300 µl des 0,5 % PFA zur Fixierung hinzugegeben. Nun konnte entweder eine sofortige Messung durch die Durchflusszytometrie durchgeführt werden oder die Röhrchen wurden bei 4°C für bis zu 72 Stunden für eine spätere Messung im Kühlschrank aufbewahrt.

In dieser Studie wurden FITC-gekoppelte Antikörper für die Markierung von SDF-1, MIF, CXCR4 und CXCR7 verwendet. Für die Markierung von CD14 kamen PE-gekoppelte Antikörper und für CD16 APC-gekoppelte Antikörper zum Einsatz. Gemessen wurde mit dem BD FACS Calibur™ Flow Cytometer, der einen 480 nm Argon-Laser nutzt und aufgrund von vier Fluoreszenz-Detektoren in der Lage ist vier Fluoreszenzfarbstoffe gleichzeitig zu erfassen (141).

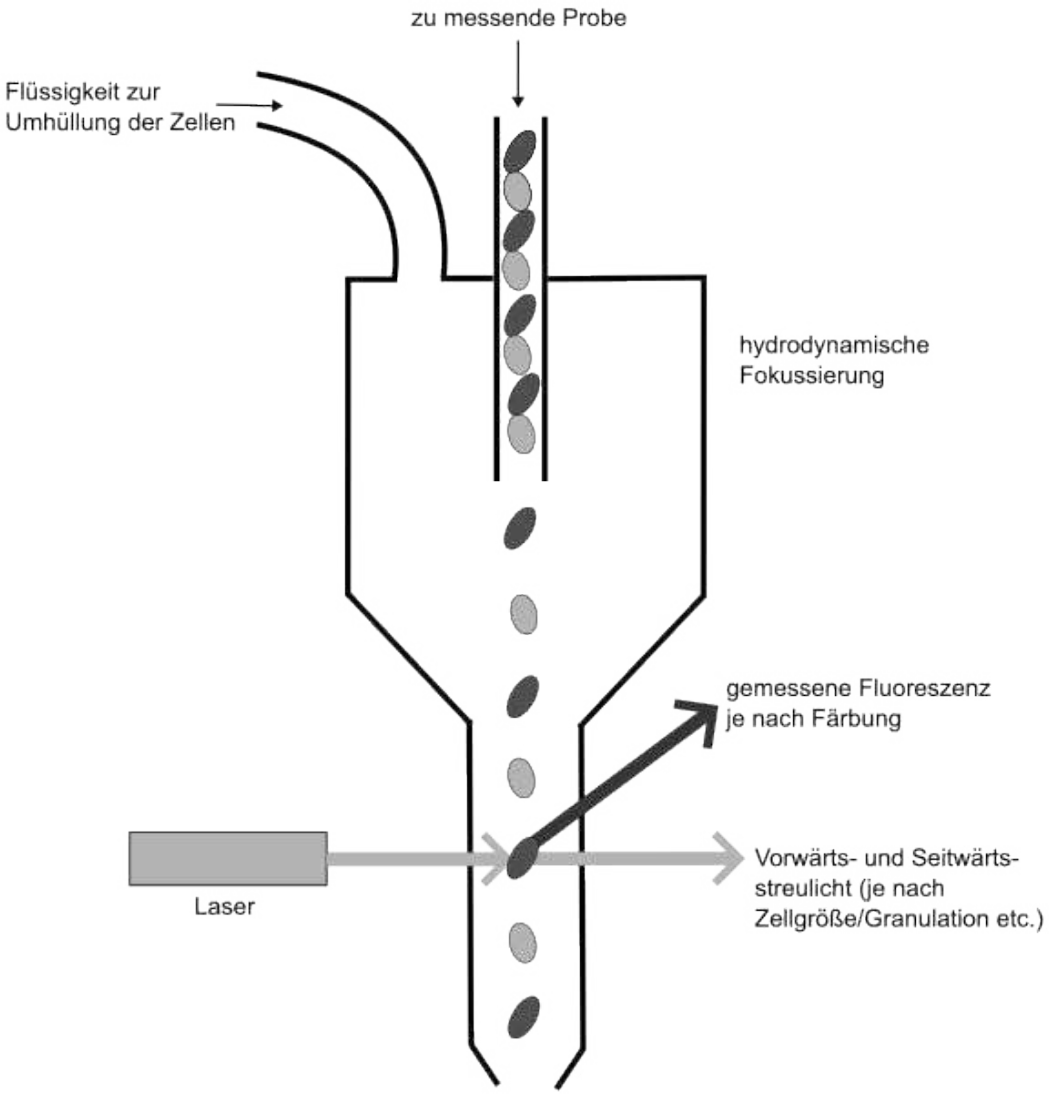


Abbildung 5: Prinzip der Durchflusszytometrie (modifiziert nach (142))

Es wurde am Anfang der Studie ein Messprotokoll mit technischer Kontrolle, Isotypkontrolle und FMO-Kontrolle angelegt und die Zahl der gemessenen Zellen auf 10 000 gesetzt.

### 2.2.4 Auswertung der Messungen

Durch den Einsatz von Gates bei der Auswertung wurden die für diese Arbeit irrelevanten Zellen wie Thrombozyten und Granulozyten ausgeschlossen und die Monozyten isoliert betrachtet. Eine individuelle Anpassung dieser Gates war auch nach den Messungen möglich. Die Monozyten wurden anhand der

Antikörper gegen CD14 und CD16 in die drei Subtypen klassische $CD14^{+}$ $^{+}/CD16^{-}$, nicht-klassische $CD14^{+}/CD16^{++}$ und intermediäre $CD14^{++}/CD16^{+}$ Monozyten kategorisiert. Diese Auswertung erfolgte mit Hilfe des Programms FlowJo Version 10. Um die Expression der Oberflächenrezeptoren zu quantifizieren, wurde die MFI bestimmt (mean fluorescence intensity).

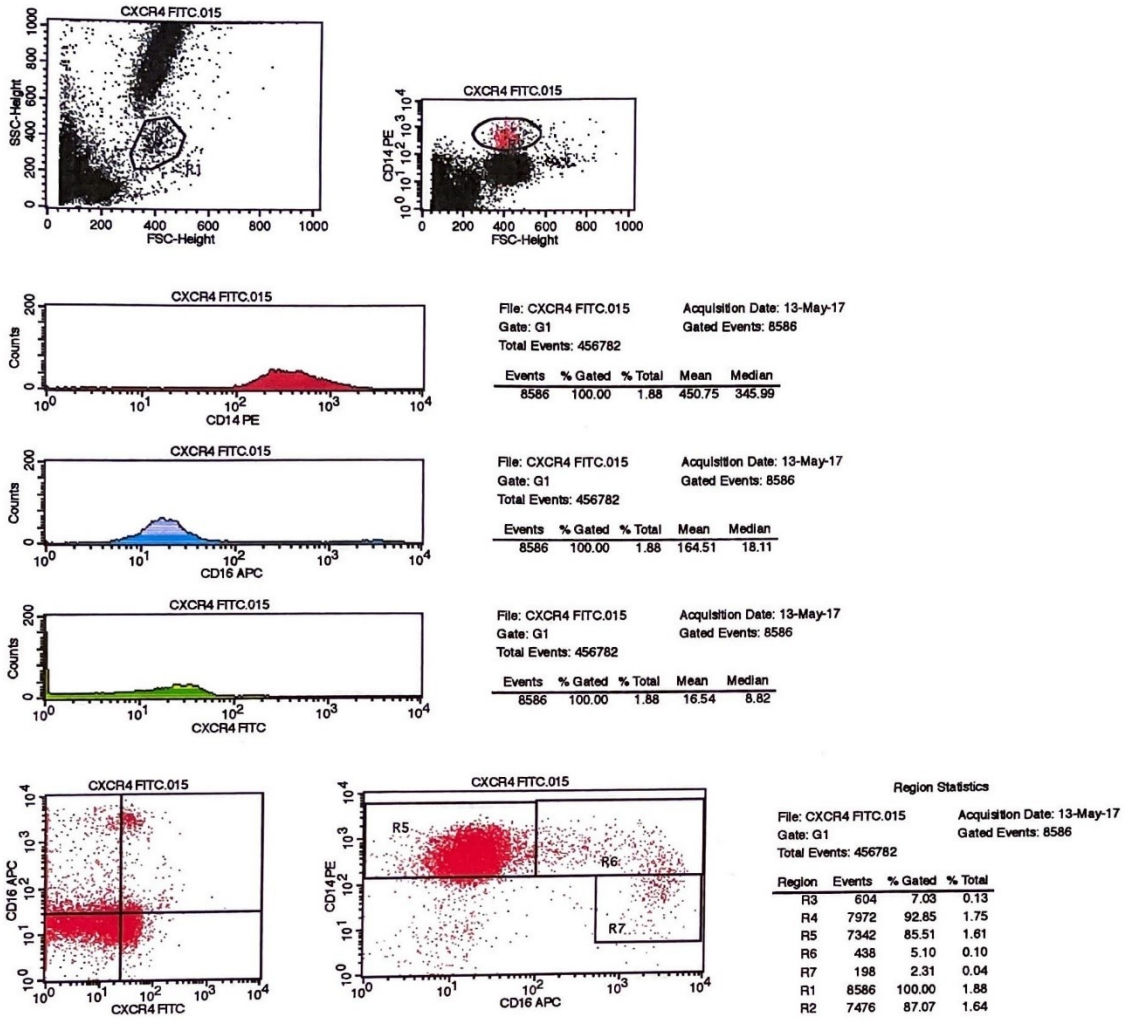


Abbildung 6: Gating-Strategie zur isolierten Betrachtung von Monozyten und Aufteilung dieser in die Monozyten-Subtypen. Oben im Bild ist die Selektion von Monozyten anhand des FSC (Forward Scatter) und SSC (Side Scatter) dargestellt, um anderen Zelltypen wie Granulozyten oder Thrombozyten aus der Auswertung auszuschließen. In der Mitte der Abbildung werden die Messergebnisse mit MFI zu den einzelnen Antikörpern, hier CD14-PE, CD16-APC und CXCR4-FITC gezeigt. Unten mittig im Bild ist die Aufteilung in klassische, nicht klassische und intermediäre Monozyten anhand von Gates dargestellt.

### 2.2.5 Statistische Auswertung

Es wurde eine statistische Analyse der Patientencharakteristika und der gemessenen Oberflächenexpression auf den Monozyten-Subtypen durchgeführt.

Zunächst wurden alle Daten in kategoriale und metrische Variablen aufgeteilt. Folgende Merkmale wurden den kategorialen Variablen zugeordnet: Geschlecht, Klappenvitien, vorbestehende KHK, Begleitmedikation und kardiovaskuläre Risikofaktoren. Die Darstellung dieser Daten erfolgt in Form von absoluten Häufigkeiten und Prozentwerten.

Zu den metrischen Variablen zählen Alter, Aufnahmelabor, LVEF und die gemessenen MFI-Werte der Oberflächenrezeptoren. Bei diesen wird der Mittelwert und die Standardabweichung angegeben. Die einzelnen Messwerte werden als Dotplots dargestellt.

Die Mittelwerte der metrischen Variablen wurden durch den t-Test für unabhängige Stichproben und Levene-Test verglichen, um die Varianzhomogenität zu prüfen. Der Vergleich kategorialer Variablen wurde mit Hilfe des Chi-Quadrat-Tests durchgeführt. Zeigte die Analyse $p < 0,05$ wurde das Ergebnis als signifikant betrachtet. Die statistische Auswertung der gemessenen und erhobenen Daten wurde mit SPSS Statistics 25 durchgeführt.

# 3. Ergebnisse

## 3.1 Charakteristika der Studienkohorte

Es wurden insgesamt 106 Patienten mit einer SAP oder einem ACS innerhalb 24 Stunden vor oder nach einer Koronarangiographie untersucht. Dabei hatten 35 Patienten eine stabile Angina Pectoris und 71 Patienten ein akutes Koronarsyndrom, wovon 31 Patienten an einer instabilen Angina Pectoris, 35 Patienten an einem NSTEMI und 5 Patienten einem STEMI litten. Das Durchschnittsalter der Patienten betrug 71,14 Jahre mit einer Geschlechterverteilung von 56,6 % männlichen und 43,4 % weiblichen Patienten. Die folgende Tabelle listet die Patientencharakteristika der Studienkohorte auf. Zu diesen zählen die Risikofaktoren für eine KHK, die Begleitmedikation, Klappenvitien und bestimmte Laborparameter. Diese Werte werden für die gesamten Patienten, Patienten mit SAP und Patienten mit ACS angegeben.

Tabelle 7: Patientencharakteristika

| **Parameter** | **Gesamt N = 106** | **SAP N = 35** | **ACS N = 71** | **p-Wert** |
|---|---|---|---|---|
| *Risikofaktoren* | | | | |
| Alter in Jahren | 71,36 (11,557) | 70,34 (10,74) | 71,87 (11,99) | 0,527 |
| Geschlecht: m | 58 (55,8 %) | 24 (68,6 %) | 34 (49,3 %) | 0,94 |
| w | 46 (44,2 %) | 11 (31,4 %) | 35 (50,7 %) | |
| Arterielle Hypertonie | 84 (80,8 %) | 28 (80 %) | 56 (81,2 %) | 0,885 |
| Hypercholesterinämie | 52 (50 %) | 16 (45,7 %) | 36 (52,2 %) | 0,797 |
| Diabetes mellitus | 33 (31,7 %) | 9 (25,7 %) | 24 (34,8 %) | 0,559 |
| Positive Familienanamnese | 26 (25 %) | 11 (31,4 %) | 15 (21,7 %) | 0,449 |
| Nikotinabusus | 21 (20,2 %) | 9 (25,7 %) | 12 (17,4 %) | 0,497 |
| Vorhofflimmern | 23 (22,1 %) | 4 (11,4 %) | 19 (27,5 %) | 0,081 |
| Niereninsuffizienz | 10 (9,6 %) | 2 (5,7 %) | 8 (11,6 %) | 0,593 |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| KHK | | | 11 (15,9 %) | 0,087 |
| 1-Gefäß-KHK | 13 (12,5 %) | 2 (5,7 %) | 10 (14,5 %) | |
| 2-Gefäß-KHK | 18 (17,3 %) | 8 (22,9 %) | 38 (55,1 %) | |
| 3-Gefäß-KHK | 62 (59,6 %) | 24 (68,6 %) | | |
| *Begleitmedikation bei Studieneintritt* | | | | |
| Betablocker | 74 (71,2 %) | 26 (74,3 %) | 48 (69,6 %) | 0,655 |
| ACE-Hemmer | 59 (56,7 %) | 19 (54,3 %) | 40 (58 %) | 0,835 |
| AT1-Antagonist | 26 (25 %) | 10 (28,6 %) | 16 (23,2 %) | 0,633 |
| Diuretika | 32 (30,8 %) | 11 (31,4 %) | 21 (30,4 %) | 1,0 |
| ADP-Rezeptorblocker: | | | | 0,596 |
| Clopidogrel | 1 (1 %) | 0 (0 %) | 1 (1,4 %) | |
| Ticagrelor | 1 (1 %) | 0 (0 %) | 1 (1,4 %) | |
| Antikoagulation: | | | | 0,744 |
| Marcumar | 3 (2,9 %) | 1 (2,9 %) | 2 (2,9 %) | |
| Xarelto | 1 (1 %) | 0 (0 %) | 1 (1,4 %) | |
| GPIIb/IIIa-Inhibitor | 0 (0 %) | 0 (0 %) | 0 (0 %) | - |
| ASS | 14 (13,5 %) | 4 (11,4 %) | 10 (14,5 %) | 0,769 |
| Cholesterinsenker: | | | | 0,798 |
| Statin | 78 (75 %) | 25 (71,4 %) | 53 (76,8%) | |
| Statin+Ezetimib | 6 (5,8 %) | 2 (5,7 %) | 4 (5,8%) | |
| Aldosteronantagonist | 18 (17,3 %) | 6 (17,1 %) | 12 (17,4%) | 1,0 |
| Antidiabetika: | | | | 0,608 |
| Insulin | 2 (1,9 %) | 0 (0 %) | 2 (2,9%) | |
| OAD | 13 (12,5 %) | 4 (11,4 %) | 9 (13%) | |
| Insulin+OAD | 9 (8,7 %) | 2 (5,7 %) | 7 (10,1%) | |
| Ca-Kanalblocker | 31 (29,8 %) | 13 (37,1 %) | 18 (26,1%) | 0,264 |
| *Klappenvitien* | | | | |
| LVEF | 1,6 (0,961) | 1,49 (0,818) | 1,65 (1,027) | 0,372 |
| Relevante Klappenvitien | 53 (51 %) | 11 (31,4 %) | 42 (60,9 %) | **<0,001** |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| *Laborparameter* | | | | |
| NT-proBNP | 121,8 (789,98) | 109,00 (644,9) | 128,29 (858,6) | 0,907 |
| CRP (mg/dl) | 1,55 (5,3) | 0.59 (2,18) | 2,03 (6,29) | 0,091 |
| CK (U/l) | 133,66 (274,46) | 45,71 (53) | 171,06 (328,4) | **0,027** |
| Troponin (mg/dl) | 4,86 (38,25) | 0,00 (0,00) | 7,49 (47,99) | 0,413 |
| Kreatinin (mg/dl) | 0,805 (0,417) | 0,606 (0,476) | 0,917 (0,335) | **0,001** |

Die Werte geben bei kategorialen Variablen die absolute Häufigkeit (prozentuale Häufigkeit) und bei metrischen Variablen den Mittelwert (Standardabweichung) an. LVEF: 1 = normal, 2 = leichtgradig eingeschränkt, 3 = mittelgradig eingeschränkt, 4 = schwer eingeschränkt. Abkürzungen: m (männlich), w (weiblich), ACE (Angiotensin Converting Enzyme), ADP (Adenosindiphosphat), ASS (Acetylsalicylsäure), Ca-Kanalblocker (Calciumkanalblocker), CK (Kreatinkinase), CRP (C-reaktives Protein), GPIIb/IIIa (Glykoprotein IIb/IIIa), LVEF (linksventrikuläre Ejektionsfraktion), NT-proBNP (N-terminal pro Brain Natriuretic Peptide), OAD (orale Antidiabetika).

Ein großer Teil der Patienten wies einen oder mehrere Risikofaktoren für eine KHK auf. 80,8 % der Patienten hatten eine arterielle Hypertonie, 50 % eine Hypercholesterinämie, 31,7 % einen Diabetes mellitus und 25 % eine familiäre Vorbelastung. Ein Nikotinabusus lag bei 20,2 % und eine Niereninsuffizienz bei nur 9,6 % der Patienten vor. Obwohl sich teilweise Unterschiede in den Risikofaktoren bei Patienten mit SAP und ACS zeigen, sind diese nicht als statistisch signifikant zu werten. Beispielsweise haben 34,8 % der Patienten mit einem ACS einen Diabetes mellitus, wohingegen es bei den Patienten mit SAP 25,7 % sind. Bei manchen Risikofaktoren zeigt sich jedoch eine sehr ähnliche Ausprägung, wie bei der arteriellen Hypertonie mit 80 % bei SAP zu 81,8 % beim ACS.

Während sich bei der linksventrikulären Ejektionsfraktion kein signifikanter Unterschied in den zwei Gruppen zeigt, lässt sich bei den relevanten

Klappenvitien ein signifikanter Unterschied nachweisen. 31,4 % der Patienten mit einer SAP haben relevante Klappenvitien im Gegensatz zu 60,9 % der Patienten mit ACS.

Bei der Begleitmedikation sind keine relevanten Unterschiede in beiden Gruppen nachzuweisen.

Laborchemisch zeigt sich bei der CK (45,71 U/l zu 171,06 U/l) und Kreatinin (0,606 mg/dl zu 0,917 mg/dl) zwischen SAP und ACS ein signifikanter Unterschied. Die Troponinwerte sind bei Patienten mit ACS mit 7,49 mg/dl wie zu erwarten höher als bei Patienten mit SAP (0 mg/dl), was jedoch nicht statistisch signifikant ist.

## 3.2 Expression der Oberflächenrezeptoren in den verschiedenen Monozyten-Subtypen

Die nachfolgenden Diagramme zeigen die Oberflächenexpression von SDF1, CXCR4, CXCR7 und MIF auf klassischen, nicht klassischen und intermediären Monozyten. Es werden Patienten mit SAP und ACS verglichen. Dabei werden der Mittelwert und die Standardabweichung der MFI und die statistische Signifikanz betrachtet. Die Signifikanz wurde mittels t-Test für unabhängige Stichproben und Levene-Test bei einem Signifikanzniveau $p < 0,05$ bestimmt.

### 3.2.1 Die SDF-1-Expression zeigt bei keinem der Monozyten-Subtypen einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit KHK und ACS

SDF-1 hat, wenn man die klassischen Monozyten betrachtet, bei Patienten mit ACS eine höhere mittlere Expression von 1,5091 (+/- 2,288) im Vergleich zu Patienten mit SAP von 1,308 (+/- 0,633). Der Unterschied ist jedoch bei einem p-Wert von 0,612 nicht signifikant. Die mittlere Oberflächenexpression von SDF-1 liegt bei Patienten mit SAP auf nicht klassischen Monozyten bei 6,1371 (+/- 3,707) zu 5,2049 (+/- 3,866) bei Patienten mit ACS, was auch als nicht signifikant zu werten ist ($p = 0,242$). Intermediäre Monozyten zeigen bei Patienten mit SAP (1,6851) (+/- 1,095) eine geringere mittlere Expression als bei ACS-Patienten (1,879) (+/- 2,512). Hier lässt sich bei einem p-Wert von 0,664 kein signifikanter Unterschied nachweisen. Insgesamt haben somit die

nicht klassischen Monozyten bei Patienten mit SAP die höchste mittlere SDF-1-Expression. Die niedrigste mittlere Expression von SDF-1 haben die klassischen Monozyten bei Patienten mit SAP.

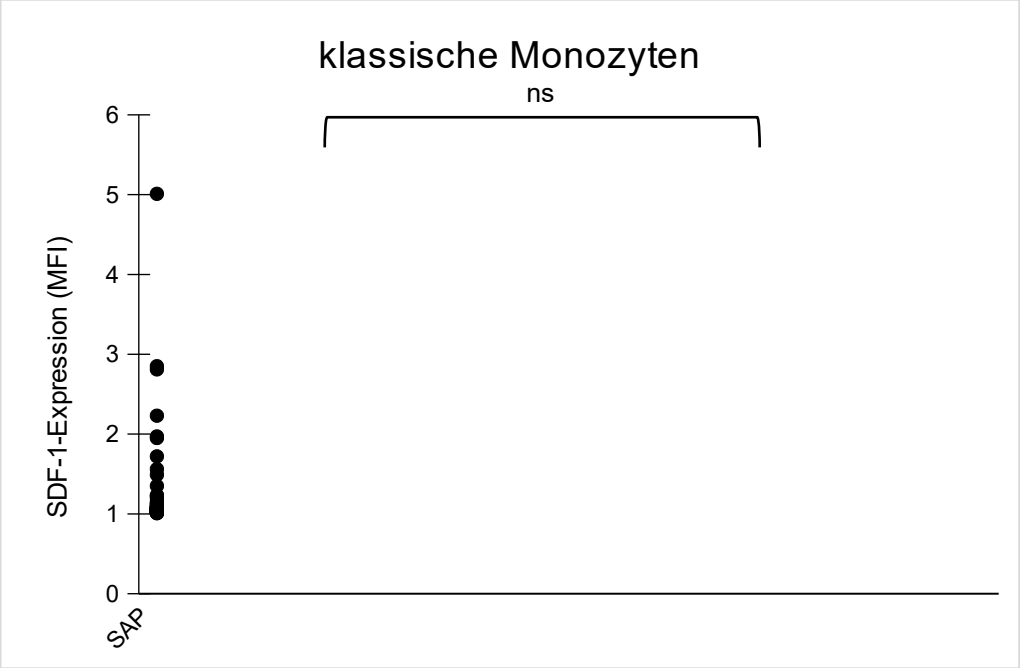


Abbildung 7: SDF-1 Expression auf klassischen Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

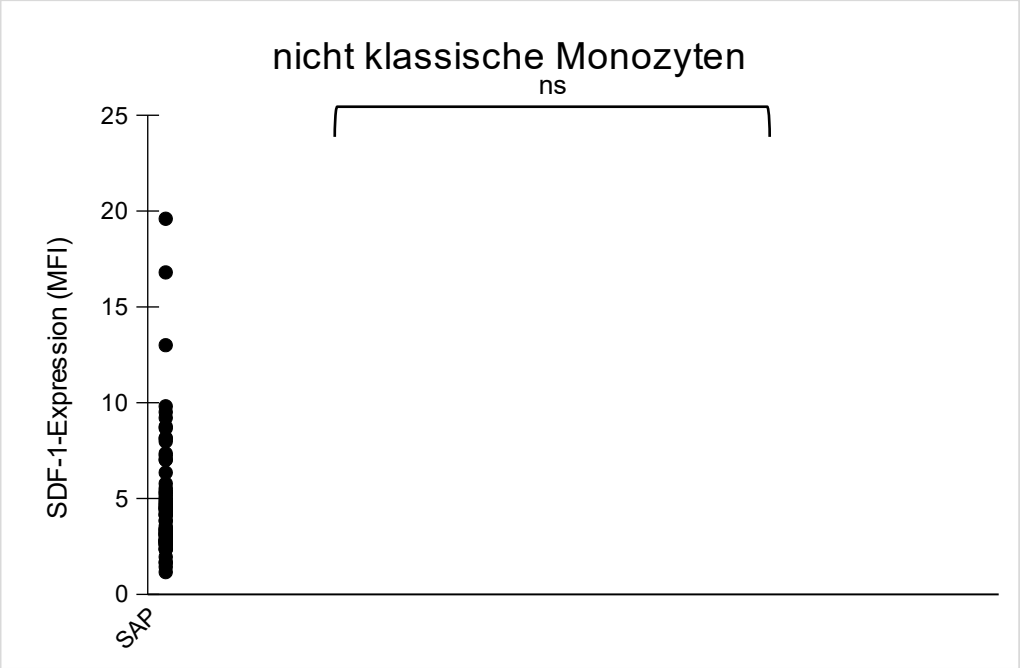


Abbildung 8: SDF-1 Expression auf nicht klassischen Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

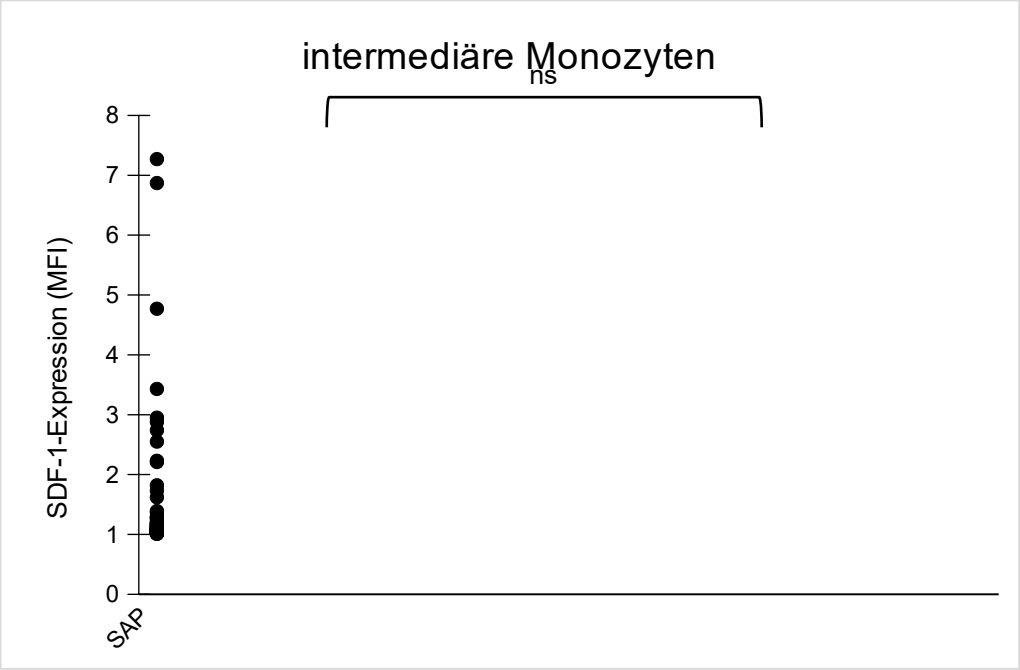


Abbildung 9: SDF-1 Expression auf intermediären Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

### 3.2.2 Die CXCR4-Expression zeigt bei keinem der Monozyten-Subtypen einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit KHK und ACS

Der Mittelwert der MFI von CXCR4 liegt in der Gruppe der klassischen Monozyten bei Patienten mit SAP bei 8,245 (+/- 4,749) zu 9,943 (+/- 7,746) bei Patienten mit ACS. Mit einem p-Wert von 0,238 ist das nicht signifikant. Bei den nicht klassischen Monozyten zeigt sich eine mittlere CXCR4-Expression von 34,837 (+/- 16,08) (SAP) zu 35,59 (+/- 15,397) (ACS), was als nicht signifikant zu werten ist (p = 0,817). Intermediäre Monozyten weisen einen nicht signifikanten Unterschied (p = 0,617) in der Expression von CXCR4 von 13,8809 (+/- 8,957) (SAP) zu 14,8626 (+/- 12,03059) (ACS) auf. Insgesamt zeigt sich damit in allen drei Monozyten-Subtypen eine höhere Expression von CXCR4 bei Patienten mit ACS, auch wenn die Unterschiede statistisch nicht signifikant sind. Die niedrigste mittlere CXCR4-Expression ist auf den klassischen Monozyten bei Patienten mit SAP zu sehen. Am höchsten ist die mittlere Oberflächenexpression von CXCR4 bei Patienten mit ACS auf den nicht klassischen Monozyten.

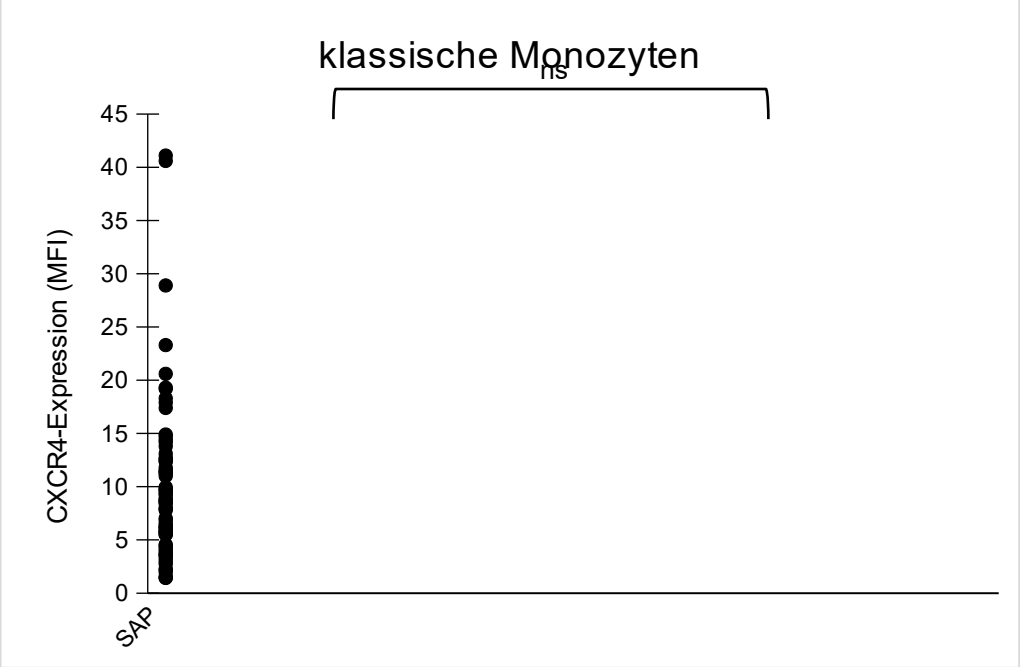


Abbildung 10: CXCR4-Expression auf klassischen Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

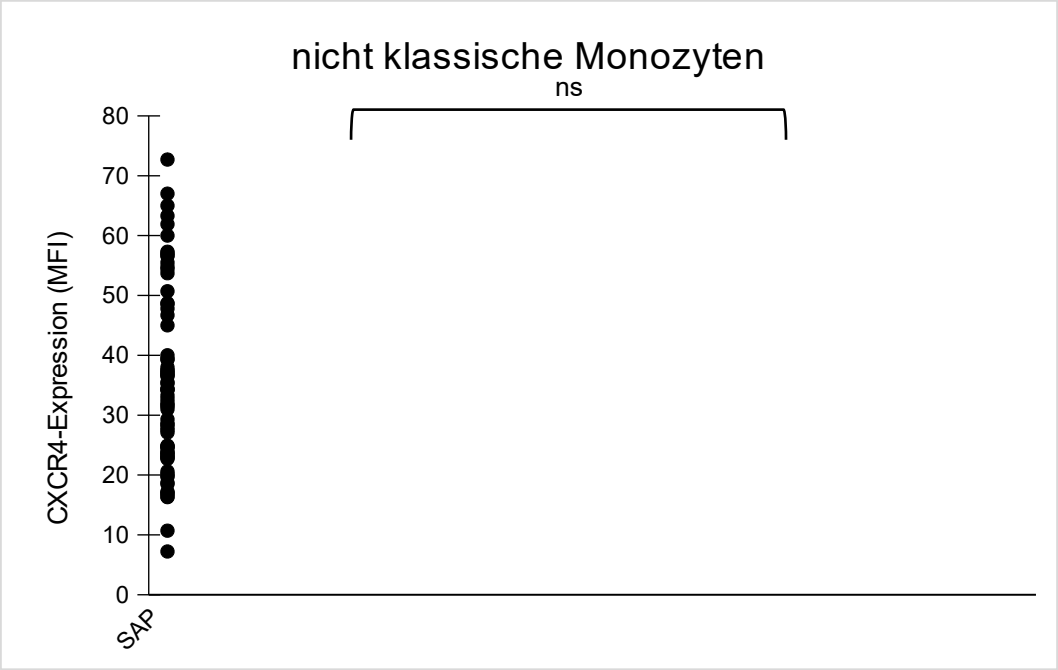


Abbildung 11: CXCR4-Expression auf nicht klassischen Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

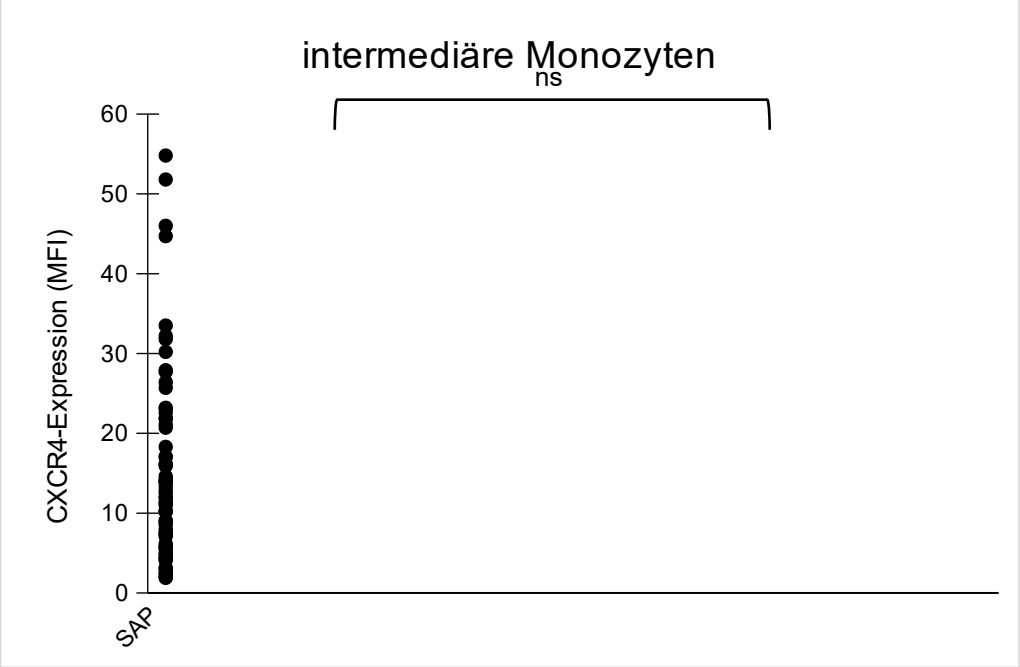


Abbildung 12: CXCR4-Expression auf intermediären Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

### 3.2.3 Die CXCR7-Expression ist auf klassischen Monozyten bei Patienten mit ACS signifikant höher als bei Patienten mit SAP

Bei Patienten mit einer SAP liegt der mittlere MFI-Wert für CXCR7 bei Messungen an klassischen Monozyten bei 6,6303 (+/- 4,577) und bei Patienten mit ACS bei 9,7325 (+/- 10,561), was als signifikant zu sehen ist (p = 0,04). Die mittlere Expression von CXCR7 bei nicht klassischen Monozyten zeigt Werte von 20,0771 (+/- 13,934) bei SAP zu 24,8928 (+/- 24,046) bei ACS. Das ist nicht signifikant (p = 0,2). Auf intermediären Monozyten zeigt sich die mittlere Oberflächenexpression im Mittelfeld mit 15,68 (+/- 13,917) bei Patienten mit SAP und 13,8022 (+/- 11,709) bei Patienten mit ACS. Diese Differenz ist nicht als signifikant zu werten (p = 0,47). Hier fällt die höhere mittlere Expression von CXCR7 auf den intermediären Monozyten bei SAP im Vergleich zu ACS auf. Damit ist die höchste mittlere CXCR7-Expression auf den nicht klassischen Monozyten bei Patienten mit SAP zu sehen, während die niedrigste mittlere Oberflächenexpression auf klassischen Monozyten bei Patienten mit SAP vorliegt.

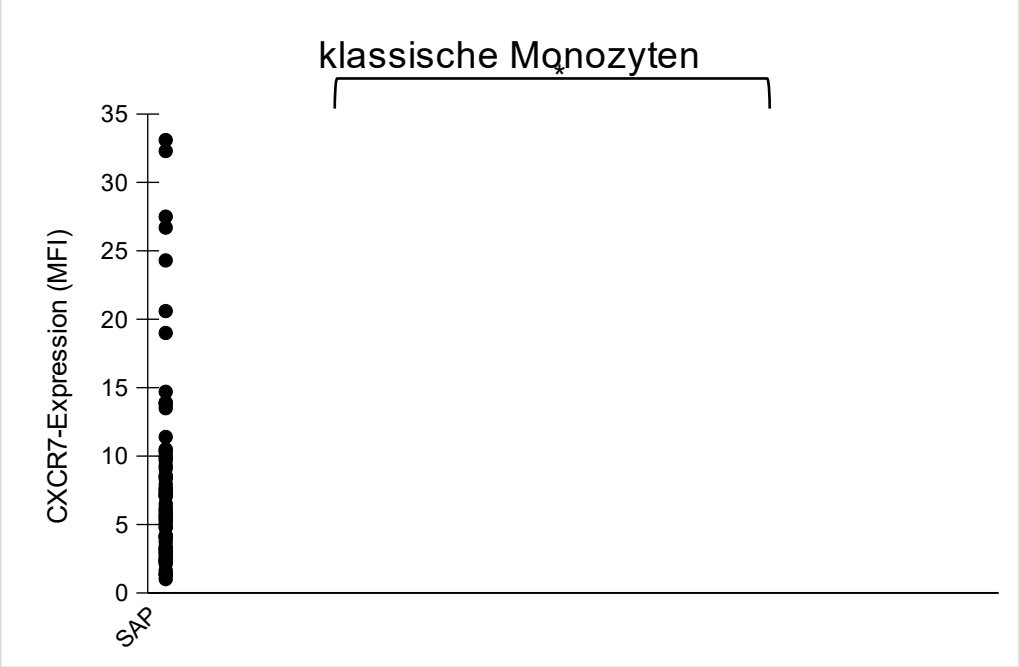


Abbildung 13: CXCR7-Expression auf klassischen Monozyten. *p < 0,05.

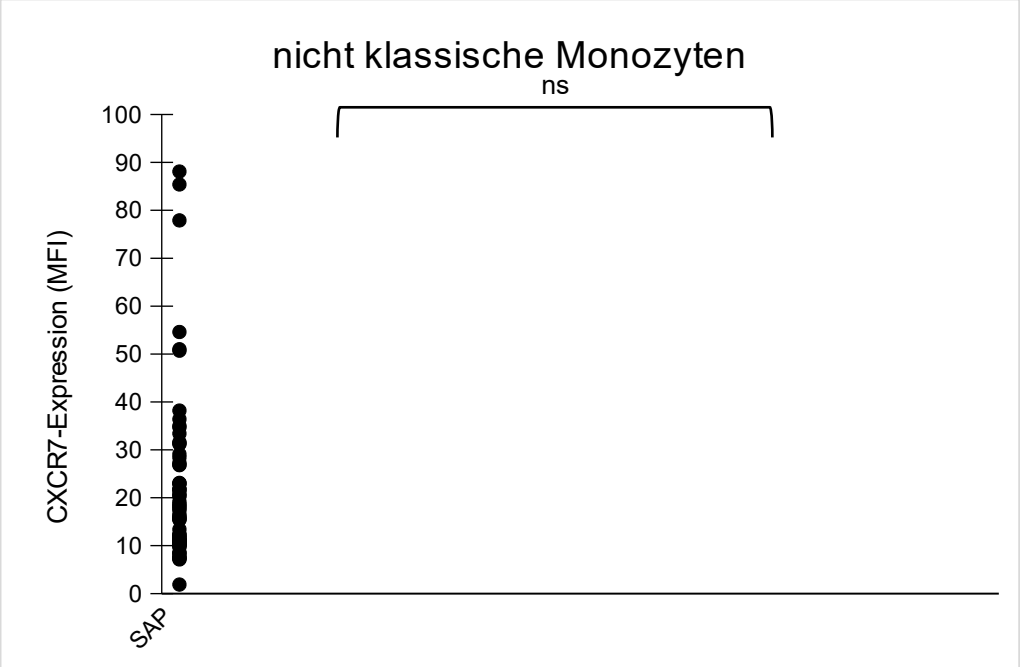


Abbildung 14: CXCR7-Expression auf nicht klassischen Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

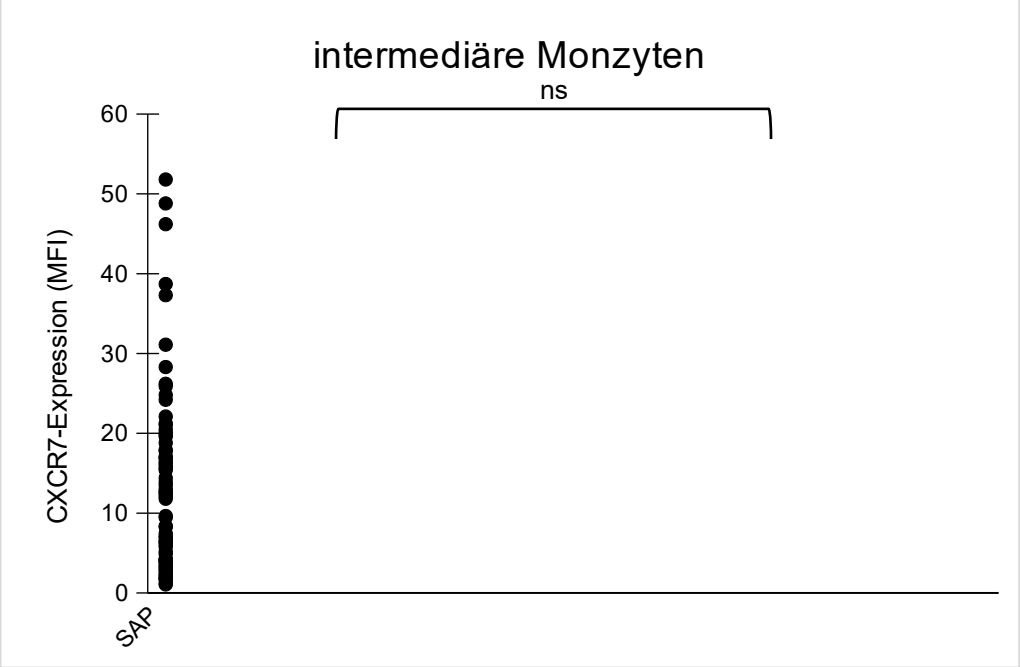


Abbildung 15: CXCR7-Expression auf intermediären Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

### 3.2.4 Die MIF-Expression zeigt bei keinem der Monozyten-Subtypen einen signifikanten Unterschied zwischen Patienten mit KHK und ACS

Bei den klassischen Monozyten hat MIF in der Gruppe der Patienten mit SAP eine mittlere Oberflächenexpression von 108,3809 (+/- 104,549) und eine mittlere Expression von 118,8932 (+/- 131,017) in der Gruppe mit ACS, was jedoch kein statistisch signifikanter Unterschied ist (p = 0,681). Betrachtet man die nicht klassischen Monozyten, zeigt sich eine nur leicht niedrigere mittlere Expression von MIF bei Patienten mit ACS (197,5158) (+/- 156,853) im Vergleich zu Patienten mit SAP (200,6371) (+/- 144,437). Diese Differenz ist nicht signifikant (p = 0,922). Intermediäre Monozyten weisen bei Patienten mit SAP eine höhere mittlere Expression (290,0029) (+/- 296,331) von MIF auf als bei Patienten mit ACS (274,8339) (+/- 277,2195). Hier zeigt sich keine statistische Signifikanz (p = 0,797). Die niedrigste mittlere MIF-Expression ist somit auf den klassischen Monozyten bei Patienten mit SAP messbar. Am höchsten ist die mittlere MIF-Expression bei Patienten mit SAP auf den intermediären Monozyten.

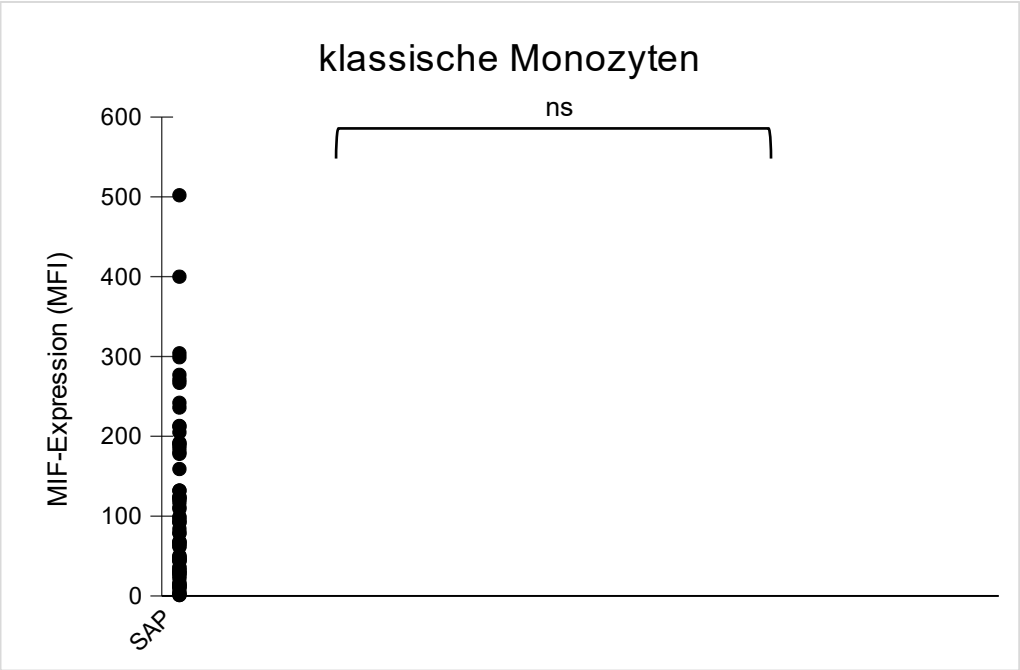


Abbildung 16: MIF-Expression auf klassischen Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

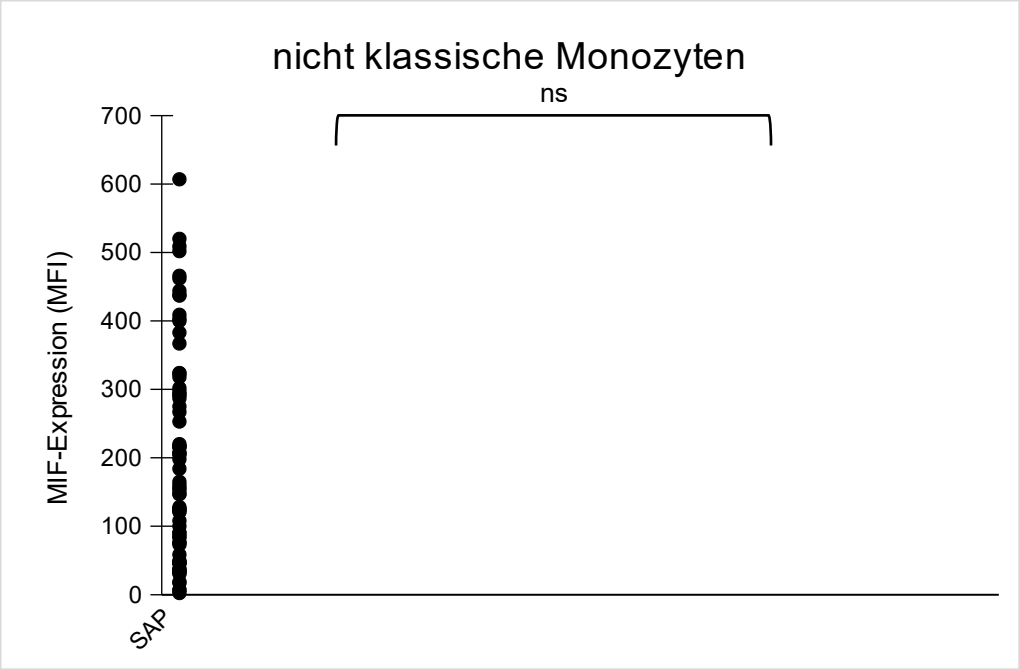


Abbildung 17: MIF-Expression auf nicht klassischen Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

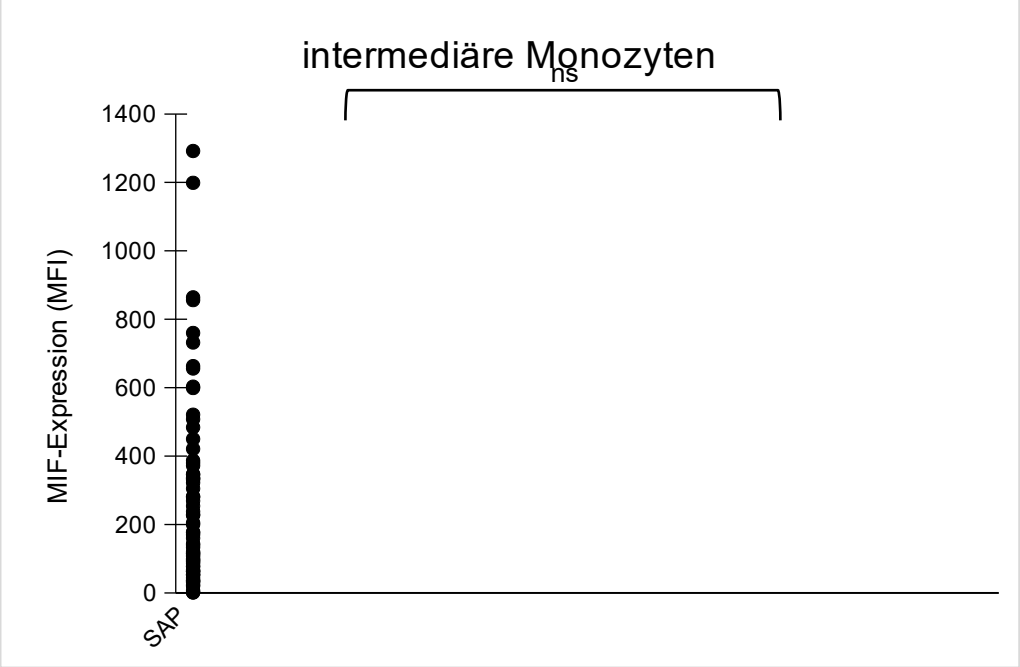


Abbildung 18: MIF-Expression auf intermediären Monozyten. ns bedeutet nicht signifikant.

# 4. Diskussion

In dieser Arbeit wurde an 106 Patienten die Oberflächenexpression von CXCR4, CXCR7, SDF-1 und MIF auf klassischen, nicht klassischen und intermediären Monozyten gemessen. Dabei wurden Patienten mit SAP und ACS miteinander verglichen. Zusätzlich wurden bestimmte Patientencharakteristika erhoben. Hierbei zeigten sich insbesondere das Auftreten von Klappenvitien und Laborparameter wie CK und Kreatinin bei Patienten mit ACS im Vergleich zu Patienten mit SAP erhöht. Die gemessene Oberflächenexpression war für CXCR7 auf klassischen Monozyten bei Patienten mit ACS signifikant höher als bei Patienten mit SAP. Alle weiteren Messungen zeigten bei der Oberflächenexpression in den verschiedenen Monozyten-Subtypen keine signifikanten Unterschiede.

## 4.1 Patientencharakteristika

Bei den Patientencharakteristika konnte eine höhere Rate von Klappenvitien bei Patienten mit ACS als bei Patienten mit SAP nachgewiesen werden. Eine Erklärung hierfür wäre das nachgewiesen höhere Risiko für Myokardinfarkte bei Patienten mit Herzklappendefekten (143). Laborchemisch zeigte sich aufgrund der Myokardschädigung wie zu erwarten eine signifikant erhöhte CK bei Patienten mit ACS als bei Patienten mit SAP (144). Es konnten zwar bei Patienten mit ACS auch deutlich höhere Troponinwerte nachgewiesen werden, allerdings ist dieser Unterschied nicht als signifikant zu werten. Das ist unerwartet, da Troponin einer der Hauptmarker für eine Herzmuskelschädigung bei Myokardinfarkt ist (145). Dies lässt sich wahrscheinlich durch die recht hohe Zahl an Patienten mit instabiler Angina Pectoris in der Patientengruppe mit ACS erklären (31 von 71), die definitionsgemäß keine Troponinerhöhung aufweisen. Die signifikant höheren Kreatininwerte bei Patienten mit ACS können Zeichen für ein kardiorenales Syndrom sein, also eine Nierenschädigung infolge eines ACS (146). Auch CRP und NT-proBNP zeigten sich bei Patienten mit ACS höher als bei Patienten mit SAP. Das höhere CRP könnte auf die größere inflammatorische Komponente bei ACS-Patienten zurückzuführen sein. Das höhere NT-proBNP als Marker für die Herzinsuffizienz lässt sich durch die

stärker ausgeprägte Herzinsuffizienz bei Patienten mit ACS erklären, da hier eine Myokardschädigung auftreten kann. Diese zwei Laborparameter zeigten jedoch keine statistisch als signifikant zu wertenden Unterschiede in den Patientengruppen. Bei den Risikofaktoren zeigte sich in beiden Gruppen ein sehr ähnlicher Trend. Einige Risikofaktoren wie der Anteil an Patienten mit Diabetes mellitus oder Vorhofflimmern zeigten jedoch einen deutlich höheren Anteil beim ACS als bei der SAP. Andererseits gab es in dieser Studie auch Risikofaktoren, die bei Patienten mit SAP deutlich höher waren, wie beispielsweise die positive Familienanamnese und Nikotinabusus. Allerdings sind diese Unterschiede nicht statistisch signifikant. Dass es keine signifikanten Unterschiede gibt, ist jedoch nicht überraschen, da die selben Risikofaktoren einen Beitrag zu beiden Erkrankungen leisten können. Bei der Begleitmedikation konnte zwischen beiden Patientengruppen auch kein signifikanter Unterschied nachgewiesen werden. Auch dieser Umstand ist mit dem ähnlichen Pathomechanismus und Risikofaktoren beider Erkrankungen zu erklären, die auch eine ähnliche langfristige medikamentöse Therapie erfordern(6).

### 4.2 Klinische Bedeutung der Oberflächenexpression von SDF-1

Wie bereits beschrieben spielt SDF-1 als Chemokin durch Bindung an seine Rezeptoren CXCR4 und CXCR7 eine große Rolle bei wichtigen Zellfunktionen wie der Zellmigration und Differenzierung (49–52). Die Relevanz von SDF-1 zeigt sich beispielsweise darin, dass in Studien Knockout-Mäuse, die kein SDF-1 bilden konnten nicht lebensfähig waren (61,62). Klinische Relevanz hat SDF-1 unter anderem bei verschiedenen Krebserkrankungen, Multipler Sklerose und HIV-Infektionen (59,63–65).

In bisherigen Studien konnte einerseits gezeigt werden, dass SDF-1 eine stabilisierende Wirkung auf atherosklerotische Plaques und Endothelläsionen hat, was durch die Migration von Stammzellen des Endothels und glatter Muskulatur in die Gefäßwand zu erklären ist (90–92). Andererseits gibt es Studien mit gegensätzlichem Ergebnis, die zeigen konnten, dass eine erhöhte

Expression von SDF-1 zur Progression von Atherosklerose und damit auch der KHK führt, indem es durch die Migration glatter Muskelzellen in die Gefäßwand zur Steigerung der Intimahyperplasie kommt (147). SDF-1 wird auch von Thrombozyten exprimiert und sorgt für die Differenzierung von CD34+-Stammzellen zu Endothelzellen und Schaumzellen (93–97). Es führt außerdem zum Erhalt der linksventrikulären Funktion nach einem Myokardinfarkt und wirkt dadurch kardioprotektiv (98).
In Bezug auf Monozyten wirkt SDF-1 fördernd auf die Migration von Monozyten und ihre Adhäsion an Thrombozyten in atherosklerotischen Plaques sowie auf die Phagozytose von Thrombozyten durch Monozyten (112). SDF-1 führt außerdem zur Differenzierung von Monozyten zu Schaumzellen (112).

In dieser Arbeit konnte kein signifikanter Unterschied in der Expression von SDF-1 in den Subtypen der Monozyten zwischen Patienten mit SAP und ACS gezeigt werden. Sowohl bei klassischen und nicht klassischen, als auch bei intermediären Monozyten war kein signifikanter Unterschied nachweisbar. Möglicherweise spielt die Expression von SDF-1 auf Monozyten keine große Rolle bei der Frage, ob eine Atherosklerose zu einer SAP oder zu einem instabilem Plaque in den Gefäßen mit daraus folgender Plaqueruptur und ACS führt. Es wäre interessant zu untersuchen, ob sich die Expression von SDF-1 in Endothelzellen und Schaumzellen bei Patienten mit SAP und ACS unterscheidet, da auch diese Zellen bei der Entstehung von Atherosklerose eine wichtige Rolle spielen und SDF-1 exprimieren können.

### 4.3 Klinische Bedeutung der Oberflächenexpression von CXCR4

Bisher konnte in Studien gezeigt werden, dass SDF-1 eine Vielzahl seiner Effekte über den Chemokinrezeptor CXCR4 vermittelt, der neben Monozyten beispielsweise auch auf Thrombozyten und einigen anderen Zellen vorkommt (70,98,100). Neben SDF-1 bindet auch das Chemokin MIF an CXCR4 (69). CXCR4 ist sehr relevant im Körper, was an Studien mit Mäusen gezeigt werden konnte. Diese waren durch Ausschalten des CXCR4-Gens wie auch bei Ausschalten des SDF-1-Gens nicht überlebensfähig (62). Klinische Relevanz

hat CXCR4 unter anderem bei der Pathogenese und Metastasierung diverser Krebsarten (73).

Auch hier gibt es in verschiedenen Arbeiten unterschiedliche Ergebnisse zur Rolle von CXCR4 bei der Atherosklerose und KHK. Nach einem Myokardinfarkt konnte ein kardioprotektiver Effekt von CXCR4 nach Aktivierung durch SDF-1 gezeigt werden (101,102). Die Wirkung der SDF-1-CXCR4-Achse nach Revaskularisation von Arterien auf eine verstärkte Restenose und Förderung einer Intimahyperplasie ist aufgrund widersprüchlicher Ergebnisse noch nicht gänzlich geklärt (104,105). Es konnte nachgewiesen werden, dass eine gesteigerte Expression von CXCR4 durch oxidiertes LDL aus atherosklerotischen Plaques zu einer vermehrten Migration von Makrophagen in das betroffene Gewebe führt (106). Hyafil et al. zeigten mittels nuklearmedizinischer Verfahren eine gesteigerte Expression von CXCR4 in makrophagenreichen Arealen atherosklerotischer Plaques (108).
Betrachtet man die Wirkung, die eine Aktivierung von monozytärem CXCR4 durch SDF-1 auf die Entstehung der Atherosklerose und KHK hat, zeigt sich nach aktueller Studienlage, dass es dabei zur Förderung von Atherosklerose und KHK kommt. Zu diesem Effekt kommt es durch die gesteigerte Migration und Phagozytoseaktivität von Monozyten (112). Des Weiteren werden auch das Zellüberleben und die Differenzierung von Monozyten gefördert.

Es konnte in dieser Arbeit kein Hinweis auf einen signifikanten Unterschied in der Oberflächenexpression von CXCR4 in den Subtypen der Monozyten bei Patienten mit SAP und ACS gefunden werden. Die Auswertung der Messungen zeigt bei klassischen, nicht klassischen und intermediären Monozyten sehr ähnliche Werte für die Expression von CXCR4. Auch wenn die unterschiedlichen Auswirkungen der SDF-1-CXCR4-Achse auf die KHK bisher nicht abschließend geklärt sind, scheint sie zumindest bei Betrachtung der Monozyten durch Migration und Differenzierung zu Schaumzellen zu einer Zunahme der Atherosklerose und damit der KHK zu führen, wie Chatterjee et al. auch zeigen konnten (112). Das Ergebnis dieser Arbeit könnte darauf

hindeuten, dass die durch CXCR4 vermittelte Migration und Differenzierung der Monozyten bei der Unterscheidung, ob eine Atherosklerose zu einer SAP oder zu einem ACS führt kein großer Einflussfaktor ist, sondern in anderen Bereichen der Atherosklerose eine Rolle spielt. Da die genauen Zusammenhänge bei der Rolle von monozytärem CXCR4 und den Monozyten-Subtypen in der Entstehung der KHK und des ACS bisher nicht vollständig geklärt sind, müssen weitere Studien zu diesem Thema durchgeführt werden.

Allerdings ist derzeit der antiinflammatorische Wirkstoff AMD3100 bekannt, der als CXCR4-Antagonist angewendet wird. In Studien konnte gezeigt werden, dass AMD3100 zu einer verbesserten Regeneration von Myokardgewebe führt und ein gebessertes Outcome nach einem Myokardinfarkt zur Folge hat (115,116). Klinische Anwendung findet AMD3100 bisher zur Mobilisation und Selektion hämatopoetischer Stammzellen zur Stammzelltransplantationen beispielsweise bei Patienten mit Lymphomerkrankungen (148). Ob dieser Wirkstoff eine Therapieoption für die KHK und das ACS ist, muss in weiteren Studien erforscht werden. Dabei muss insbesondere bedacht werden, dass CXCR4 in gewissen Bereichen auch eine kardioprotektive Wirkung hat (101,102).

### 4.4 Klinische Bedeutung der Oberflächenexpression von CXCR7

Auch CXCR7 spielt laut diversen Studien eine wichtige Rolle bei der Atherosklerose und KHK. Der Rezeptor wird auf unterschiedlichen Zellen wie neuronalen Vorläuferzellen, aktivierten Endothelzellen und hämatopoetischen Zellen exprimiert (70). CXCR7 ist ein weiterer Rezeptor für die Chemokine SDF-1 und MIF (84). Klinische Relevanz hat CXCR7 unter anderem bei Krebserkrankungen, da dessen Aktivierung zu einem gesteigerten Zellüberleben und gesteigerter Zelladhäsion führt und einige Krebsarten wie Lungen- und Brustkrebs vermehrt CXCR7 exprimieren (64,85).

CXCR7 führt wie auch CXCR4 einerseits zum Progress einer KHK, kann jedoch andererseits auch kardioprotektive Effekte haben. Auf Endothelzellen hat es

beispielsweise nach einem Myokardinfarkt Auswirkung auf das kardiale Remodeling (109). Außerdem konnte in Studien gezeigt werden, dass die Aktivierung von CXCR7 die Aufnahme von VLDL in das Fettgewebe fördert und darüber einen atheroprotektiven Effekt hat (110). Die Regeneration des Myokards nach einem Infarkt wird über die Migration kardialer Stammzellen neben CXCR4 auch durch die SDF-1-CXCR7-Achse reguliert (113). Für Thrombozyten gilt, dass sie bei Patienten mit ACS im Vergleich zu Patienten mit SAP vermehrt CXCR7 exprimieren, was eine verbesserte Regeneration von Myokard bei einem ACS zur Folge hat (107,114).
CXCR7 auf Monozyten spielt eine wichtige Rolle bei der Entstehung der KHK und des ACS. Über CXCR7 werden proinflammatorische Signalwege aktiviert, die zu einer gesteigerten Phagozytoseaktivität von Monozyten führen (112). Wie auch bei CXCR4 wird über thrombozytäres SDF-1 die Zelladhäsion von Monozyten durch Bindung an CXCR7 herbeigeführt, was daraufhin auch eine Phagozytose von Thrombozyten zur Folge hat. Ein weiterer Effekt, der zur Förderung von Atherosklerose über die SDF-1-CXCR7-Achse führt, ist das gesteigerte Überleben von Monozyten und die Differenzierung dieser zu Schaumzellen (112). Zu Schaumzellen differenzierte Monozyten zeigen eine erhöhte Oberflächenexpression von CXCR7 und erhöhte Phagozytoseaktivität (111). Zusammenfassend gilt also auch bei CXCR7 ähnlich wie bei CXCR4, dass nach aktueller Studienlage die Bindung von SDF-1 bei Betrachtung der Monozyten eine fördernde Wirkung auf Atherosklerose hat.

In dieser Arbeit konnte eine signifikant höhere Expression von CXCR7 auf klassischen Monozyten bei Patienten mit ACS als bei Patienten mit SAP gezeigt werden. Die weiteren Monozyten-Subtypen wie nicht klassische und intermediäre Monozyten zeigten keinen signifikanten Unterschied in der Oberflächenexpression von CXCR7 bei Vergleich der zwei Patientengruppen. Klassische Monozyten bilden die größte Gruppe unter den Monozyten und sind insbesondere für Phagozytose verantwortlich (23). Berg et al. konnten in ihrer Arbeit zeigen, dass eine erhöhte Anzahl klassischer Monozyten kardiovaskuläre Ereignisse voraussagen kann (149). Das Ergebnis dieser Studie könnte darauf

hinweisen, dass klassische Monozyten über CXCR7 beim ACS eine wichtigere Rolle spielen als bei der SAP. Möglicherweise läuft hier die CXCR7-vermittelte Migration und Differenzierung zu Schaumzellen in den atherosklerotischen Plaques stärker ab. Um die genauen Mechanismen dahinter und die Folgen dieser zu verstehen, sind jedoch noch weitere Untersuchungen notwendig. Aus weiteren Erkenntnissen könnten sich Möglichkeiten zur Therapie und Prognoseverbesserung der KHK und auch insbesondere des ACS durch neue antiinflammatorische Medikamente ergeben

### 4.5 Klinische Bedeutung der Oberflächenexpression von MIF

Das Chemokin MIF wird von diversen Zellen wie T-Lymphozyten, Endothelzellen, Makrophagen und Monozyten produziert (120,121). MIF wirkt im Körper proinflammatorisch und spielt eine wichtige Rolle bei verschiedenen Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis, Psoriasis, Vaskulitiden und septischem Schock (122,124–126).

Bei der Entstehung der KHK hat MIF auch einen großen Einfluss, da es unter anderem zur Migration von Makrophagen in die Gefäßwand und zu einer Differenzierung dieser zu Schaumzellen führt (128,129). In Studien an Apolipoprotein-E-defizienten Mäusen zeigten sich weniger Makrophagen und Entzündungsmediatoren in Gefäßläsionen, nachdem die Wirkung von MIF mit Hilfe von Antikörpern gehemmt worden war (130). Es konnte außerdem an Mäusen eine Verringerung atherosklerotischer Plaques und geringere neointimale Verdickung nach Angioplastie durch Hemmung von MIF gezeigt werden (69,131). MIF-Konzentrationen zeigten sich in Studien bei Patienten mit ACS erhöht (132). Diese Funktionen erfüllt MIF hauptsächlich durch die Bindung an CXCR2 und CXCR4, wobei es auch Signalwege über CXCR7 gibt (69,84). Neben der atherogenen kann MIF auch eine kardioprotektive Wirkung haben. Dies gilt jedoch hauptsächlich für die postischämische Phase über einen weiteren MIF-Rezeptor CD74 (134,135). Zusammenfassend fördert MIF durch seine proinflammatorische Wirkung auf Monozyten unter anderem über die Adhäsion dieser an Endothelzellen und gesteigerte Differenzierung zu Schaumzellen die Entstehung der KHK und des ACS (136,137).

In dieser Studie konnte beim Vergleich von Patienten mit SAP und ACS und bei Betrachtung der verschiedenen Monozyten-Subtypen kein signifikanter Unterschied in der Expression von MIF gezeigt werden. Das könnte darauf hinweisen, dass die Expression von MIF durch Monozyten keinen besonderen Einfluss darauf hat, ob sich eine KHK eher zu einer SAP oder einem ACS entwickelt. Möglicherweise liegt es auch daran, dass freie Monozyten betrachtet wurden. Bereits zu Schaumzellen differenzierte Monozyten könnten eine unterschiedliche Expression von MIF zeigen, da sie weitere Zellen zur Differenzierung anregen. Dabei ist eine unterschiedliche Expression von MIF in Patienten mit SAP und ACS aufgrund der unterschiedlichen Konfiguration der Gefäßplaques denkbar. Dies könnte in weiteren Studien geprüft werden.
Aus weiteren Erkenntnissen zur Rolle von MIF und der Monozyten-Subtypen könnten sich neue Therapiemöglichkeiten für Patienten mit KHK und ACS ergeben.
Im Rahmen von Studien konnten bereits monoklonale Anti-MIF-Antikörper und niedermolekulare Verbindungen als MIF-Inhibitoren angewendet werden, durch die es zu einer verringerten Gefäßinflammation und generellen antiinflammatorischen Wirkung kam (130,138). Hier sind jedoch in der Zukunft weitere Studien nötig, um klinische Wirkstoffe zur Verbesserung der Therapie und Prognose der KHK und des ACS zu prüfen.

### 4.6 Limitation

Eine Limitation der Studie ist die betrachtete Patientenzahl. Eine größere Patientenkohorte würde zu aussagekräftigeren Ergebnissen führen, wenn man die Gesamtzahl der Patienten bedenkt, die jährlich an einer KHK erkranken. In dieser Querschnittstudie wurde der zeitliche Verlauf in der Oberflächenexpression der untersuchten Marker nicht bedacht. Dieser könnte jedoch noch weitere Informationen zum prognostischen Wert geben, indem bei einem Follow-up die Werte verglichen werden. Es wurden keine Messungen an gesunden Probanden durchgeführt, da die Studie sich auf den Vergleich zwischen SAP und ACS fokussieren sollte.

## 5. Zusammenfassung

Die koronare Herzkrankheit ist eine der häufigsten Todesursachen in den Industrienationen. Trotz jahrzehntelanger Forschung auf diesem Gebiet gibt es noch keine abschließenden Ergebnisse zur Entstehung und dem Verlauf dieser Erkrankung.

Die KHK lässt sich in die zwei Gruppen stabile Angina Pectoris und akutes Koronarsyndrom aufteilen. Dabei spielen klinische, laborchemische und elektrokardiographische Parameter eine Rolle. Es ist bekannt, dass Monozyten bei der Entstehung der Atherosklerose, welche die Hauptursache der KHK ist, eine zentrale Rolle spielen. Monozyten lassen sich anhand ihrer Oberflächenproteine CD14 und CD16 in die Subtypen klassische, nicht klassische und intermediäre Monozyten aufteilen. Nach einer Endotheldysfunktion durch verschiedene Einflussfaktoren an Arterien kommt es durch Ablauf bestimmter Prozesse zur Migration von Monozyten in die Gefäßwand und Differenzierung dieser zu sogenannten Schaumzellen. Durch die darauf folgenden Mechanismen kommt es letztendlich zur Ausbildung einer Atherosklerose. Die Migration, Differenzierung und weitere Funktionen von Monozyten werden durch verschiedene Chemokine und Chemokinrezeptoren gesteuert, zu denen auch SDF-1, MIF, CXCR4 und CXCR7 gehören. Die genauen Mechanismen, über die diese Chemokine und Rezeptoren eine Rolle bei der Entstehung der KHK und des ACS spielen, sind bisher nicht vollständig geklärt. Durch diese Studie sollte ein Teilaspekt dieser Mechanismen untersucht werden.

In dieser Arbeit wurde mit Hilfe der Durchflusszytometrie an 106 Patienten 24 Stunden vor oder nach einer Koronarangiographie untersucht, ob sich bei SAP und ACS die Oberflächenexpression von SDF-1, CXCR4, CXCR7 und MIF auf den Subtypen der Monozyten unterscheidet, um mögliche neue Erkenntnisse zu Therapie- und Diagnosemöglichkeiten der Erkrankung zu erlangen.

Bei den zusätzlich erhobenen Patientencharakteristika zeigte sich eine höhere Rate an Klappenvitien bei Patienten mit ACS, das sich mit dem erhöhten Risiko für Myokardinfarke bei Patienten mit vorliegenden Klappenveränderungen

erklären lässt. Die erhöhten Laborparameter CK und Kreatinin bei Patienten mit ACS lassen sich durch die Myokardschädigung bei einem ACS und durch das Auftreten eines kardiorenalen Syndroms erklären. Die gemessene Oberflächenexpression der genannten Marker zeigte für CXCR7 auf den klassischen Monozyten eine signifikant gesteigerte Expression bei Patienten mit ACS im Vergleich zu Patienten mit SAP. Eine mögliche Erklärung hierfür wäre, dass beim ACS insbesondere klassische Monozyten über CXCR7 durch Migration und Differenzierung eine wichtige Rolle spielen. In allen weiteren Messungen zeigte sich kein signifikanter Unterschied in der Expression der Marker.

## 6. Literaturverzeichnis


1. Todesursachen [Internet]. Statistisches Bundesamt. [zitiert 7. Januar 2020]. Verfügbar unter: https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/_inhalt.html

2. Gößwald A, Lange M, Kamtsiuris P, Kurth BM. DEGS: Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland: Bundesweite Quer- und Längsschnittstudie im Rahmen des Gesundheitsmonitorings des Robert Koch-Instituts. Bundesgesundheitsbl. Juni 2012;55(6–7):775–80.

3. Koch-Institut R, Saß AC, Lampert T, Prütz F, Seeling S, Starker A, u. a. Gesundheit in Deutschland. 1. Aufl. Berlin: Robert Koch-Institut; 2015. 512 S.

4. Hansson GK. Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. N Engl J Med. 21. April 2005;352(16):1685–95.

5. Libby P, Hansson GK. Inflammation and Immunity in Diseases of the Arterial Tree: Players and Layers. Circ Res. 16. Januar 2015;116(2):307–11.

6. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. N Engl J Med. 14. Januar 1999;340(2):115–26.

7. Steinbrecher UP, Parthasarathy S, Leake DS, Witztum JL, Steinberg D. Modification of low density lipoprotein by endothelial cells involves lipid peroxidation and degradation of low density lipoprotein phospholipids. Proc Natl Acad Sci USA. Juni 1984;81(12):3883–7.

8. Libby P, Ridker PM. Inflammation and Atherothrombosis: From Population Biology and Bench Research to Clinical Practice. Journal of the American College of Cardiology. 7. November 2006;48(9, Supplement):A33–46.

9. Quinn MT, Parthasarathy S, Fong LG, Steinberg D. Oxidatively modified low density lipoproteins: a potential role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. Proc Natl Acad Sci USA. Mai 1987;84(9):2995–8.

10. Dollery CM, Libby P. Atherosclerosis and proteinase activation. Cardiovasc Res. 15. Februar 2006;69(3):625–35.

11. Levin DC, Fallon JT. Significance of the angiographic morphology of localized coronary stenoses: histopathologic correlations. Circulation. August 1982;66(2):316–20.

12. Richardson PD, Davies MJ, Born GV. Influence of plaque configuration and stress distribution on fissuring of coronary atherosclerotic plaques. Lancet. 21. Oktober 1989;2(8669):941–4.

13. Falk E, Nakano M, Bentzon JF, Finn AV, Virmani R. Update on acute coronary syndromes: the pathologists' view. Eur Heart J. März 2013;34(10):719–28.

14. Virmani R, Burke AP, Farb A, Kolodgie FD. Pathology of the vulnerable plaque. J Am Coll Cardiol. 18. April 2006;47(8 Suppl):C13-18.

15. Roffi M, Patrono C, Collet JP, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, u. a. [2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC)]. G Ital Cardiol (Rome). 2016;17(10):831–72.

16. Iwasaki H, Akashi K. Myeloid lineage commitment from the hematopoietic stem cell. Immunity. Juni 2007;26(6):726–40.

17. van Furth R, Cohn ZA. The origin and kinetics of mononuclear phagocytes. J Exp Med. 1. September 1968;128(3):415–35.

18. Randolph GJ, Inaba K, Robbiani DF, Steinman RM, Muller WA. Differentiation of phagocytic monocytes into lymph node dendritic cells in vivo. Immunity. Dezember 1999;11(6):753–61.

19. Van Furth R, Diesselhoff-den Dulk MC, Mattie H. Quantitative study on the production and kinetics of mononuclear phagocytes during an acute inflammatory reaction. J Exp Med. 1. Dezember 1973;138(6):1314–30.

20. Murray E, Webb RA, Swann M. A disease of rabbits characterized by a large mononuclear leucocytosis, caused by a hitherto undescribed bacillus: Bacterium monocytogenes (n.s.p.). 1. Januar 1926 [zitiert 16. Januar 2020]; Verfügbar unter: https://www.scienceopen.com/document?vid=b3cd592c-112c-4cbd-9bb4-dc626bd33af2

21. Passlick B, Flieger D, Ziegler-Heitbrock HW. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. Blood. 15. November 1989;74(7):2527–34.

22. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, u. a. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. Blood. 21. Oktober 2010;116(16):e74-80.

23. Ancuta P, Liu KY, Misra V, Wacleche VS, Gosselin A, Zhou X, u. a. Transcriptional profiling reveals developmental relationship and distinct biological functions of CD16+ and CD16- monocyte subsets. BMC Genomics. 27. August 2009;10:403.

24. Fingerle G, Pforte A, Passlick B, Blumenstein M, Ströbel M, Ziegler-Heitbrock HW. The novel subset of CD14+/CD16+ blood monocytes is expanded in sepsis patients. Blood. 15. November 1993;82(10):3170–6.

25. Nockher WA, Scherberich JE. Expanded CD14+ CD16+ monocyte subpopulation in patients with acute and chronic infections undergoing hemodialysis. Infect Immun. Juni 1998;66(6):2782–90.

26. Skrzeczyńska-Moncznik J, Bzowska M, Loseke S, Grage-Griebenow E, Zembala M, Pryjma J. Peripheral blood CD14high CD16+ monocytes are main producers of IL-10. Scand J Immunol. Februar 2008;67(2):152–9.

27. Vaddi K, Newton RC. Regulation of monocyte integrin expression by beta-family chemokines. J Immunol. 15. November 1994;153(10):4721–32.

28. Kapinsky M, Torzewski M, Büchler C, Duong CQ, Rothe G, Schmitz G. Enzymatically degraded LDL preferentially binds to CD14(high) CD16(+) monocytes and induces foam cell formation mediated only in part by the class B scavenger-receptor CD36. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Juni 2001;21(6):1004–10.

29. Han KH, Chen Y, Chang MK, Han YC, Park JH, Green SR, u. a. LDL activates signaling pathways leading to an increase in cytosolic free calcium and stimulation of CD11b expression in monocytes. J Lipid Res. Juli 2003;44(7):1332–40.

30. van Furth R. Human monocytes and cytokines. Res Immunol. Oktober 1998;149(7–8):719–20.

31. Gordon S. Pattern recognition receptors: doubling up for the innate immune response. Cell. 27. Dezember 2002;111(7):927–30.

32. Haziot A, Chen S, Ferrero E, Low MG, Silber R, Goyert SM. The monocyte differentiation antigen, CD14, is anchored to the cell membrane by a phosphatidylinositol linkage. J Immunol. 15. Juli 1988;141(2):547–52.

33. Devitt A, Moffatt OD, Raykundalia C, Capra JD, Simmons DL, Gregory CD. Human CD14 mediates recognition and phagocytosis of apoptotic cells. Nature. 2. April 1998;392(6675):505–9.

34. Ulevitch RJ, Tobias PS. Receptor-dependent mechanisms of cell stimulation by bacterial endotoxin. Annu Rev Immunol. 1995;13:437–57.

35. Yang RB, Mark MR, Gray A, Huang A, Xie MH, Zhang M, u. a. Toll-like receptor-2 mediates lipopolysaccharide-induced cellular signalling. Nature. 17. September 1998;395(6699):284–8.

36. Unkeless JC, Shen Z, Lin CW, DeBeus E. Function of human Fc gamma RIIA and Fc gamma RIIIB. Semin Immunol. Februar 1995;7(1):37–44.

37. Mandelboim O, Malik P, Davis DM, Jo CH, Boyson JE, Strominger JL. Human CD16 as a lysis receptor mediating direct natural killer cell cytotoxicity. Proc Natl Acad Sci USA. 11. Mai 1999;96(10):5640–4.

38. Fernandez EJ, Lolis E. Structure, function, and inhibition of chemokines. Annu Rev Pharmacol Toxicol. 2002;42:469–99.

39. Graves DT, Jiang Y. Chemokines, a family of chemotactic cytokines. Crit Rev Oral Biol Med. 1995;6(2):109–18.

40. Allen SJ, Crown SE, Handel TM. Chemokine: receptor structure, interactions, and antagonism. Annu Rev Immunol. 2007;25:787–820.

41. DeVries ME, Kelvin AA, Xu L, Ran L, Robinson J, Kelvin DJ. Defining the origins and evolution of the chemokine/chemokine receptor system. J Immunol. 1. Januar 2006;176(1):401–15.

42. Mahalingam S, Karupiah G. Chemokines and chemokine receptors in infectious diseases. Immunol Cell Biol. Dezember 1999;77(6):469–75.

43. Lodowski DT, Palczewski K. Chemokine receptors and other G protein-coupled receptors. Curr Opin HIV AIDS. März 2009;4(2):88–95.

44. Nomiyama H, Mera A, Ohneda O, Miura R, Suda T, Yoshie O. Organization of the chemokine genes in the human and mouse major clusters of CC and CXC chemokines: diversification between the two species. Genes Immun. April 2001;2(2):110–3.

45. Kufareva I, Salanga CL, Handel TM. Chemokine and chemokine receptor structure and interactions: implications for therapeutic strategies. Immunol Cell Biol. April 2015;93(4):372–83.

46. Cavallaro S. CXCR4/CXCL12 in non-small-cell lung cancer metastasis to the brain. Int J Mol Sci. 15. Januar 2013;14(1):1713–27.

47. Xu F, Shi J, Yu B, Ni W, Wu X, Gu Z. Chemokines mediate mesenchymal stem cell migration toward gliomas in vitro. Oncol Rep. Juni 2010;23(6):1561–7.

48. Buc M, Bucova M. [Chemokines]. Bratisl Lek Listy. 2000;101(9):507–11.

49. Wang JF, Liu ZY, Groopman JE. The alpha-chemokine receptor CXCR4 is expressed on the megakaryocytic lineage from progenitor to platelets and modulates migration and adhesion. Blood. 1. August 1998;92(3):756–64.

50. De La Luz Sierra M, Yang F, Narazaki M, Salvucci O, Davis D, Yarchoan R, u. a. Differential processing of stromal-derived factor-1alpha and stromal-derived factor-1beta explains functional diversity. Blood. 1. April 2004;103(7):2452–9.

51. Balabanian K, Lagane B, Infantino S, Chow KYC, Harriague J, Moepps B, u. a. The chemokine SDF-1/CXCL12 binds to and signals through the orphan receptor RDC1 in T lymphocytes. J Biol Chem. 21. Oktober 2005;280(42):35760–6.

52. Chen Q, Zhang M, Li Y, Xu D, Wang Y, Song A, u. a. CXCR7 Mediates Neural Progenitor Cells Migration to CXCL12 Independent of CXCR4. Stem Cells. August 2015;33(8):2574–85.

53. Shirozu M, Nakano T, Inazawa J, Tashiro K, Tada H, Shinohara T, u. a. Structure and chromosomal localization of the human stromal cell-derived factor 1 (SDF1) gene. Genomics. 10. August 1995;28(3):495–500.

54. Nagasawa T, Tachibana K, Kishimoto T. A novel CXC chemokine PBSF/SDF-1 and its receptor CXCR4: their functions in development, hematopoiesis and HIV infection. Semin Immunol. Juni 1998;10(3):179–85.

55. Nagasawa T, Kikutani H, Kishimoto T. Molecular cloning and structure of a pre-B-cell growth-stimulating factor. Proc Natl Acad Sci USA. 15. März 1994;91(6):2305–9.

56. Allami RH, Graf C, Martchenko K, Voss B, Becker M, Berger MR, u. a. Analysis of the expression of SDF-1 splicing variants in human colorectal cancer and normal mucosa tissues. Oncol Lett. März 2016;11(3):1873–8.

57. Schrader AJ, Lechner O, Templin M, Dittmar KEJ, Machtens S, Mengel M, u. a. CXCR4/CXCL12 expression and signalling in kidney cancer. Br J Cancer. 22. April 2002;86(8):1250–6.

58. Ceradini DJ, Kulkarni AR, Callaghan MJ, Tepper OM, Bastidas N, Kleinman ME, u. a. Progenitor cell trafficking is regulated by hypoxic gradients through HIF-1 induction of SDF-1. Nat Med. August 2004;10(8):858–64.

59. Kryczek I, Lange A, Mottram P, Alvarez X, Cheng P, Hogan M, u. a. CXCL12 and vascular endothelial growth factor synergistically induce neoangiogenesis in human ovarian cancers. Cancer Res. 15. Januar 2005;65(2):465–72.

60. Vagima Y, Lapid K, Kollet O, Goichberg P, Alon R, Lapidot T. Pathways implicated in stem cell migration: the SDF-1/CXCR4 axis. Methods Mol Biol. 2011;750:277–89.

61. Nagasawa T, Hirota S, Tachibana K, Takakura N, Nishikawa S, Kitamura Y, u. a. Defects of B-cell lymphopoiesis and bone-marrow myelopoiesis in mice lacking the CXC chemokine PBSF/SDF-1. Nature. 15. August 1996;382(6592):635–8.

62. Ma Q, Jones D, Borghesani PR, Segal RA, Nagasawa T, Kishimoto T, u. a. Impaired B-lymphopoiesis, myelopoiesis, and derailed cerebellar neuron migration in CXCR4- and SDF-1-deficient mice. Proc Natl Acad Sci USA. 4. August 1998;95(16):9448–53.

63. Oberlin E, Amara A, Bachelerie F, Bessia C, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F, u. a. The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin

and prevents infection by T-cell-line-adapted HIV-1. Nature. 29. August 1996;382(6594):833–5.

64. Luker KE, Lewin SA, Mihalko LA, Schmidt BT, Winkler JS, Coggins NL, u. a. Scavenging of CXCL12 by CXCR7 promotes tumor growth and metastasis of CXCR4-positive breast cancer cells. Oncogene. 8. November 2012;31(45):4750–8.

65. McCandless EE, Piccio L, Woerner BM, Schmidt RE, Rubin JB, Cross AH, u. a. Pathological expression of CXCL12 at the blood-brain barrier correlates with severity of multiple sclerosis. Am J Pathol. März 2008;172(3):799–808.

66. Loetscher M, Geiser T, O'Reilly T, Zwahlen R, Baggiolini M, Moser B. Cloning of a human seven-transmembrane domain receptor, LESTR, that is highly expressed in leukocytes. J Biol Chem. 7. Januar 1994;269(1):232–7.

67. Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA. HIV-1 entry cofactor: functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. Science. 10. Mai 1996;272(5263):872–7.

68. Bleul CC, Farzan M, Choe H, Parolin C, Clark-Lewis I, Sodroski J, u. a. The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. Nature. 29. August 1996;382(6594):829–33.

69. Bernhagen J, Krohn R, Lue H, Gregory JL, Zernecke A, Koenen RR, u. a. MIF is a noncognate ligand of CXC chemokine receptors in inflammatory and atherogenic cell recruitment. Nat Med. Mai 2007;13(5):587–96.

70. Pawig L, Klasen C, Weber C, Bernhagen J, Noels H. Diversity and Inter-Connections in the CXCR4 Chemokine Receptor/Ligand Family: Molecular Perspectives. Front Immunol. 2015;6:429.

71. Guo Y, Hangoc G, Bian H, Pelus LM, Broxmeyer HE. SDF-1/CXCL12 enhances survival and chemotaxis of murine embryonic stem cells and production of primitive and definitive hematopoietic progenitor cells. Stem Cells. Oktober 2005;23(9):1324–32.

72. Döring Y, Pawig L, Weber C, Noels H. The CXCL12/CXCR4 chemokine ligand/receptor axis in cardiovascular disease. Front Physiol. 2014;5:212.

73. Sun X, Cheng G, Hao M, Zheng J, Zhou X, Zhang J, u. a. CXCL12 / CXCR4 / CXCR7 chemokine axis and cancer progression. Cancer Metastasis Rev. Dezember 2010;29(4):709–22.

74. Schioppa T, Uranchimeg B, Saccani A, Biswas SK, Doni A, Rapisarda A, u. a. Regulation of the chemokine receptor CXCR4 by hypoxia. J Exp Med. 3. November 2003;198(9):1391–402.

75. Schutyser E, Su Y, Yu Y, Gouwy M, Zaja-Milatovic S, Van Damme J, u. a. Hypoxia enhances CXCR4 expression in human microvascular endothelial cells and human melanoma cells. Eur Cytokine Netw. Juni 2007;18(2):59–70.

76. Liu H, Xue W, Ge G, Luo X, Li Y, Xiang H, u. a. Hypoxic preconditioning advances CXCR4 and CXCR7 expression by activating HIF-1α in MSCs. Biochem Biophys Res Commun. 29. Oktober 2010;401(4):509–15.

77. Singh AK, Arya RK, Trivedi AK, Sanyal S, Baral R, Dormond O, u. a. Chemokine receptor trio: CXCR3, CXCR4 and CXCR7 crosstalk via CXCL11 and CXCL12. Cytokine Growth Factor Rev. Februar 2013;24(1):41–9.

78. Shimizu N, Soda Y, Kanbe K, Liu HY, Mukai R, Kitamura T, u. a. A putative G protein-coupled receptor, RDC1, is a novel coreceptor for human and simian immunodeficiency viruses. J Virol. Januar 2000;74(2):619–26.

79. Rajagopal S, Kim J, Ahn S, Craig S, Lam CM, Gerard NP, u. a. Beta-arrestin- but not G protein-mediated signaling by the „decoy“ receptor CXCR7. Proc Natl Acad Sci USA. 12. Januar 2010;107(2):628–32.

80. Wang Y, Li G, Stanco A, Long JE, Crawford D, Potter GB, u. a. CXCR4 and CXCR7 have distinct functions in regulating interneuron migration. Neuron. 13. Januar 2011;69(1):61–76.

81. Wang H, Beaty N, Chen S, Qi CF, Masiuk M, Shin DM, u. a. The CXCR7 chemokine receptor promotes B-cell retention in the splenic marginal zone and serves as a sink for CXCL12. Blood. 12. Januar 2012;119(2):465–8.

82. Décaillot FM, Kazmi MA, Lin Y, Ray-Saha S, Sakmar TP, Sachdev P. CXCR7/CXCR4 heterodimer constitutively recruits beta-arrestin to enhance cell migration. J Biol Chem. 16. September 2011;286(37):32188–97.

83. Levoye A, Balabanian K, Baleux F, Bachelerie F, Lagane B. CXCR7 heterodimerizes with CXCR4 and regulates CXCL12-mediated G protein signaling. Blood. 11. Juni 2009;113(24):6085–93.

84. Chatterjee M, Borst O, Walker B, Fotinos A, Vogel S, Seizer P, u. a. Macrophage migration inhibitory factor limits activation-induced apoptosis of platelets via CXCR7-dependent Akt signaling. Circ Res. 7. November 2014;115(11):939–49.

85. Miao Z, Luker KE, Summers BC, Berahovich R, Bhojani MS, Rehemtulla A, u. a. CXCR7 (RDC1) promotes breast and lung tumor growth in vivo and is expressed on tumor-associated vasculature. Proc Natl Acad Sci USA. 2. Oktober 2007;104(40):15735–40.

86. Sierro F, Biben C, Martínez-Muñoz L, Mellado M, Ransohoff RM, Li M, u. a. Disrupted cardiac development but normal hematopoiesis in mice deficient

in the second CXCL12/SDF-1 receptor, CXCR7. Proc Natl Acad Sci USA. 11. September 2007;104(37):14759–64.

87. Gerrits H, van Ingen Schenau DS, Bakker NEC, van Disseldorp AJM, Strik A, Hermens LS, u. a. Early postnatal lethality and cardiovascular defects in CXCR7-deficient mice. Genesis. Mai 2008;46(5):235–45.

88. Esencay M, Sarfraz Y, Zagzag D. CXCR7 is induced by hypoxia and mediates glioma cell migration towards SDF-1α. BMC Cancer. 17. Juli 2013;13:347.

89. Liu H, Liu S, Li Y, Wang X, Xue W, Ge G, u. a. The role of SDF-1-CXCR4/CXCR7 axis in the therapeutic effects of hypoxia-preconditioned mesenchymal stem cells for renal ischemia/reperfusion injury. PLoS ONE. 2012;7(4):e34608.

90. Akhtar S, Gremse F, Kiessling F, Weber C, Schober A. CXCL12 promotes the stabilization of atherosclerotic lesions mediated by smooth muscle progenitor cells in Apoe-deficient mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. April 2013;33(4):679–86.

91. Zoll J, Fontaine V, Gourdy P, Barateau V, Vilar J, Leroyer A, u. a. Role of human smooth muscle cell progenitors in atherosclerotic plaque development and composition. Cardiovasc Res. 1. Februar 2008;77(3):471–80.

92. Yao L, Heuser-Baker J, Herlea-Pana O, Iida R, Wang Q, Zou MH, u. a. Bone marrow endothelial progenitors augment atherosclerotic plaque regression in a mouse model of plasma lipid lowering. Stem Cells. Dezember 2012;30(12):2720–31.

93. Massberg S, Konrad I, Schürzinger K, Lorenz M, Schneider S, Zohlnhoefer D, u. a. Platelets secrete stromal cell-derived factor 1alpha and recruit bone marrow-derived progenitor cells to arterial thrombi in vivo. J Exp Med. 15. Mai 2006;203(5):1221–33.

94. Stellos K, Langer H, Daub K, Schoenberger T, Gauss A, Geisler T, u. a. Platelet-derived stromal cell-derived factor-1 regulates adhesion and promotes differentiation of human CD34+ cells to endothelial progenitor cells. Circulation. 15. Januar 2008;117(2):206–15.

95. Chatterjee M, Huang Z, Zhang W, Jiang L, Hultenby K, Zhu L, u. a. Distinct platelet packaging, release, and surface expression of proangiogenic and antiangiogenic factors on different platelet stimuli. Blood. 7. April 2011;117(14):3907–11.

96. Langer H, May AE, Daub K, Heinzmann U, Lang P, Schumm M, u. a. Adherent platelets recruit and induce differentiation of murine embryonic

endothelial progenitor cells to mature endothelial cells in vitro. Circ Res. 3. Februar 2006;98(2):e2-10.

97. Daub K, Langer H, Seizer P, Stellos K, May AE, Goyal P, u. a. Platelets induce differentiation of human CD34+ progenitor cells into foam cells and endothelial cells. FASEB J. Dezember 2006;20(14):2559–61.

98. Geisler T, Fekecs L, Wurster T, Chiribiri A, Schuster A, Nagel E, u. a. Association of platelet-SDF-1 with hemodynamic function and infarct size using cardiac MR in patients with AMI. Eur J Radiol. April 2012;81(4):e486-490.

99. Wurster T, Stellos K, Haap M, Seizer P, Geisler T, Otton J, u. a. Platelet expression of stromal-cell-derived factor-1 (SDF-1): an indicator for ACS? Int J Cardiol. 20. März 2013;164(1):111–5.

100. Kowalska MA, Ratajczak J, Hoxie J, Brass LF, Gewirtz A, Poncz M, u. a. Megakaryocyte precursors, megakaryocytes and platelets express the HIV co-receptor CXCR4 on their surface: determination of response to stromal-derived factor-1 by megakaryocytes and platelets. Br J Haematol. Februar 1999;104(2):220–9.

101. Hu X, Dai S, Wu WJ, Tan W, Zhu X, Mu J, u. a. Stromal cell derived factor-1 alpha confers protection against myocardial ischemia/reperfusion injury: role of the cardiac stromal cell derived factor-1 alpha CXCR4 axis. Circulation. 7. August 2007;116(6):654–63.

102. Dai S, Yuan F, Mu J, Li C, Chen N, Guo S, u. a. Chronic AMD3100 antagonism of SDF-1alpha-CXCR4 exacerbates cardiac dysfunction and remodeling after myocardial infarction. J Mol Cell Cardiol. Oktober 2010;49(4):587–97.

103. Dong F, Harvey J, Finan A, Weber K, Agarwal U, Penn MS. Myocardial CXCR4 expression is required for mesenchymal stem cell mediated repair following acute myocardial infarction. Circulation. 17. Juli 2012;126(3):314–24.

104. Karshovska E, Zernecke A, Sevilmis G, Millet A, Hristov M, Cohen CD, u. a. Expression of HIF-1alpha in injured arteries controls SDF-1alpha mediated neointima formation in apolipoprotein E deficient mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Dezember 2007;27(12):2540–7.

105. Noels H, Zhou B, Tilstam PV, Theelen W, Li X, Pawig L, u. a. Deficiency of endothelial CXCR4 reduces reendothelialization and enhances neointimal hyperplasia after vascular injury in atherosclerosis-prone mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. Juni 2014;34(6):1209–20.

106. Gupta SK, Pillarisetti K, Lysko PG. Modulation of CXCR4 expression and SDF-1alpha functional activity during differentiation of human monocytes and macrophages. J Leukoc Biol. Juli 1999;66(1):135–43.

107. Rath D, Chatterjee M, Borst O, Müller K, Stellos K, Mack AF, u. a. Expression of stromal cell-derived factor-1 receptors CXCR4 and CXCR7 on circulating platelets of patients with acute coronary syndrome and association with left ventricular functional recovery. Eur Heart J. Februar 2014;35(6):386–94.

108. Hyafil F, Pelisek J, Laitinen I, Schottelius M, Mohring M, Döring Y, u. a. Imaging the Cytokine Receptor CXCR4 in Atherosclerotic Plaques with the Radiotracer $^{68}$ Ga-Pentixafor for PET. J Nucl Med. März 2017;58(3):499–506.

109. Hao H, Hu S, Chen H, Bu D, Zhu L, Xu C, u. a. Loss of Endothelial CXCR7 Impairs Vascular Homeostasis and Cardiac Remodeling After Myocardial Infarction: Implications for Cardiovascular Drug Discovery. Circulation. 28. März 2017;135(13):1253–64.

110. Li X, Zhu M, Penfold ME, Koenen RR, Thiemann A, Heyll K, u. a. Activation of CXCR7 limits atherosclerosis and improves hyperlipidemia by increasing cholesterol uptake in adipose tissue. Circulation. 18. März 2014;129(11):1244–53.

111. Ma W, Liu Y, Ellison N, Shen J. Induction of C-X-C chemokine receptor type 7 (CXCR7) switches stromal cell-derived factor-1 (SDF-1) signaling and phagocytic activity in macrophages linked to atherosclerosis. J Biol Chem. 31. Mai 2013;288(22):15481–94.

112. Chatterjee M, von Ungern-Sternberg SNI, Seizer P, Schlegel F, Büttcher M, Sindhu NA, u. a. Platelet-derived CXCL12 regulates monocyte function, survival, differentiation into macrophages and foam cells through differential involvement of CXCR4-CXCR7. Cell Death Dis. 19. November 2015;6:e1989.

113. Chen D, Xia Y, Zuo K, Wang Y, Zhang S, Kuang D, u. a. Crosstalk between SDF-1/CXCR4 and SDF-1/CXCR7 in cardiac stem cell migration. Sci Rep. 18. November 2015;5:16813.

114. Rath D, Chatterjee M, Meyer L, Tekath N, Olma C, Krumm P, u. a. Relative survival potential of platelets is associated with platelet CXCR4/CXCR7 surface exposure and functional recovery following STEMI. Atherosclerosis. 2018;278:269–77.

115. Jujo K, Hamada H, Iwakura A, Thorne T, Sekiguchi H, Clarke T, u. a. CXCR4 blockade augments bone marrow progenitor cell recruitment to the neovasculature and reduces mortality after myocardial infarction. Proc Natl Acad Sci USA. 15. Juni 2010;107(24):11008–13.

116. Jujo K, Ii M, Sekiguchi H, Klyachko E, Misener S, Tanaka T, u. a. CXC-Chemokine Receptor 4 Antagonist AMD3100 Promotes Cardiac Functional Recovery After Ischemia/Reperfusion Injury via Endothelial Nitric Oxide Synthase–Dependent Mechanism. Circulation. Januar 2013;127(1):63–73.

117. Lue H, Kleemann R, Calandra T, Roger T, Bernhagen J. Macrophage migration inhibitory factor (MIF): mechanisms of action and role in disease. Microbes Infect. April 2002;4(4):449–60.

118. David JR. Delayed hypersensitivity in vitro: its mediation by cell-free substances formed by lymphoid cell-antigen interaction. Proc Natl Acad Sci USA. Juli 1966;56(1):72–7.

119. Bloom BR, Bennett B. Mechanism of a reaction in vitro associated with delayed-type hypersensitivity. Science. 1. Juli 1966;153(3731):80–2.

120. Calandra T, Bernhagen J, Mitchell RA, Bucala R. The macrophage is an important and previously unrecognized source of macrophage migration inhibitory factor. J Exp Med. 1. Juni 1994;179(6):1895–902.

121. Nishihira J, Koyama Y, Mizue Y. Identification of macrophage migration inhibitory factor (MIF) in human vascular endothelial cells and its induction by lipopolysaccharide. Cytokine. März 1998;10(3):199–205.

122. Bernhagen J, Calandra T, Mitchell RA, Martin SB, Tracey KJ, Voelter W, u. a. MIF is a pituitary-derived cytokine that potentiates lethal endotoxaemia. Nature. 21. Oktober 1993;365(6448):756–9.

123. Calandra T, Bernhagen J, Metz CN, Spiegel LA, Bacher M, Donnelly T, u. a. MIF as a glucocorticoid-induced modulator of cytokine production. Nature. 7. September 1995;377(6544):68–71.

124. Meazza C, Travaglino P, Pignatti P, Magni-Manzoni S, Ravelli A, Martini A, u. a. Macrophage migration inhibitory factor in patients with juvenile idiopathic arthritis. Arthritis Rheum. Januar 2002;46(1):232–7.

125. Wakabayashi K, Otsuka K, Sato M, Takahashi R, Odai T, Isozaki T, u. a. Elevated serum levels of macrophage migration inhibitory factor and their significant correlation with rheumatoid vasculitis disease activity. Mod Rheumatol. Februar 2012;22(1):59–65.

126. Shimizu T, Nishihira J, Mizue Y, Nakamura H, Abe R, Watanabe H, u. a. High macrophage migration inhibitory factor (MIF) serum levels associated with extended psoriasis. J Invest Dermatol. Juni 2001;116(6):989–90.

127. Burger-Kentischer A, Goebel H, Seiler R, Fraedrich G, Schaefer HE, Dimmeler S, u. a. Expression of macrophage migration inhibitory factor in different stages of human atherosclerosis. Circulation. 2. April 2002;105(13):1561–6.

128. Lin SG, Yu XY, Chen YX, Huang XR, Metz C, Bucala R, u. a. De novo expression of macrophage migration inhibitory factor in atherogenesis in rabbits. Circ Res. 8. Dezember 2000;87(12):1202–8.

129. Shyu LY, Yeh TM, Chang HH, Lin DPC, Teng YH, Chen LC, u. a. Macrophage migration inhibitory factor induces ICAM-1and thrombomobulin expression in vitro. Thromb Res. Januar 2012;129(1):43–9.

130. Burger-Kentischer A, Göbel H, Kleemann R, Zernecke A, Bucala R, Leng L, u. a. Reduction of the aortic inflammatory response in spontaneous atherosclerosis by blockade of macrophage migration inhibitory factor (MIF). Atherosclerosis. Januar 2006;184(1):28–38.

131. Chen Z, Sakuma M, Zago AC, Zhang X, Shi C, Leng L, u. a. Evidence for a role of macrophage migration inhibitory factor in vascular disease. Arterioscler Thromb Vasc Biol. April 2004;24(4):709–14.

132. Müller II, Müller KAL, Schönleber H, Karathanos A, Schneider M, Jorbenadze R, u. a. Macrophage migration inhibitory factor is enhanced in acute coronary syndromes and is associated with the inflammatory response. PLoS ONE. 2012;7(6):e38376.

133. Herder C, Illig T, Baumert J, Müller M, Klopp N, Khuseyinova N, u. a. Macrophage migration inhibitory factor (MIF) and risk for coronary heart disease: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002. Atherosclerosis. Oktober 2008;200(2):380–8.

134. Luedike P, Hendgen-Cotta UB, Sobierajski J, Totzeck M, Reeh M, Dewor M, u. a. Cardioprotection Through *S* -Nitros(yl)ation of Macrophage Migration Inhibitory Factor. Circulation. 17. April 2012;125(15):1880–9.

135. Miller EJ, Li J, Leng L, McDonald C, Atsumi T, Bucala R, u. a. Macrophage migration inhibitory factor stimulates AMP-activated protein kinase in the ischaemic heart. Nature. Januar 2008;451(7178):578–82.

136. Schober A, Bernhagen J, Thiele M, Zeiffer U, Knarren S, Roller M, u. a. Stabilization of Atherosclerotic Plaques by Blockade of Macrophage Migration Inhibitory Factor After Vascular Injury in Apolipoprotein E–Deficient Mice. Circulation. 27. Januar 2004;109(3):380–5.

137. Pan JH, Sukhova GK, Yang JT, Wang B, Xie T, Fu H, u. a. Macrophage Migration Inhibitory Factor Deficiency Impairs Atherosclerosis in Low-Density Lipoprotein Receptor-Deficient Mice. Circulation. 29. Juni 2004;109(25):3149–53.

138. Kok T, Wasiel AA, Cool RH, Melgert BN, Poelarends GJ, Dekker FJ. Small-molecule inhibitors of macrophage migration inhibitory factor (MIF) as an emerging class of therapeutics for immune disorders. Drug Discovery Today. November 2018;23(11):1910–8.

139. Sack U, Herausgeber. Zelluläre Diagnostik: Grundlagen, Methoden und klinische Anwendungen der Durchflusszytometrie ; 163 Tabellen. Basel Freiburg im Breisgau: Karger; 2007. 1111 S.

140. Horn F. Biochemie des Menschen: das Lehrbuch für das Medizinstudium. 6., überarbeitete Auflage. Stuttgart New York: Georg Thieme Verlag; 2015. 704 S.

141. Fluorochrome/Laser Reference Poster. In: BD Biosciences. 2015.

142. Flow cytometry introduction | Abcam [Internet]. [zitiert 2. Dezember 2022]. Verfügbar unter: https://www.abcam.com/protocols/introduction-to-flow-cytometry

143. Otto CM, Lind BK, Kitzman DW, Gersh BJ, Siscovick DS. Association of aortic-valve sclerosis with cardiovascular mortality and morbidity in the elderly. N Engl J Med. 15. Juli 1999;341(3):142–7.

144. Thompson PL, Fletcher EE, Katavatis V. Enzymatic indices of myocardial necrosis: influence on short- and long-term prognosis after myocardial infarction. Circulation. Januar 1979;59(1):113–9.

145. Katus HA, Remppis A, Neumann FJ, Scheffold T, Diederich KW, Vinar G, u. a. Diagnostic efficiency of troponin T measurements in acute myocardial infarction. Circulation. März 1991;83(3):902–12.

146. Ronco C, Haapio M, House AA, Anavekar N, Bellomo R. Cardiorenal Syndrome. Journal of the American College of Cardiology. November 2008;52(19):1527–39.

147. Li L, Du Z, Rong B, Zhao D, Wang A, Xu Y, u. a. Foam cells promote atherosclerosis progression by releasing CXCL12. Bioscience Reports. 31. Januar 2020;40(1):BSR20193267.

148. Brave M, Farrell A, Ching Lin S, Ocheltree T, Pope Miksinski S, Lee SL, u. a. FDA Review Summary: Mozobil in Combination with Granulocyte Colony-Stimulating Factor to Mobilize Hematopoietic Stem Cells to the Peripheral Blood for Collection and Subsequent Autologous Transplantation. Oncology. 2010;78(3–4):282–8.

149. Berg KE, Ljungcrantz I, Andersson L, Bryngelsson C, Hedblad B, Fredrikson GN, u. a. Elevated CD14 $^{++}$ CD16 $^{-}$ Monocytes Predict Cardiovascular Events. Circ Cardiovasc Genet. Februar 2012;5(1):122–31.

## 7. Erklärung zum Eigenanteil der Dissertationsschrift

Die vorliegende Dissertation wurde in der Medizinischen Universitätsklinik und Poliklinik Tübingen, Abteilung Innere Medizin III (Kardiologie und Angiologie) unter Betreuung von Frau PD Dr. med. Karin Müller durchgeführt.
Die Konzeption und Betreuung dieser Studie erfolgten durch Frau PD Dr. med. Karin Müller.
Die Patientenrekrutierung, Erhebung der Patientencharakteristika sowie die Messungen im Labor erfolgten durch mich in Zusammenarbeit mit Osama Ahmad nach Einarbeitung durch Frau Lydia Laptev und Lea Kuhn.
Die statistische Auswertung erfolgte in Zusammenarbeit mit Frau PD Dr. med. Karin Müller.
Ich versichere, das Manuskript selbstständig verfasst zu haben und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet zu haben.

Tübingen, den 10.05.2023

## 8. Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei Professor Meinrad Gawaz als Leiter der Abteilung für die Möglichkeit meine Dissertationsschrift in der Abteilung verfassen zu dürfen.

Besonderer Dank geht an Frau Dr. Karin Müller für die gute Betreuung und Unterstützung von Beginn an bis zum Abschluss der Arbeit.

Außerdem möchte ich mich bei Frau Lydia Laptev und allen anderen Mitarbeitern der Arbeitsgruppe bedanken, ohne die eine gute Einarbeitung im Labor kaum möglich gewesen wäre. Vielen Dank auch an Osama Ahmad für die tolle Zusammenarbeit im Labor.

Mein größter Dank geht an meine Eltern, die mich auf meinem Weg durch das Studium und die Dissertation immer unterstützt haben.