

Aus der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf.

Direktor der Klinik Prof. Dr. med. Malte Kelm

Die Rolle von Monozyten-Thrombozyten-Aggregaten in der unmittelbaren Heilungsphase nach einem akuten ST-Elevationsmyokardinfarkt

Dissertation

Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von
Jonathan Peter Rohrer
2026

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: Prof. Dr. med. Florian Bönner

Zweitgutachter: Prof Dr. med. Michael Gliem

Diese Arbeit widme ich meinen Eltern Gerlinde und Peter und meiner Frau Sophie.

I. Zusammenfassung

Der akute Myokardinfarkt ist eine der häufigsten Todesursachen der westlichen Welt. Die Vorgänge, die die Komplikationen eines Herzinfarktes beeinflussen, sind daher von großem wissenschaftlichem Interesse. Monozyten, als Zellen der angeborenen Immunantwort, spielen in der Entzündungsreaktion, und somit der Heilung, nach einem akuten Myokardinfarkt eine entscheidende Rolle. Diese können in der Durchflusszytometrie anhand der Oberflächenantigene CD14 und CD16 in drei Subpopulationen unterschieden werden: *Klassische Monozyten* (CD 14++, CD16-), *intermediäre Monozyten* (CD14++, CD16+) und *Nicht-klassische Monozyten* (CD14-, CD16++). *Klassische Monozyten* zeigen dabei einen proinflammatorischen Phänotyp. *Nicht-klassische Monozyten* gelten als protektiv, während die Gruppe der *intermediären Monozyten* noch wenig untersucht ist. Aktivierte Thrombozyten bilden mit Monozyten im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen sogenannte *Monozyten-Thrombozyten-Aggregate*. Eine erhöhte Anzahl dieser Aggregate nach einem Myokardinfarkt geht mit erhöhter Mortalität und Herzinsuffizienz einher. Die pathophysiologischen Zusammenhänge hierfür sind jedoch weitgehend ungeklärt. Ziel der Arbeit war es (1) die Dynamik der Aggregat-Bildung nach einem ST-Elevationsmyokardinfarkt subgruppenspezifisch zu quantifizieren und (2) einen Zusammenhang zwischen der Aggregat-Bildung und dem Ausmaß des Myokardinfarktes sowie dem Ausmaß der Inflammation herzustellen.

Wir untersuchten Monozyten von 56 Patienten mit ST-Elevationsmyokardinfarkt und verglichen diese mit Monozyten von 27 vergleichbaren Patienten mit koronarer Herzerkrankung ohne Herzinfarkt. Peripher venöse Blutproben zu drei Zeitpunkten (Tag 0, Tag 1, Tag 5) wurden innerhalb von zwei Stunden nach Blutentnahme zur Analyse aufbereitet. Durch die Anfärbung der Oberflächenmerkmale CD14, CD16, CD41a wurden in der Durchflusszytometrie Monozyten und ihre Subpopulationen bestimmt. Als *Monozyten-Thrombozyten-Aggregate* wurden Monozyten mit einem zusätzlichen positiven Ereignis für den Thrombozyten-Marker CD41a gewertet. Über das Oberflächenmerkmal CD62P konnten wir eine Aussage über die Aktivierung der Thrombozyten gewinnen.

Im zeitlichen Verlauf nach einem Infarkt zeigten die *Aggregate mit intermediären Monozyten* als einzige Subpopulation einen signifikanten Anstieg mit dem Maximum an Tag 1. Patienten mit dieser Konstellation an Tag 1 nach STEMI zeigten ein größeres Infarktareal, sowie an Tag 5 eine schlechte linksventrikuläre Funktion mit erhöhten enddiastolischen und endsystolischen Volumina, sowie vermehrte mikrovaskuläre Obstruktion. Ebenso konnte ein höheres maximales CRP als Marker der inflammatorischen Reaktion nach STEMI nachgewiesen werden.

In unserer Arbeit konnten wir zeigen, dass eine vermehrte Aggregation von Thrombozyten mit *intermediären Monozyten* nach einem Myokardinfarkt mit größeren Infarktarealen sowie mit Risikomarkern für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse einhergeht. Weitere experimentelle Studien sind notwendig, um zu klären, ob diese Beobachtung ein assoziativer Parameter mit potenzieller prognostischer Aussagekraft ist oder ob die Bildung dieser Aggregate eine direkte, kausale pathophysiologische Rolle im akuten Myokardinfarkt spielt und somit ein potenzielles Ziel für eine medikamentöse Therapie darstellen könnte.

II. Summary

Acute myocardial infarction is one of the leading causes of death in the Western world. The mechanisms influencing post-infarction complications are therefore of major scientific interest. Monocytes, as key cells of the innate immune response, play a crucial role in the inflammatory reaction and subsequent healing process following acute myocardial infarction. Using flow cytometry, monocytes can be classified into three subpopulations based on the surface antigens CD14 and CD16: classical monocytes (CD14⁺⁺, CD16⁻), intermediate monocytes (CD14⁺⁺, CD16⁺), and non-classical monocytes (CD14⁻, CD16⁺⁺). Classical monocytes exhibit a pro-inflammatory phenotype, while non-classical monocytes are considered protective; the role of intermediate monocytes remains less well understood.

In the context of cardiovascular disease, activated platelets form so-called monocyte–platelet aggregates (MPA) with monocytes. An increased number of these aggregates after myocardial infarction is associated with higher mortality and an increased risk of heart failure, although the underlying pathophysiological mechanisms remain largely unclear. The aims of this study were (1) to quantify the subgroup-specific dynamics of MPA formation following ST-elevation myocardial infarction (STEMI) and (2) to investigate the relationship between MPA formation, infarct size, and the extent of inflammation.

We analyzed monocytes from 56 patients with STEMI and compared them with monocytes from 27 matched patients with stable coronary artery disease without myocardial infarction. Peripheral venous blood samples were collected at three time points (day 0, day 1, day 5) and processed within two hours of collection. Monocytes and their subpopulations were identified by flow cytometry using surface markers CD14, CD16, and CD41a. Monocyte–platelet aggregates were defined as monocytes with an additional positive signal for the platelet marker CD41a. Platelet activation was assessed using the surface marker CD62P.

Over time following myocardial infarction, a significant increase in aggregate formation was observed exclusively in intermediate monocytes, with a peak on day 1. Patients exhibiting this pattern on day 1 after STEMI showed larger infarct sizes, impaired left ventricular function at day 5 with increased end-diastolic and end-systolic volumes, and a higher degree of microvascular obstruction. In addition, higher peak C-reactive protein (CRP) levels were detected, indicating an enhanced inflammatory response after STEMI.

In conclusion, our study demonstrates that increased aggregation of platelets with intermediate monocytes after myocardial infarction is associated with larger infarct sizes and markers of increased risk for future cardiovascular events. Further experimental studies are required to determine whether this observation represents a purely associative parameter with prognostic value or whether these aggregates play a direct, causal pathophysiological role in acute myocardial infarction and may therefore constitute a potential target for pharmacological intervention.

III. Abkürzungsverzeichnis:

ACK-Lysepuffer	Ammonium-Chlorid-Potassium-Lysepuffer
ACS	Akutes Coronarsyndrom
AP	Angina pectoris
ASS	Aspirin
CCS	Chronisches Coronarsyndrom
CK	Creatinkinase
CMR	kardiale magnetresonanz Tomographie
CRP	C-reaktives Protein
DAPT	Duale Plättchenhemmung
DES	Drug eluting Stent
DM	Diabetes mellitus
EKG	Elektrokardiogramm
FACS	Fluorescence activated cell sorting
hsTnT	High sensitive Troponin
KHK	Koronare Herzerkrankung
LGE	Late Gadolinium Enhancement
LV-EDV	Linksventrikuläre enddiastolisches Volumen
LV-EF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LV-ESV	Linksventrikuläres endsystolisches Volumen
LV-SV	Linksventrikuläres Schlagvolumen
LVF	Linksventrikuläre Funktion
MFI	Median Fluorescence intensity
MPA	Monocyte-Platelet-Aggregates
MVO	Mikrovaskuläre Obstruktion
NSTEMI	Nicht-ST-Elevationsmyokardinfarkt
PBS	Phosphat-buffered-saline
PCI	perkutane Koronarintervention
PSGL-1	P-selektin Ligand 1
RCF	Relative centrifugal force
STEMI	ST-Elevationsmyokardinfarkt

IV. Abbildungsverzeichnis

ABB. 1: STUDIENPROTOKOLL	11
ABB. 2 GATING-STRATEGIE MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES	14
ABB. 3: VERÄNDERUNG DER MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES ÜBER DEN ZEITRAUM VON 24H.....	FEHLER!
TEXTMARKE NICHT DEFINIERT.	
ABB. 4: DYNAMIK DER MONOZYTEN-SUBPOPULATIONEN NACH ST-ELEVATIONS-MYOKARDINFARKT	21
ABB. 5: BILDUNG VON MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES IN DEN MONOZYTEN-SUBPOPULATIONEN NACH ST-ELEVATIONS-MYOKARDINFARKT.....	23
ABB. 6: INTERMEDIATE MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND MAXIMUM DES C-REAKTIVEN PROTEIN ..	24
ABB. 7: INTERMEDIATE MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND LEUKOZYTENZAHLE.....	25
ABB. 8: INTERMEDIATE MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND CD62P MEAN FLUORESCENCE INTENSITY	26
ABB. 9: INTERMEDIATE MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND CREATIN-KINASE.....	27
ABB. 10: INTERMEDIATE MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND TROPONIN	28
ABB. 11: INTERMEDIATE MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND HERZFUNKTION	29
ABB. 12: INTERMEDIATE MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND INFARKTGRÖßE	30
ABB. 13: INTERMEDIATE MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND MIKROVASKULÄRE OBSTRUKTION	31

V. Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: ANTIKÖRPER PANEL ZUR FÄRBUNG VON MONOZYTEN	12
TABELLE 2: AUFLISTUNG DER GENUTZTEN GERÄTE UND DER GENUTZTEN COMPUTERPROGRAMME.....	15
TABELLE 3: AUFLISTUNG DER GENUTZTEN CHEMIKALIEN UND LABORMATERIALIEN	16
TABELLE 4: AUFLISTUNG DER GENUTZTEN ANTIKÖRPER.....	17
TABELLE 5: PATIENTENCHARAKTERISTIK	19

VI. Inhaltsverzeichnis

1	EINLEITUNG:	1
1.1	EPIDEMIOLOGIE, DEFINITION UND PATHOPHYSIOLOGIE DES AKUTEN MYOKARDINFARKTES	1
1.2	DIAGNOSTIK UND THERAPIE DES AKUTEN ST-ELEVATIONS-MYOKARDINFARKT	2
1.2.1	<i>Einteilung und Diagnostik des akuten Koronarsyndroms</i>	2
1.2.2	<i>Chronisches Koronarsyndrom</i>	2
1.2.3	<i>Management und Therapie des akuten ST-Elevationsmyokardinfarkt</i>	2
1.2.4	<i>Beurteilung der Prognose nach ST-Elevationsmyokardinfarkt</i>	3
1.3	ANTWORT DES ANGEBORENEN IMMUNSYSTEMS AUF EINEN AKUTEN ST-ELEVATIONS-MYOKARDINFARKT	5
1.3.1	<i>Allgemeine Immunantwort</i>	5
1.3.2	<i>Monozytäre Immunantwort im akuten ST-Elevations-Myokardinfarkt</i>	6
1.3.3	<i>Interaktion zwischen Monozyten und Thrombozyten und Formierung von Monozyten-Thrombozyten-Aggregaten im akuten ST-Elevationsmyokardinfarkt</i>	7
1.4	ZIEL DER ARBEIT UND FRAGESTELLUNGEN	9
1.4.1	<i>Ziele der Arbeit</i>	9
2	MATERIAL UND METHODEN	9
2.1	METHODEN	9
2.1.1	<i>Patientenkollektiv und Studiendesign</i>	9
2.1.2	<i>Gewinnung von biologischem Material</i>	10
2.1.3	<i>Leukozytenisolation</i>	11
2.1.4	<i>Viabilitätsfeststellung</i>	11
2.1.5	<i>Oberflächenfärbung</i>	12
2.1.6	<i>Durchflusszytometrie</i>	12
2.1.7	<i>Cardio-Magnetresonanztomographie, Infarktgröße und Mikrovaskuläre Obstruktion</i>	14
2.1.8	<i>Statistik</i>	15
2.2	MATERIAL:	15
2.2.1	<i>Geräte und Software</i>	15
2.2.2	<i>Labormaterialien</i>	16
2.2.3	<i>Chemikalien</i>	16
2.2.4	<i>Antikörper</i>	17
3	ERGEBNISSE:	17
3.1	STUDIENPOPULATION	17
3.2	ZEITLICHER VERLAUF DER MONOZYTEN-SUBPOPULATIONEN IM AKUTEN STEMI	20
3.3	SUBGRUPPENSPEZIFISCHE BILDUNG VON MONOCYTE-PLATELET-AGGREGAT	22
3.4	ASSOZIATION VON MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND INFLAMMATION UND DER INFARKTSCHWERE	23
3.5	ASSOZIATION VON MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND DER THROMBOZYTENAKTIVIERUNG	25
3.6	ASSOZIATION VON MONOCYTE-PLATELET-AGGREGATES UND INFARKTSCHWERE	26
3.6.1	<i>Monocyte-Platelet-Aggregates und Creatin-Kinase</i>	26
3.6.2	<i>Monocyte-Platelet-Aggregates und Troponin</i>	27
3.6.3	<i>Monocyte-Platelet-Aggregates und kardiale Funktion</i>	28
3.6.4	<i>Monocyte-Platelet-Aggregates, Infarktgröße und mikrovaskuläre Obstruktion</i>	29
4	DISKUSSION	31
4.1	SCHLÜSSELERGEBNISSE	31
4.2	DYNAMIK DER MONOZYTEN-SUBPOPULATIONEN	32
4.3	MPA-BILDUNG UND DYNAMIK	34
4.4	THROMBOINFLAMMATION, INFARKTSCHWERE UND MPA-BILDUNG	37
4.4.1	<i>Thromboinflammation</i>	37
4.4.2	<i>Infarktschwere</i>	38
4.5	LIMITATIONEN	39
4.5.1	<i>Deskriptive Aussagekraft der MPA Veränderungen</i>	39
4.5.2	<i>Methodische Einflussfaktoren auf die Messung der Monocyte-Platelet-Aggregates und deren Verlauf nach einem akuten STEMI</i>	39
4.6	SCHLUSSFOLGERUNG	40
5	LITERATURVERZEICHNIS	42

1 Einleitung:

1.1 Epidemiologie, Definition und Pathophysiologie des akuten Myokardinfarktes

Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen eine der Haupttodesursachen weltweit dar [1]. In Europa verursacht die koronare Herzerkrankung (KHK) jährlich 1,7 Mio. Todesfälle [2]. Die KHK ist eine chronisch progrediente Erkrankung der Herzkranzgefäße, die zu einem Akutereignis wie einem akuten Myokardinfarkt führen kann. Alleine für das deutsche Gesundheitssystem bedeutet dies jährliche Kosten in der Höhe von 2,3 Mrd. €, die aufgrund des Auftretens akuter Myokardinfarkte anfallen [3]. Ursache der KHK ist die Atherosklerose.

Zu den Risikofaktoren der Atherosklerose zählen neben den beeinflussbaren Faktoren wie Dyslipidämie, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus, Adipositas, Bewegungsmangel und ungesunde Ernährung auch die nicht beeinflussbaren Risikofaktoren wie eine genetische Prädisposition, das Lebensalter und das männliche Geschlecht [4].

Die Atherosklerose ist eine chronische Schädigung der Gefäßinnenwand, der Tunica intima. Durch chronischen Stress auf die Gefäßwand und endotheliale Dysfunktion entsteht eine Entzündungsreaktion. Begünstigt durch eine Dyslipidämie kommt es zur Ablagerung von Cholesterin in der Gefäßwand. Dies zieht die Einwanderung von Monozyten nach sich, welche im Gewebe zu Makrophagen differenzieren, Cholesterin aufnehmen und sich als Schaumzellen ablagern [5].

Die Entzündungsreaktion setzt sich fort und führt in Folge der weiteren Gefäßschädigung zu einer Proliferation von glatten Muskelzellen und einer adaptiven Verdickung der Gefäßinnenwand. Es bilden sich fibrinöse Plaques mit einem nekrotischen Kernanteil. Bereits diese ausgebildeten Plaques können eine Gefäßverengung bedingen. Bei atherosklerotischen Plaques wird zwischen stabilen und instabilen Plaques unterschieden. Instabile Plaques besitzen nur eine dünne fibrinöse Kappe, die leicht aufreißen kann. Kommt es zu einer Ruptur dieser dünnen Kappe einer instabilen atherosklerotischen Plaque, kommt der thrombogene Kern der Plaque mit den Zellen des Blutes in Kontakt und es entsteht ein Thrombus in dem betroffenen Koronargefäß. Auch eine Ulzeration einer atherosklerotischen Plaque kann zu einer Thrombusbildung führen. Durch beide Mechanismen kann es zu einem akuten Verschluss eines Herzkranzgefäßes kommen. Es folgt ein akuter Myokardinfarkt [6].

1.2 Diagnostik und Therapie des akuten ST-Elevationsmyokardinfarkt

1.2.1 Einteilung und Diagnostik des akuten Koronarsyndroms

Das akute Koronarsyndrom (ACS) umfasst ein Spektrum von Entitäten der KHK, welche sich weiter durch Veränderungen im Elektrokardiogramm (EKG) und den Einsatz von laborchemischen Markern unterscheiden lassen. Es werden die instabile Angina pectoris (AP), der Nicht-ST-Elevationsinfarkt (NSTEMI) und der ST-Elevationsmyokardinfarkt (STEMI) unterschieden.

Die instabile AP ist definiert als eine myokardiale Ischämie ohne einen unmittelbaren Untergang von Kardiomyozyten mit einer Dauer von mehr als 20 Minuten, die aus der Ruhe oder minimaler Belastung heraus entstehen kann. Auch eine neu aufgetretene AP, sowie eine vorbekannte AP mit steigender Intensität, längerer Dauer und einer niedrigeren Schwellenbelastung sowie eine AP nach einem kürzlichen Myokardinfarkt werden zur instabilen AP gezählt [7]. Die Diagnose eines NSTEMI wird bei Symptomen einer kardialen Ischämie und einer Troponinerhöhung ohne signifikante Hebungen der ST-Strecke im 12-Kanal-EKG gestellt [8]. Ein STEMI wird bei Symptomen einer kardialen Ischämie in Kombination mit einer ST-Strecken-Hebung in mindestens zwei benachbarten Ableitungen diagnostiziert. Auch Patienten mit einem neu aufgetretenen Schenkelblock und typischen Symptomen eines ACS werden wie Patienten mit einer relevanten ST-Strecken-Hebung behandelt [8].

Die Klassifizierung zwischen NSTEMI und STEMI ist relevant für die unmittelbare therapeutische Konsequenz. Während im Falle eines akuten STEMI unverzüglich eine revaskularisierende Therapie durchgeführt werden muss, kann bei einem NSTEMI die revaskularisierende Therapie nach individueller Risikoevaluation innerhalb von maximal 24 Stunden erfolgen [7]. Diese Arbeit befasst sich ausschließlich mit der Entität STEMI.

1.2.2 Chronisches Koronarsyndrom

Liegt eine KHK mit chronischem Verlauf vor, wird diese Krankheitsentität seit 2019 als Chronisches Koronarsyndrom (CCS) bezeichnet. Für die Entstehung eines CCS kann ebenso wie bei einem ACS eine Gefäßverengung durch Atherosklerose ursächlich sein. Charakteristisch für ein CCS ist eine chronische Progredienz einer KHK mit unterschiedlicher klinischer Symptomausprägung, die durch ein Missverhältnis zwischen Sauerstoff-Bedarf und Sauerstoff-Angebot entsteht und einer dadurch hervorgerufenen Ischämie resultiert [9].

1.2.3 Management und Therapie des akuten ST-Elevationsmyokardinfarkt

Im akuten Management eines STEMI soll bereits präklinisch eine kausale Therapie durch die medikamentöse Hemmung der Thrombozytenaggregation begonnen werden. Dabei

werden insbesondere gerinnungshemmende Medikamente wie Aspirin (ASS) und Heparin eingesetzt. Außerdem werden verschiedene Medikamente zur Symptomkontrolle eingesetzt. Dazu gehören Opiate zur Analgesie und Benzodiazepine zur Beruhigung ängstlicher Patienten. Nitrate werden nicht mehr standardmäßig eingesetzt, können aber individuell zur symptomatischen Therapie angewendet werden. Betablocker können bei Patienten mit Tachykardie ohne akute Herzinsuffizienz eingesetzt werden. Bei Hypoxie mit einer peripheren Sauerstoffsättigung unter 90% soll Patienten Sauerstoff zugeführt werden [7].

Angestrebt wird eine umgehende perkutane Koronarintervention (PCI) mit dem Ziel einer Rekanalisierung und einer Stentimplantation im betroffenen Blutgefäß innerhalb von 120 min. Bei einer PCI werden die verschlossenen Herzkranzgefäße durch Drug-Eluting-Stents (DES), Bare-Metal-Stents oder eine Ballonangioplastie wiedereröffnet, wobei DES als Standardverfahren etabliert sind [10, 11]. Ist eine PCI in nahem zeitlichen Rahmen nicht möglich, steht als zweitrangiges Therapieverfahren eine Fibrinolyse innerhalb von 12h nach Symptombeginn zur Verfügung [7].

Eine zentrale Säule der Sekundärprävention ist die Fortführung der medikamentösen Thrombozytenaggregationshemmung nach einem akuten Myokardinfarkt. Dabei wird in der Regel für 12 Monate eine duale Thrombozytenaggregationshemmung (DAPT) durchgeführt und anschließend eine lebenslange Therapie mit ASS angestrebt [7, 12-14]. Ergänzend wird mittels weiterer medikamentöser Therapie das Risiko erneuter kardiovaskulärer Ereignisse gesenkt. Eingesetzt werden Statine zur Senkung des Cholesterinspiegels, Hemmer des Angiotensinkonversionsenzym (ACE-Hemmer) zur Blutdruckkontrolle und zur Prävention eines negativen *Remodelings* sowie Betablocker zur Kardioprotektion und Prävention von malignen Arrhythmien.. Zur Sekundärprävention wird darüber hinaus eine umfassende Lebensstilmodifikation empfohlen, die den Rauchstopp, eine konsequente Blutdruckkontrolle, Gewichtsreduktion, regelmäßige körperliche Aktivität sowie eine angepasste Ernährungsweise umfasst [7].

1.2.4 Beurteilung der Prognose nach ST-Elevationsmyokardinfarkt

Zur Abschätzung der Prognose nach STEMI hinsichtlich der Entwicklung einer Herzinsuffizienz, Rehospitalisierung, Reinfarkten und der kardiovaskulären Mortalität eignen sich sowohl bildgebende als auch laborchemische Marker. Bei allen Patienten wird während des stationären Aufenthaltes eine Echokardiografie empfohlen, um die rechts- und linksventrikuläre Funktion sowie die Funktion der Herzklappen einzuschätzen und gleichzeitig postischämische mechanische Komplikationen oder das Vorliegen eines Ventrikeltrombus auszuschließen [7]. Einer der wichtigsten Prognoseparameter für das kardiale Outcome die linksventrikuläre Funktion (LVF). Zur Beurteilung wird die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LV-EF) bestimmt. Eine reduzierte LV-EF im Indexaufenthalt nach STEMI sowie eine ausbleibende Erholung der LV-EF im Verlauf von 6 Monaten geht mit einer erhöhten Mortalität einher [15-17]. Daneben können erhöhte linksventrikuläre endsystolische Volumina (LV-ESV) und linksventrikuläre enddiastolische Volumina (LV-EDV) als Prädiktoren einer erhöhten Langzeitmortalität und Rehospitalisierung im Rahmen einer Herzinsuffizienz gewertet werden [18].

Als ergänzendes bildgebendes Verfahren kann neben der Echokardiografie die kardiale Magnetresonanztomographie (CMR) genutzt werden. Diese bietet eine höhere

untersucherunabhängigen Reproduzierbarkeit und ermöglicht eine präzise Beurteilung der Struktur des Myokardgewebes. Der optimale Zeitpunkt für das Durchführen einer CMR mit Kontrastmittel ist Tag 5 ± 2 nach STEMI [19]. Als Surrogatparameter für die Infarktgröße gilt das *Late Gadolinium Enhancement* (LGE). Nach intravenöser Gabe reichert sich das Kontrastmittel in gesundem Myokard über die Kapillaren gleichmäßig an und wird rasch ausgewaschen. Durch die Ischämie kommt es zum Zelluntergang von Myokardgewebe. Im infarzierten Bereich verbleibt mehr Kontrastmittel im interstitiellen Raum, was zu einem verspäteten Auswaschen des Kontrastmittels führt. Das verbliebene Kontrastmittel kann ca. 10-15 min. nach Applikation als heller Bereich und als sogenanntes LGE in der CMR-Aufnahme identifiziert werden. Über den prozentualen LGE-Anteil am Gesamtvolumen des Ventrikels kann die Infarktgröße bestimmt werden [19]. Ein erhöhte LGE Infarktgröße (%) wird als Prädiktor für eine erhöhte Mortalität und das Auftreten kardialer Ereignisse gewertet [19, 20].

Als weiterer relevanter Prognoseparameter der CMR, das Auftreten einer mikrovaskulären Obstruktion (MVO) bestimmt werden [19]. Bis zu 30% der Patienten mit einem Myokardinfarkt entwickeln im infarzierten Areal Mikrozirkulationsschäden, sodass einzelne Bereiche des Infarktes trotz erfolgreicher makrovaskulärer Revaskularisierung nur unvollständig reperfundiert werden. Dies wird als No-Reflow-Phänomen bezeichnet [21]. Ursächlich für dieses Phänomen ist das Auftreten einer MVO. Die Entstehung einer MVO ist multifaktoriell. Entscheidend ist die Dauer der Ischämie mit konsekutiven *endothelial swelling*, die Mikroembolisation, eine vermehrte Aktivierung von Thrombozyten sowie eine verstärkte inflammatorische Reaktion [22]. Für den nichtinvasiven Nachweis einer MVO ist das CMR aktuell das bevorzugte diagnostische Mittel [19]. In der mit Kontrastmittel-unterstützten CMR-Untersuchung kann die MVO im LGE 10-15 Minuten nach der Gadolinium Applikation als nicht Kontrastmittel aufnehmende Region innerhalb des Infarktareals dargestellt werden [23, 24]. Das Auftreten einer MVO ist mit einer schlechteren Langzeitprognose hinsichtlich des Auftretens von Reinfarkten, kardiovaskulären Todesfällen und der Entwicklung einer Herzinsuffizienz verbunden [24].

Laborchemische Biomarker spielen nicht nur in der initialen Diagnostik eines Myokardinfarktes eine Rolle, sondern dienen auch im Verlauf der Risikostratifizierung nach einer erfolgten PCI und Akuttherapie. Aufgrund ihrer breiten Verfügbarkeit sind häufig genutzte Biomarker in der Initial- und Verlaufsdiagnostik eines STEMI das kardiale hoch sensitive Troponin T (hsTnT), die Creatinkinase (CK), das Akute-Phase-Protein C-reaktive Protein (CRP) sowie die Leukozytenzahl. Gleich wie das kardiale Troponin nimmt die Bestimmung der CK nicht nur in der initialen Diagnostik, sondern auch im Verlauf eines Myokardinfarktes eine relevante Rolle ein. Das CK-Maximum und das Troponin-Maximum können im Verlauf nach einem STEMI als laborchemische Parameter für das Abschätzen der Infarktgröße genutzt werden [25, 26]. Wobei hierbei das CK-Maximum als überlegen und zudem als Prädiktor für eine erhöhte Mortalität anzusehen ist [26, 27].

Das CRP und die Leukozytenzahl dienen der Einschätzung des Ausmaßes der inflammatorischen Reaktion. Ein erhöhtes CRP bei Patienten mit STEMI ist mit einer erhöhten Komplikationsrate hinsichtlich der Mortalität, dem Risiko eines Reinfarktes, dem Auftreten einer Herzinsuffizienz und dem Auftreten einer instabiler AP assoziiert [28]. Die Inflammationsmarker CRP und Leukozyten als auch das kardiale Troponin sind im STEMI mit einem größeren Infarktareal und einer geringeren LV-EF assoziiert. Im Rahmen einer gesteigerten inflammatorischen Reaktion nach einem STEMI zeigt sich zusätzlich mehr MVO [29].

1.3 Antwort des angeborenen Immunsystems auf einen akuten ST-Elevations-Myokardinfarkt

1.3.1 Allgemeine Immunantwort

In Folge eines Myokardinfarktes kommt es zum Untergang des Myokardgewebes und einer Aktivierung des Immunsystems. Innerhalb des menschlichen Immunsystems unterscheidet man das angeborene vom erworbenen Immunsystem und folgend die angeborene von der erworbenen Immunantwort. Das angeborene Immunsystem ist von Geburt an vorhanden und umfasst Zellen wie eosinophile, basophile und neutrophile Granulozyten, außerdem antigenpräsentierende Zellen wie dendritische Zellen, natürliche Killerzellen sowie monozytäre Zellen, wie Makrophagen und Monozyten. Zu den Zellen des erworbenen Immunsystems werden B-Lymphozyten und T-Lymphozyten gezählt. Neutrophile Granulozyten stellen mit ca. 60% den größten Anteil der im Blut zirkulierenden Immunzellen dar, auf Lymphozyten entfällt ein Anteil von ca. 30%, auf Monozyten ca. 6%. Eosinophile Granulozyten machen mit ca. 3% und basophile Granulozyten mit ca. 1% nur einen vergleichsweise kleinen Anteil der Leukozytenpopulation aus [30]. Nach einem Myokardinfarkt werden durch die absterbenden Myokardzellen Zytokine und Chemokine freigesetzt und intrazelluläre Bestandteile auf Zelloberfläche präsentiert. Dadurch werden Leukozyten angelockt und aktiviert [31]. Die Bestandteile der nekrotischen Zellen werden vom angeborenen Immunsystem als Signale für eine Entzündungsreaktion erkannt. Durch die Bindung an Rezeptoren auf der Leukozytenoberfläche wird die Entzündungsreaktion ausgelöst [32, 33]. Neben diesen rezeptor-abhängigen Signalwegen spielt auch die Komplementkaskade sowie Reaktive-Sauerstoff-Spezies eine relevante Rolle in der Aktivierung und der Fortsetzung der Entzündungsreaktion [34].

Als Teil der Reaktion auf eine Ischämie werden neben Immunzellen auch Endothelzellen aktiviert. Aktivierte Endothelzellen setzen ebenfalls Zytokine und Chemokine frei. Die kumulative Freisetzung von Chemokinen und Zytokinen führt zur Ausbildung eines Konzentrationsgradienten, dem die Immunzellen folgen und so gezielt zum infarzierten Myokard geführt werden. Gleichzeitig steigert eine Schädigung der Endothelzellen die Endothelpermeabilität und erleichtert so die Einwanderung von Leukozyten ins Gewebe [35]. Durch Adhäsionsmoleküle wie Selektine auf der Endotheloberfläche wird zunächst eine lockere Anhaftung der Leukozyten an das aktivierte Endothel vermittelt. Für eine stabilere Adhäsion erfolgt die Interaktion zwischen den Integrinen der Leukozyten mit den zugehörigen Rezeptoren auf aktivierten Endothelzellen. Anschließend wandern die anhaftenden Leukozyten in das infarzierte Gewebe ein und beseitigen nekrotische Zellen [36]. Daran schließt sich eine reparative Phase an, in welcher antiinflammatorische Mediatoren freigesetzt werden, die die Entzündungsreaktion limitieren. Darauf folgt die Proliferation von Myofibroblasten, Fibroblasten zur Neovaskularisation und so zur Narbenbildung [35].

1.3.2 Monozytäre Immunantwort im akuten ST-Elevations-Myokardinfarkt

Monozyten spielen nicht nur in der Entstehung der Atherosklerose, sondern auch in einem Akutereignis wie dem akuten Myokardinfarkt eine entscheidende Rolle [37]. Monozyten und neutrophile Granulozyten wandern als erste Zellengruppen in das infarzierte Gewebe ein. Danach folgen Lymphozyten in einem etwas geringeren Ausmaß [38].

Im peripheren Blut zirkulierende Monozyten werden in der Durchflusszytometrie, im Englischen *fluorescence activated cell sorting* (FACS), anhand ihrer charakteristischen Größe und Granularität identifiziert und lassen sich über die Expression der spezifischen Oberflächenantigene CD14 und CD16 in drei Subpopulationen unterscheiden: *classical monocyte* (CD14⁺⁺, CD16⁻), *intermediate monocytes* (CD14⁺⁺CD16⁺) und *non-classical monocytes* (CD14⁻,CD16⁺⁺) [39]. Die weitere Nomenklatur der Monozyten folgt den englischen Begriffen, um eine Kontinuität zur internationalen Literatur zu erhalten. *Classical monocytes* stellen im humanen Blut mit ca. 85% den größten Anteil. Der Anteil der *intermediate monocytes* liegt bei 5-10% ,der Anteil der *non-classical monocytes* bei ca. 5-10% [40].

Aus ihrem Reservoir im Knochenmark und der Milz gelangen Monozyten nach einem Myokardinfarkt über das zirkulierende Blut, wie in Abschnitt 1.3.1 beschrieben, zum infarzierten Myokard [41, 42]. Abhängig von Chemokinen werden die Monozyten-Subpopulationen in den infarzierten Bereich rekrutiert [43, 44]. Relevant sind hierbei das Chemokin CCL2, auch als MCP1 bezeichnet, und sein zugehöriger Rezeptor CCR2 für *classical monocytes* und das als Chemokin wirkende Fraktalkin CX3CL1 und der zugehörige Rezeptor CX3CR1 auf *non-classical monocytes* [37]. Die Funktionen der einzelnen Monozyten-Subpopulationen unterscheiden sich. Monozyten mit einem eher proinflammatorischen Phänotyp werden im menschlichen Organismus *classical monocytes* und im Mausmodell *Ly-6C high monocytes* genannt [43]. Diese wandern als erste Population in das infarzierte Areal ein. Dort beseitigen sie nekrotisches Gewebe durch Phagozytose und Proteolyse und setzen proinflammatorische Zytokine wie z.B. TNF-alpha frei. Nach mehreren Tagen wandern Monozyten mit einem eher antiinflammatorischen Phänotyp in das infarzierte Areal ein. Im menschlichen Organismus sind dies die *non-classical monocytes*, die den *Ly-6C low monocytes* im Mausmodell entsprechen. Diese begrenzen durch ihre antiinflammatorische Funktion die Entzündungsreaktion und nehmen Einfluss auf Remodeling, Angiogenese, Kollagenablagerung und die Myofibroblastenaktivität. [44].

Die Monozyten-Subpopulationen im Mausmodell lassen sich nicht exakt auf den Menschen übertragen, da sich die Charakteristika und Oberflächenantigene dieser beiden Spezies unterscheiden. Für die Gruppe der *intermediate monocytes* bei Menschen gibt es im Mausmodell bisher kein Äquivalent und auch deren Funktion ist weitgehend unbekannt. Zudem berücksichtigen viele Arbeiten in der Literatur *intermediate monocytes* nicht als eigene Zellpopulation. Aufgrund der bisher unklaren Funktion ist die weitere Charakterisierung dieser Subpopulation von großem Interesse für das Verständnis der Funktion der Monozyten im Myokardinfarkt [43].

Für die Prognose nach einem Herzinfarkt scheint die Verteilung der rekrutierten Monozyten-Subpopulationen eine klinisch relevante Rolle zu spielen. So ein hoher Anteil an *classical monocytes* und somit eine erhöhte proinflammatorische Antwort mit einer schlechteren LVF, mit einem größeren Infarktgebiet und mit einem höheren Anteil an

MVO einher [45, 46]. Eine Erhöhung der *intermediate monocytes*, gemessen einen Tag nach einem erlittenen Myokardinfarkt, korreliert ebenso mit einer reduzierten LVF, dem Auftreten eines Reinfarktes, eines Schlaganfalls oder einer Herzinsuffizienz [47, 48]. Ein erhöhter Anteil der *non-classical monocytes* hingegen scheint zu einer besseren Prognose hinsichtlich der LVF zu führen [46].

1.3.3 Interaktion zwischen Monozyten und Thrombozyten und Formierung von Monozyten-Thrombozyten-Aggregaten im akuten ST-Elevationsmyokardinfarkt

Ursächlich für die Entstehung eines Thrombus in einem akuten Myokardinfarkt ist die Thrombozytenaggregation. Thrombozyten sind aufgrund ihrer Aggregation nicht nur für die Entstehung eines Thrombus in einem akuten Myokardinfarkt relevant, sondern spielen auch in der Aktivierung des Immunsystems eine Schlüsselrolle. Wenn Plaques atherosklerotischer Läsionen aufreißen, werden subendotheliales Kollagen und andere extrazelluläre Matrixproteine freigelegt. Über den von-Willebrand-Faktor wird eine Bindung zwischen Kollagen und der Thrombozytenoberfläche hergestellt [49]. Dies führt zu einer Aktivierung und so zu einer Konformationsänderung der Thrombozyten sowie zu der Entleerung von Granula aus dem Inneren der Thrombozyten [50]. Die freigesetzten Substanzen wie ADP, Thromboxan A₂, Thrombin, Epinephrin und Serotonin aktivieren weitere Thrombozyten. Durch die Quervernetzung von aktivierten Thrombozyten über den GPIIb/IIIa-Rezeptor und Fibrinogen entsteht ein Thrombus [51]. Neben den Thrombozyten spielen auch Gerinnungsfaktoren eine Rolle in der Entstehung und Aufrechterhaltung eines Thrombus [52]. Dieser Thrombus verschließt das betroffene Gefäß der Koronararterien.

Neben der Aggregation spielen die Thrombozyten eine zentrale Rolle in der Aktivierung des Immunsystems und Rekrutierung der Monozyten. Nach ihrer Aktivierung kommt es zur Freisetzung proinflammatorische Mediatoren, die auf Endothelzellen einwirken. Dies fördert die Rolle der aktivierten Endothelzellen in der Adhäsion und Transmigration von Monozyten über Chemotaxis [53]. Um die Interaktion von Thrombozyten und Leukozyten als immunologisches Phänomen in kardiovaskulären Erkrankungen zu beschreiben, wird der Begriff Thromboinflammation genutzt [54, 55].

Thrombozyten können direkt mit Monozyten interagieren und bilden sogenannte Monozyten-Thrombozyten-Aggregate. In weiterer Folge wird zur einheitlichen Bezeichnung der aus dem Englischen und in der internationalen Literatur gebräuchliche Begriff *Monocyte-Platelet-Aggregates* (MPA) genutzt. Diese sind mittels Durchflusszytometrie und Fluoreszenzmikroskopie nachweisbar [56]. Als MPA werden im zirkulierenden Blut Komplexe identifiziert, die gleichzeitig Antigene von Thrombozyten und Monozyten präsentieren [57]. Hauptverantwortlich für die Aggregatbildung ist der Komplex aus P-Selektin und dem zugehörigen Liganden (PSGL-1). P-Selektin auf der Oberfläche von aktivierten Thrombozyten interagiert mit dem zugehörigen Ligand PSGL-1 auf der Oberfläche der Monozyten [58]. Durch diese Interaktion werden weitere Prozesse ausgelöst wie die Aktivierung von Integrinen und die Freisetzung von Zytokinen [59-61]. Mit der Interaktion über P-Selektin und PSGL-1 zwischen Thrombozyten und Monozyten steigen die adhaesiven Eigenschaften der Monozyten und deren Fähigkeit zur transendothelialen Migration [62]. Daneben sind weitere Oberflächenproteine wie CD40/CD40Ligand und MAC-1 in Diskussion. [56]

In den Fokus der klinischen Forschung rückt die MPA-Bildung, da kardiovaskuläre Erkrankungen wie die periphere arterielle Verschlusskrankheit, Stenosen der Arteria carotis, abdominelle Aortenaneurysmata und die KHK mit einer gesteigerten MPA-Bildung einher gehen [63]. Insbesondere nach einem akuten Myokardinfarkt zeigt sich die Menge an MPA im Blut im Vergleich zu Probanden ohne Myokardinfarkt erhöht [64, 65]. Ebenso zeigen sich MPA im Vergleich zu Patienten mit instabiler AP und Patienten mit Brustschmerz nicht kardialer Ursache erhöht [66]. Zudem wurde die Bildung von MPA als früher diagnostischer Parameter für einen akuten Myokardinfarkt oder als Parameter für eine erhöhte Thrombozytenaktivierung diskutiert [64, 65].

Eine aktuelle Arbeit von Starz et al. am Mausmodell stellt infrage, ob die primär P-Selektin vermittelte Interaktion zwischen Thrombozyten und Monozyten ursächlich für eine aggravierte Entzündungsreaktion nach einem Myokardinfarkt ist. Allerdings diskutieren die Autoren, ob eine Übertragbarkeit der Daten aus dem Mausmodell, auf das spezifische Krankheitsbild STEMI beim Menschen möglich und sinnvoll ist und weisen ausdrücklich auf die relevante Rolle von Monozyten und Thrombozyten in dem Prozess der Thromboinflammation hin [67]. MPA stellen also Bindeglied zwischen Thrombose und Inflammation ein interessantes und wichtiges Forschungsgebiet dar, welches weiterer Untersuchung bedarf.

Die Bildung von MPA unterscheidet sich in den ersten Tagen nach einem akuten Myokardinfarkt in den einzelnen Monozyten-Subpopulationen [47, 48]. Es gibt Hinweise, dass *classical monocytes* und *intermediate monocytes* eher dazu neigen Aggregate mit Thrombozyten einzugehen [48]. Wobei hierzu auch gegensätzliche Ansichten in einer Arbeit von Allen et al. zu finden sind die nahe legen, dass *non-classical monocytes* und *intermediate monocytes* mehr zur MPA-Bildung neigen als *classical monocytes* [63].

Zhou et al. konnten nachweisen, dass es einen Tag nach einem akuten Myokardinfarkt nicht nur zu einem Anstieg der *intermediate monocytes* sondern auch zu einem Anstieg der *intermediaten* MPA-Bildung kommt. Hohe *intermediate* MPA korrelieren ebenso wie die *intermediate monocytes* mit einer schlechteren Prognose hinsichtlich des Auftretens von Reinfarkten, Schlaganfällen und Herzinsuffizienz [47]. Nicht nur hinsichtlich der Langzeitprognose wirkt sich die vermehrte Bildung von MPA negativ aus. Auch im akuten Setting zeigen Probanden mit einem angiografisch nachweisbaren No-Reflow-Phänomen, als angiographisches Korrelat zu einer MVO, erhöhte MPA verglichen mit Probanden ohne ein No-Reflow-Phänomen [68].

Zusammenfassend zeigt sich, dass die Bildung von MPA ein wichtiger prognostischer Parameter nach akutem Myokardinfarkt ist und einen pathophysiologischen Einfluss auf Infarktgröße, *adverse cardiac remodeling* und kardiovaskuläre Ereignisse haben könnte. Der zeitliche Verlauf der MPA Bildung nach STEMI in Bezug auf die einzelnen Monozyten-Subpopulationen ist jedoch noch unzureichend untersucht. Zudem ist der Einfluss von MPA Subpopulationen auf Marker der myokardialen Schädigung (Infarktgröße, Mikrovaskuläre Obstruktion, LV-Funktion) und der systemischen Inflammation (Gesamtleukozytenzahl, CRP) im Indexaufenthalt nach STEMI weitgehend unbekannt.

Wir stellen die Hypothese auf, dass MPA Subpopulationen eine unterschiedliche Dynamik nach STEMI haben und eine subgruppenspezifische Assoziation zur myokardialen Schädigung aufweisen.

1.4 Ziel der Arbeit und Fragestellungen

1.4.1 Ziele der Arbeit

Ziele der vorliegenden Arbeit waren es, das Verhalten der MPA Bildung in den einzelnen Monozyten-Subpopulationen zu untersuchen und eine Verbindung zwischen MPA-Bildung, Inflammation und Infarktschwere zu finden. Daraus ließen sich folgende Fragestellungen ableiten.

- 1.4.1.1 Wie verhalten sich *Monocyte-Platelet-Aggregates* in den einzelnen Monozyten-Subpopulationen nach einem akuten STEMI?
- 1.4.1.2 Zeigen Patienten mit erhöhten MPA eine ausgeprägtere Entzündungsreaktion?
- 1.4.1.3 Gibt es einen Zusammenhang zwischen der Bildung von Monozyten-Thrombozyten-Aggregaten und der Infarktschwere?

2 Material und Methoden

2.1 Methoden

2.1.1 Patientenkollektiv und Studiendesign

Die gesamte Studie wurde in Übereinstimmung mit der Erklärung von Helsinki durchgeführt und von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf genehmigt. Für die Population der STEMI-Gruppe gilt das folgende Ethikvotum „Düsseldorfer STEMI Studie“ (Studennummer: 5961R, Registrierungs-ID: 2017044229). Um die Bildung von MPA nach Auftreten eines akuten STEMI zu untersuchen, wurden im Rahmen dieser Doktorarbeit 56 Patienten, mit einem akuten STEMI eingeschlossen. Dabei lag das mittlere Alter der Patienten bei 62,9 Jahren. Insgesamt schlossen wie 38 männliche Patienten und 18 weibliche Patientinnen in unsere Studie ein. Der Begriff Patienten wird im Folgenden generisch verwendet und schließt alle Geschlechter mit ein. Alle Patienten stellten sich mit einem akuten STEMI in der Universitätsklinik für Kardiologie, Angiologie und Pneumologie Düsseldorf (Direktor Prof. Dr. Malte Kelm) vor. Kriterien für den Einschluss der Patienten waren eine schriftliche Einwilligungserklärung sowie das Vorliegen eines akuten STEMI. Als Ausschlusskriterien galten Patienten mit einem *out-of-hospital cardiac arrest*, akuten Infektionserkrankungen, mit hämatologischen und malignen Grunderkrankungen sowie nicht einwilligungsfähige Patienten.

Als Kontrollgruppe wurden 27 Patienten mit einem chronischen Koronarsyndrom (CCS) über die Tagesklinik der Universitätsklinik für Kardiologie, Angiologie und Pneumologie Düsseldorf (Direktor Prof. Dr. Malte Kelm) rekrutiert. Auch die Untersuchungen der

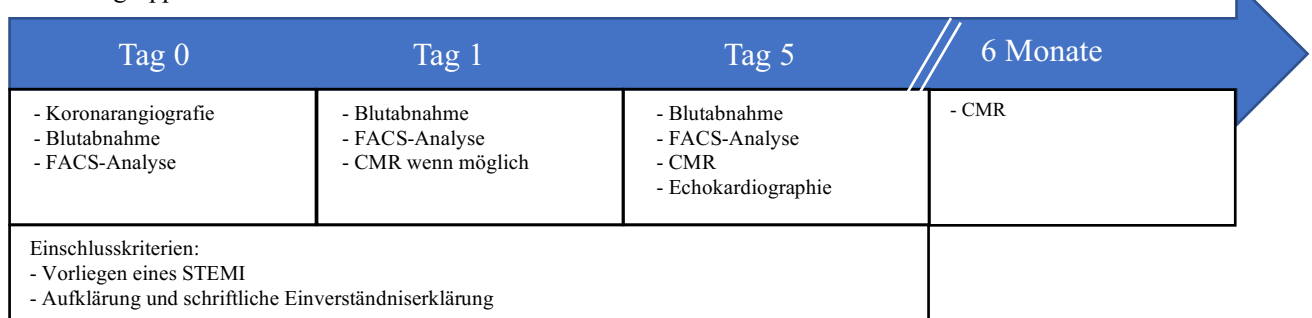
Kontrollgruppe wurden in Übereinstimmung mit der Erklärung von Helsinki durchgeführt und von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf genehmigt. Für die Kontrollgruppe der CCS-Patienten gilt das folgende Ethikvotum „Einfluss von Plättcheninhibition und effektiver Antikoagulation auf Plättchen-Leukozyten-Interaktionen“ (Studiennummer: 6029R, Registrierungs-ID: 2017064328). Dabei wurden insgesamt 21 männliche Patienten und 6 weibliche Patientinnen eingeschlossen. Das mittlere Alter der Kontrollgruppe lag bei 69,2 Jahren. Einschlusskriterien für die Kontrollgruppe waren eine angiographisch nachgewiesene koronare Herzkrankheit sowie eine schriftliche Einverständniserklärung. Als Ausschlusskriterien galten Patienten mit chronischen und akuten Infektionserkrankungen, hämatologischen und malignen Grunderkrankungen sowie nicht einwilligungsfähige Patienten.

2.1.2 Gewinnung von biologischem Material

Alle genutzten Blutproben wurden in BD-Vacutainer Lithium Heparin Röhrchen der Firma Becton, Dickinson and Company (BD), Franklin Lakes, USA abgenommen. Die Blutentnahmen erfolgten durch das Klinikpersonal unter möglichst standardisierten Bedingungen durch die Punktion einer peripheren Vene. Alle Blutproben wurden innerhalb von 2 Stunden weiterverarbeitet.

Die Blutentnahmen der STEMI-Patienten erfolgten zu den Zeitpunkten Tag 0, Tag 1 und Tag 5 nach einem STEMI. Die Blutentnahme an Tag 0 wurde vor der revaskularisierenden Therapie durch das Klinikpersonal des Herzkatheterlabors abgenommen. Die venösen Blutentnahmen an Tag 1 und Tag 5 erfolgten im Rahmen des stationären Aufenthaltes durch das Klinikpersonal. Die venösen Blutentnahmen der Kontrollgruppe wurde in der Tagesklinik der Klinik vor einer elektiv geplanten koronarangiografischen Kontrolluntersuchung abgenommen.

Studiengruppe STEMI n=56



Kontrollgruppe CCS n=27

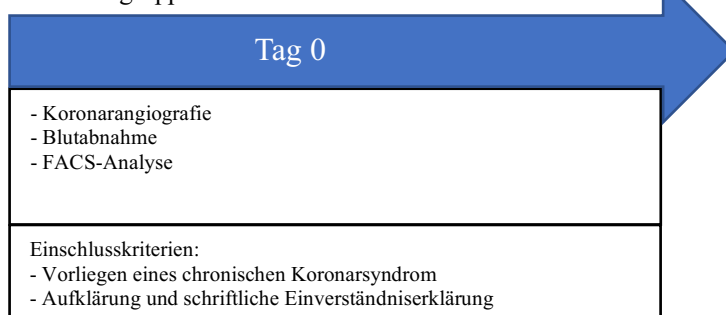


Abb. 1: Studienprotokoll

2.1.3 Leukozytenisolation

Wir isolierten Leukozyten aus dem abgenommenen Vollblut, indem wir mittels Ammonium-Chlorid-Potassium-Lysepuffer (ACK-Lysepuffer) die Erythrozyten entfernten. Hierzu wurden 200µl Vollblut in 5ml ACK-Lysepuffer in ein 15 ml Greiner Röhrchen pipettiert. Nach 15-minütiger Inkubation des Vollblutes in ACK-Lysepuffer wurden die Proben mit FACS-Puffer gewaschen. Um die intakten Leukozyten von den lysierten Erythrozyten-Bestandteilen zu trennen, wurden die Proben zentrifugiert. Alle Zentrifugationsschritte erfolgten mit den Einstellungen Relative centrifugal force (RCF) =500, für 7 Minuten bei 4° Celsius (500 RCF, 7min, 4°C). Nach dem Abnehmen des Überstandes wurde das Zellpellet erneut in 5 ml ACK-Lysepuffer resuspendiert. Diesen Lysevorgang wiederholten wir dreimal. Vor dem letzten Zentrifugationsschritt wurden die Zellen zur Vorbereitung auf die Zellviabilitätsfärbung mit Phosphat-buffered-saline (PBS) gewaschen. Die so isolierten Zellen wurden anschließend der Antikörperfärbung zugeführt. Sämtliche Inkubationsschritte fanden auf Eis statt.

2.1.4 Viabilitätsfeststellung

Zur Unterscheidung zwischen vitalen und toten Zellen wurde ein Amine-Reactive-viability-Dye (ViD) eingesetzt. Bei absterbenden und toten Zellen steigt die Permeabilität der Zellmembran, sodass der Farbstoff ins Zellinnere gelangt und intrazelluläre freie Amine im Zytoplasma anfärbt. Die Färbung von Aminen auf der Zelloberfläche von lebenden Zellen wird mit einem Waschschrift verhindert. So können tote Zellen durch die starke intrazelluläre Färbung gut von vitalen Zellen differenzier werden.

Der hier verwendete Farbstoff Zombie Dye Aqua (Biolegend, San Diego, USA) wurde bei Raumtemperatur in 100µl Dimethylsulfoxid gelöst und zur weiteren Verwendung bei -20°C gelagert. Nach dem letzten oben beschriebenen Lyseschritt und nach dem Abnehmen des Überstandes, wurde die isolierten Zellen mit dem Farbstoff Zombie Dye Aqua in einer Konzentration von 1:100 für 15 Minuten inkubiert. Anschließend erfolgte ein weiterer Waschschrift mit FACS-Puffer und anschließend eine Zentrifugation (500 RCF, 7min, 4°C).

2.1.5 Oberflächenfärbung

Zur Differenzierung der unterschiedlichen Leukozyten-Populationen, wurden die Zellen mit den Antikörpern CD3, CD19, CD56, CD62P, CD14, CD40, CD16, CD41a, und CD45 und den in Tabelle 1 angegebenen gekoppelten Farbstoffen gefärbt. Die Antikörper wurden wie in angegeben in den Konzentrationen 1:50 bis 1:100 angewandt. Nach dem Waschschrift und der Viabilitätsfärbung wurde das Zellpellet in 50µl FACS-Puffer resuspendiert. Anschließend wurde ein 50µl Antikörpergemisch hinzugegeben, sodass sich die Antikörperkonzentration wie in Tabelle 4 angegeben einstellte.

Die Zellen wurden für 15 Minuten UV-geschützt auf Eis inkubiert. Zur Entfernung ungebundener Antikörper, erfolgte ein letzter Waschschrift mit FACS-Puffer und anschließend eine Zentrifugation (500RCF, 7min, 4°C). Nach dem letzten Waschschrift wurde das Zellpellet zur durchflusszytometrischen Analyse in 200-300µl FACS-Puffer resuspendiert.

Tabelle 1: Antikörper Panel zur Färbung von Monozyten

Kanal	Panel Monozyten
FITC	CD3/CD19/CD56
PE	CD62P
PerCP-Cy5.5	CD14
PE-Cy7	CD40
APC	CD16
APC-Cy7	CD41a
V450	CD45
V500	Zombi Dye

2.1.6 Durchflusszytometrie

Alle durchflusszytometrischen Messungen wurden an einem BD FACSVerse Gerät (Becton, Dickinson and Company, Heidelberg, Deutschland) durchgeführt. Das eingesetzte FACSVerse Gerät verfügt über einen blauen Laser (Wellenlänge 488nm), einen roten Laser (Wellenlänge 640nm) und einen violetten Laser (Wellenlänge 405nm), sodass die Farben FITC, PE, PerCP-Cy5.5, PE-Cy7, APC, APC-Cy7 sowie V450 und V500 gemessen werden konnten.

2.1.6.1 Erstellen einer Kompensation

Damit die Farben der einzelnen Fluorochromen korrekt unterschieden werden können und es zu keiner Überlappung der Fluoreszenzen kommt, wurde eine Kompensation erstellt. Für die Erstellung der Kompensation wurden UltraComp eBeads, Compensation Beads (Invitrogen, Waltham, USA) verwendet. Da die eingesetzten Compensations Beads nicht an Antikörper mit einem rekombinanten FC-Teil des Antikörpers binden, wurden nicht die in Tabelle 1 dargestellten Antikörper genutzt. Stattdessen wurden folgende an die gleichen Fluorochrome gekoppelte Antikörper eingesetzt: BD FITC anti-mouse CD11b (clone M1/70), APC anti-mouse CD70 (clone FR70), BD PE anti-human CD14 (M5E2), Anti-mouse CD4 V500 (clone RM4-5), CD45 anti-human PE-Vio770 (clone 5B1), CD45 anti-human PerCP Vio700 (clone 5B1), CD45 anti-human APC Vio770 (clone 5B1) und CD45 anti-human VioBlue (clone 5B1). Ein Tropfen der UltraComp eBeads wurde mit 100µl PBS und 1µl Antikörper in einem 5ml FACS-Röhrchen vermischt und für 15 Sekunden mit einem Vortexmischer vermengt. Anschließend folgte eine UV geschützte Inkubation für 15 Minuten. Um die Compensation Beads von ungebundenem Antikörper zu befreien, erfolgte ein Waschschriff mit FACS-Puffer. Nach der Zentrifugation (500RCF, 7min, 4°C), wurde der Überstand abgenommen. Die Compensation Beads wurden anschließend in 200µl FACS-Puffer resuspendiert. Die Kompensationsmatrix wurde durch die Software FACSuite erstellt und in das Auswertungsprogramm importiert.

2.1.6.2 Gating Strategie:

Die Gating-Strategie dient dazu, die gesuchten Zellpopulationen eindeutig zu identifizieren und weiter nach ihren Oberflächenantigenen zu unterscheiden. Bei den einzelnen Proben der STEMI-Patienten, der CCS-Patienten sowie der gesunden Probanden wurden jeweils 100.000 Events aufgezeichnet. Die Auswertung erfolgte über das Programm FlowJo mit der Version 10.7.1. (Beckton, Dickinson and Company, Franklin Lakes, USA).

Hierzu wurden Monozyten durch ihre charakteristischen Eigenschaften (Größe, Granularität) im *Forward Scatter* sowie im *Sideward Scatter* identifiziert. Anschließend wurden doppelte Ereignisse, tote Zellen, sowie T-Lymphozyten, B-Lymphozyten und Natürliche Killerzellen mit den Oberflächenantigenen CD3, CD19, CD56 ausgeschlossen. Die Monozyten wurden dann anhand der Oberflächenantigene CD14 und CD16 in die Subpopulationen *classical monocytes* (CD14⁺⁺), *non-classical monocytes* (CD16⁺⁺) *intermediate monocytes* (CD14⁺⁺, CD16⁺) unterteilt. Ziel des Gatings war es zudem, den prozentualen Anteil der MPA in den jeweiligen Subpopulationen, darzustellen. Als Marker für MPA nutzten wir den Antikörper CD41a, der an den Komplex GPIIb/IIIa bindet. CD41a-positive Ereignisse aus der Monozytenpopulation wurden als MPA gewertet. Die ausführliche Gating-Strategie ist in Abbildung 2 dargestellt. Als einen weiteren einheitslosen Parameter nutzten wir die *Mean Fluorescence Intensity* (MFI). Anhand der Fluoreszenzintensität, kann abgeschätzt werden in welchem Ausmaß ein Antikörper in einer Zielpopulation vorhanden ist.

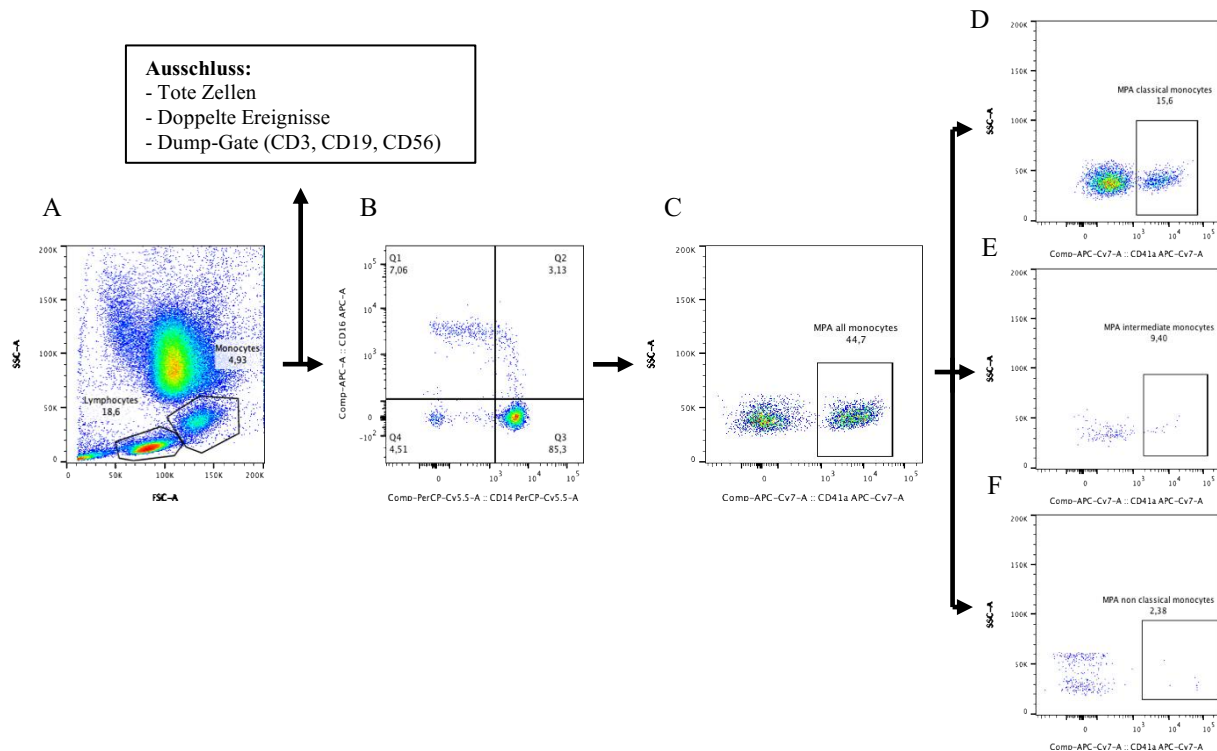


Abb. 2 Gating-Strategie *Monocyte-Platelet-Aggregates*

Dargestellt wird hier die Gating-Strategie zur Identifizierung von *Monocyte-Platelet-Aggregates* (MPA). A: Monozyten werden in *Forward scatter* und *Sidward scatter* anhand ihrer spezifischen Größe und Granularität identifiziert. Tote Zellen, doppelte Ereignisse sowie Zellen mit den Antigenen CD3, CD19 und CD56 wurden exkludiert. B: Monozyten werden anhand der Oberflächenantigene CD14 und CD16 in die Gruppen *classical monocytes* (CD14⁺⁺, CD16⁻), *intermediate monocytes* (CD14⁺, CD16⁺) und *non-classical monocytes* (CD14⁻, CD16⁺⁺) eingeteilt. C: Monozyten mit einem positiven Ereignis für CD41a werden als MPA identifiziert. D: MPA *classical monocytes*, E: MPA *intermediate monocytes* F: MPA *non-classical monocytes*.

2.1.7 Cardio-Magnetresonanztomographie, Infarktgröße und Mikrovaskuläre Obstruktion

Um die Schwere des Myokardinfarktes zu klassifizieren, wurde bei den Patienten nach einem STEMI eine CMR durchgeführt. Diese findet im Rahmen der Düsseldorfer STEMI-Studie standardmäßig an Tag 5 sowie 6 Monate nach STEMI statt. Die Auswertung erfolgte durch einen Arzt der Universitätsklinik für Kardiologie, Angiologie und Pneumologie Düsseldorf. Neben den funktionellen Parameter LV-EF, LV-EDV, LV-ESV und LV-SV wurde durch das LGE die Infarktgröße als Parameter der Schwere eines Myokardinfarktes sowie das Auftreten einer MVO bestimmt.

Die Infarktgröße wurde nach der Gabe des Kontrastmittels Gadolinium in einer T1-Sequenz über das LGE bestimmt. In dem zerstörten Myokardgewebe verbleibt das Kontrastmittel Gadolinium durch eine verringerte Auswaschrates länger im infarzierten Gewebe und lässt sich somit von gesundem Myokard abgrenzen. In der Auswertung wird anschließend der prozentuale Volumenanteil des infarzierten Myokards als LGE% angegeben. Als MVO ist ein hypointenses Areal innerhalb des durch Gadolinium angereicherten Infarktbereich definiert [19].

2.1.8 Statistik

Alle Analysen wurden mit dem Programm Prism (GraphPad Software, San Diego, USA) durchgeführt. Eine Normalverteilung der Daten wurde mit Hilfe des Shapiro-Wilk-Test überprüft. Für normalverteilte Daten und den Vergleich zweier Gruppen verwendeten wir den ungepaarten T-test, für nicht normalverteilte Daten den *Mann-Whitney-U Test*. Die statistische Analyse bei drei oder mehr Variablen erfolgte bei normalverteilten Daten durch eine Varianzanalyse (ANOVA) und einen *Tukey's multiple comparison test*. Bei nicht normalverteilten Daten erfolgte die Analyse mit dem Kruskal-Wallis-Test und einem anschließenden *Dunn-Multiple comparison test* durchgeführt. Korrelationen wurden mit einer simplen linearen Regression erstellt. Für nicht parametrische Daten führten wir eine Spearman-Korrelation durch. Ein P-Wert <0,05 definierte das statistische Signifikanzniveau.

2.2 Material:

2.2.1 Geräte und Software

Tabelle 2: Auflistung der genutzten Geräte und der genutzen Computerprogramme

BD FACSVers	Becton, Dickinson and Company, Heidelberg, Deutschland
Rotina 38 R	Hettich, Tuttlingen, Deutschland
Eppendorf Centrifuge 5810 R	Eppendorf, Hamburg Deutschland
IKA MS1 Minishaker	IKA, Staufen im Breisgau, Deutschland
Pipetten 10µl, 50µl, 100µl, 200µl, 1000µl, 2000µl	Eppendorf, Hamburg, Deutschland
FlowJo 10.7.1	Becton Dickinson Company, Franklin Lakes, USA
GraphPad Prism 8.1.3	GraphPad Software, San Diego, USA
Medico	

2.2.2 Labormaterialien

Tabelle 3: Auflistung der genutzten Chemikalien und Labormaterialien

Chemikalien und Lösungen:	
Dulbecco's Phosphate Buffer Saline	Sigma-Aldrich Chemie, Steinheim, Deutschland
Bovine Calf Serum	SAFC, Buchs, Schweiz
BD FACS Flow	Becton, Dickinson and Company, BD Bioscience, San Jose, USA
Lyse-Puffer pH 7,4 (isotone Ammoniumchlorid-Lösung)	Universitätsklinikum Düsseldorf Zentralapotheke
EDTA	Chemikalienliste
Labormaterialien:	
15 ml Cellstar Polypropylen Röhrchen	Greiner bio one, Kremsmünster, Österreich
Tube 5ml	Sarstedt AG & Co.KG, Nürmbrecht, Deutschland
Safelock-Tubes 2.ml, amber	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland
TipOne, Pipettenspitzen	Starlab international GmbH., Hamburg, Deutschland
Sonstige Materialien:	
BD FACSuite CS&T Research Beads	Becton, Dickinson and Company, BD Bioscience, San Jose, USA
BD Vacutainer LH PST	Becton, Dickinson and Company, BD Bioscience, San Jose, USA
BD Vacutainer, Safety-Lok	Becton, Dickinson and Company, BD Bioscience, San Jose, USA
Zombi Dye Aqua	BioLegend, San Diego, USA
UltraComp eBeads, compensation beads	Invitrogen, Waltham, USA

2.2.3 Chemikalien

FACS-Puffer:

500ml PBS

10 ml FCS

292mg EDTA

2.2.4 Antikörper

Tabelle 4: Auflistung der genutzten Antikörper

Antigen	Fluorochrom	Clone	Spezies	Hersteller	Konzentration
CD3	FITC	REA613	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD4	V500	RM4-5	mouse	Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA	1:100
CD11b	FITC	M1/70	mouse	Becton Dickinson, Franklin Lakes, USA	1:100
CD14	PerCP-Vio700	REA599	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD14	PE	M5E2	human	BD, Franklin Lakes, USA	1:100
CD16	APC	REA423	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD19	FITC	REA675	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD40	PE-Vio770	REA733	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD41a	APC-Vio770	REA386	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:50
CD45	VioBlue	REA747	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD45	PerCP-Vio700	REA747	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD45	PerCP-Vio700	5B1	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD45	PE-Vio770	5B1	Human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD45	APC-Vio770	5B1	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD45	VioBlue	5B1	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD56	FITC	REA196	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:100
CD62P	PE	REA389	human	Miltenyi Biotec, Bergisch Gladbach, Deutschland	1:50
CD70	APC	FR70	mouse	BioLegend, San Diego USA	1:100

3 Ergebnisse:

3.1 Studienpopulation

Ausgewertet wurden die Untersuchungen an 56 Patienten nach Auftreten eines akuten STEMI sowie eine Kontrollgruppe bestehend aus 27 Patienten mit CCS.

In der STEMI Gruppe waren 68% der Patienten männlich, in der Gruppe der Patienten mit einem CCS lag der Anteil der männlichen Probanden bei 78%. Die Gruppe der STEMI-Patienten war mit einem durchschnittlichen Alter von 63 Jahren jünger als die Gruppe der Patienten der Gruppe mit einem CCS, die ein durchschnittliches Alter von 69 Jahren aufwies. In beiden Gruppen zeigte sich ein altersentsprechend normwertiges

Gesamtcholesterin. In ihrem kardiovaskulären Risikoprofil ähnelten sich die beiden Gruppen. Das LDL-Cholesterin (STEMI: $109 \pm 38,3 \text{ mg/dl}$, CCS: $112,8 \pm 45,9 \text{ mg/dl}$) und der Bodymaß-Index (STEMI: $26,4 \pm 4 \text{ kg/m}^2$, CCS: $28,5 \pm 5 \text{ kg/m}^2$) waren in beiden Gruppen im Vergleich zum Normwert erhöht. Beim initialen Hämoglobinwert sowie bei der initialen Glomerulären Filtrationsrate gab es in den beiden unterschiedenen Gruppen keine Abweichung vom Normwert. Zwischen der Gruppe der Patienten mit einem STEMI und der Gruppe der Patienten mit einem CCS zeigten sich beim Vergleich des Body-Maß-Index (BMI), des Gesamtcholesterins, des LDL-Cholesterins, dem initialen Hämoglobin-Wert und der initialen Glomerulären Filtrationsrate keine signifikanten Unterschiede.

Die Parameter, wie Troponin, CK, CRP und Leukozyten, die im Rahmen der Infarktdiagnostik abgenommen wurden und eine Aussage über die Infarktschwere zulassen, waren innerhalb der STEMI-Gruppe teils sehr variabel. Dies spiegelte sich durch die große Standardabweichung wider. Für die Parameter hsTnT, CK, Creatine-Kinase muscle brain type, CRP und Leukozyten wurde jeweils der Maximalwert im Rahmen des Krankenhausaufenthaltes zur Analyse genutzt. Das Maximum des hsTnT lag im Mittel bei $5252,4 \pm 7431,2 \text{ ng/l}$ und das Maximum der CK bei $1501,9 \pm 1578 \text{ ng/l}$. Die STEMI-Patienten zeigten insgesamt erhöhte Inflammationsparameter mit einem CRP von $7,3 \text{ mg/dl} \pm 8,1 \text{ mg/dl}$ und einer Leukozytenzahl von $15,4 \times 1000 \pm 4,5 \times 1000 / \mu\text{l}$ im Vergleich zum Normwert.

Zur Einschätzung des kardiovaskulären Risikos wurden Risikofaktoren wie positive Familienanamnese, arterielle Hypertonie, Nikotinabusus und Diabetes mellitus (DM) erhoben. Als häufigster Risikofaktor lag bei 35 (63%) der STEMI-Patienten ein arterieller Hypertonus vor. Bei 31 (55%) STEMI-Patienten wurde anamnestisch ein Nikotinabusus festgestellt. Zudem zeigten 10 STEMI-Patienten (18%) eine positive Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen. Bei 15 STEMI-Patienten (27%) lag ein Diabetes Mellitus vor, wobei 14 Patienten an DM Typ 2 und 1 Patient an DM Typ 1 erkrankt war.

Zur morphologischen Beurteilung des Myokardgewebes konnte bei 35 STEMI-Patienten (62,5%) ein CMR durchgeführt werden. Die häufigsten Gründe für das Ablehnen eines CMR waren Übergewicht, Klaustrophobie oder andere persönliche Gründe. Dabei zeigten 15 STEMI-Patienten, und somit mit 42% der untersuchten Patienten eine MVO im CMR. Die durchschnittliche Infarktgröße lag im CMR bei $18,9 \pm 13,7\%$ des Myokards im LGE. Die durchschnittliche LV-EF der STEMI-Patienten in der akuten Phase lag bei $51,7 \pm 9,5\%$ und nach 6 Monaten bei $55,2 \pm 12,0\%$, das LV-EDV lag in der akuten Phase bei $116,5 \pm 31,9 \text{ ml}$ und nach 6 Monaten bei $172,8 \pm 57,6 \text{ ml}$, das LV-ESV in der akuten Phase bei einem Mittelwert von $79,6 \pm 27,7 \text{ ml}$ und nach 6 Monaten bei $82,6 \pm 56,2 \text{ ml}$ und das linksventrikuläre Schlagvolumen (LV-SV) in der akuten Phase bei einem Mittelwert von $81,7 \pm 14,8 \text{ ml}$ und nach 6 Monaten bei $90,2 \pm 18,4 \text{ ml}$. Alle funktionellen Parameter wurden ebenso wie die Infarktgröße und das MVO mittels CMR erhoben.

STEMI-Patienten erhielten eine Koronarangiographie. Hier zeigte sich, dass bei 23 (41%) der STEMI -Probanden der Ramus interventricularis anterior des linken Hauptastes betroffen war. Als zweithäufigstes betroffenes Koronargefäß wurde die rechte Koronararterie bei 18 (31%) STEMI-Patienten identifiziert. Obwohl insgesamt eine n-Zahl von 56 in der Gruppe der STEMI-Patienten erreicht werden konnte, standen uns nicht alle der eingeschlossenen Parameter zur Verfügung. Gründe für die unvollständige Datenerhebung waren unter anderem ein Ausfall des IT-System des Universitätsklinikum Düsseldorf im September 2020, vorzeitige Entlassungen gegen ärztlichen Rat und interne Kommunikationsfehler.

Tabelle 5: Patientencharakteristik

	STEMI (n=56)	CCS (n=27)	
	MW±SD	MW±SD	p-Wert
Allgemein			
Geschlecht			
Männlich	38 (67,9%)	21 (77,8%)	
Weiblich	18 (32,1%)	6 (22,2%)	
Alter	62,9±13,2	69,2±9,4	p=0,02
Body-Maß-Index [kg/m ²]	26,4±4	28,2±5	p=n.s.
Cholesterol [mg/dl]	170,3±41,8	186,5±48,8	p=n.s.
LDL-Cholesterin [mg/dl]	109±38,3	112,8±45,9	p=n.s.
Initialer Hämoglobinwert [g/dl]	14±1,4	13,3±1,5	p=n.s.
Initiale Glomerulärefiltrationsrate [ml/min]	79±24,6	71,2±19,5	p=n.s.
Leukozyten max. [x1000/μl]	15,4±4,5	7,4±1,2	p<0,0001
Thrombozyten [x1000/μl]	227,5±73,2	n.a.	
C-reaktives Protein max [mg/dl]	7,3±8,1	0,3±0,3	p<0,0001
Troponin Ths max. [ng/l]	5252,4±7431,2	n.a.	
Creatin-Kinase max. [U/l]	1501,9±1578	n.a.	
Creatin-Kinase-MB [U/l]	178,7±168,8	n.a.	
Kardiovaskuläres Risiko			
Positive Familienanamnese [%]	10 (17,9%)	5 (18,5%)	
Hypertension [%]	35 (62,5%)	21 (77,8%)	
Nikotin	31 (55,4%)	9 (33,3%)	
Diabetes mellitus			
Type 2	14 (25%)	7 (25,9%)	
Insulin	2	1	
Type 1	1	1	
Kardiovaskuläre Bildgebung			
Cardiale Magnetresonanztomographie	35 (62,5%)	n.a.	
Mikrovaskuläre Obstruktion	15 (42,9%)	n.a.	
Infarktgröße [%]	18,9 ±13,7	n.a.	
Funktionelle Parameter			
Linksventrikuläre Ejektionsfraktion akut [%]	51,7±9,5	n.a.	
Linksventrikuläre Ejektionsfraktion 6 Monate [%]	55,2±12,0		
Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen akut [ml]	161,5± 31,9	n.a.	
Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen 6 Monate [ml]	172,8±57,6		
Linksventrikuläres endsystolisches Volumen akut [ml]	79,6±27,7	n.a.	
Linksventrikuläres endsystolisches Volumen 6 Monate [ml]	82,6±56,2		
Linksventrikuläres Schlagvolumen akut [ml]	81,7±14,8	n.a.	
Linksventrikuläres Schlagvolumen 6 Monate [ml]	90,2±18,4		
Infarkt Lokalisation			
Rechte Koronararterie	18		
Ramus interventricularis anterior	23		
Ramus circumflexus	6		
Linker Hauptstamm	2		
Ramus marginalis	5		
Keine Information	2		

3.2 Zeitlicher Verlauf der Monozyten-Subpopulationen im akuten STEMI

Um die Dynamik der Monozyten nach einem STEMI zu untersuchen, verglichen wir die absoluten Zellzahlen und die prozentualen Anteile der einzelnen Monozyten-Subpopulationen im zeitlichen Verlauf an Tag 0 (d0), Tag 1 (d1) und Tag 5 (d5) nach akuten STEMI (siehe Abbildung 4).

Als größte Monozyten-Subpopulation identifizierten wir die *classical monocytes* gefolgt von den *non-classical monocytes* und der kleinsten Population, den *intermediate monocytes*. Die prozentualen Anteile der Mittelwerte der Monozyten-Subpopulation lagen, in den untersuchten Patienten-Gruppen, bei *classical monocytes* in einem Bereich von 78,5-85,1%, bei *intermediate monocytes* in einem Bereich von 3,0-6,1% und bei *non-classical monocytes* in einem Bereich von 6,2-11,3%. Die Mittelwerte der absoluten Zellzahlen der untersuchten Patienten-Gruppen lagen bei *classical monocytes* in einem Bereich von 303,5-487,8 cells/ μ l, bei *intermediate monocytes* in einem Bereich von 19,7-34,22 cells/ μ l, und bei *non-classical monocytes* in einem Bereich von 26,2-43,4 cells/ μ l.

Die Anzahl der *classical monocytes* zeigte an Tag 1 nach einem STEMI, verglichen mit der Gruppe der CCS-Patienten, eine signifikante Erhöhung (STEMI 1d: 394,9 $\pm$ 213,5cells/ μ l vs. CCS: 303,5 $\pm$ 141,3cells/ μ l, p=0,0388). In den prozentualen Anteilen konnten wir hingegen keinen Unterschied der *classical monocytes* an Tag 0 im Vergleich zu der Gruppe der CCS-Patienten nachweisen (STEMI 0d: 83,93 $\pm$ 6,93% vs. CCS: 78,52 $\pm$ 8,17%; p=0,0268). Zudem konnten wir einen nicht signifikanten Anstieg der absoluten Zellzahlen der *classical monocytes* von Tag 0 zu Tag 1 nach einem STEMI feststellen (STEMI 0d: 394,9 $\pm$ 213,5cells/ μ l vs. STEMI 1d: 487,8 $\pm$ 343,2 cells/ μ l; p>0,99).

Ein ähnliches Bild zeigte sich in der Gruppe der *intermediate monocytes*. *Intermediate monocytes* zeigten von Tag 0 zu Tag 1 nach einem STEMI als einzige Zellpopulation einen signifikanten Anstieg. Diesen Anstieg stellten wir sowohl in absoluten Zellzahlen (STEMI 0d: 19,9 $\pm$ 21,7 cells/ μ l vs. STEMI 1d: 34,2 $\pm$ 28,8 cells/ μ l; p=0,0005) als auch im prozentualen Anteil (STEMI 0d: 4,2 $\pm$ 2,8% vs. STEMI 1d: 6,1 $\pm$ 3,6%; p=0,0154) fest.

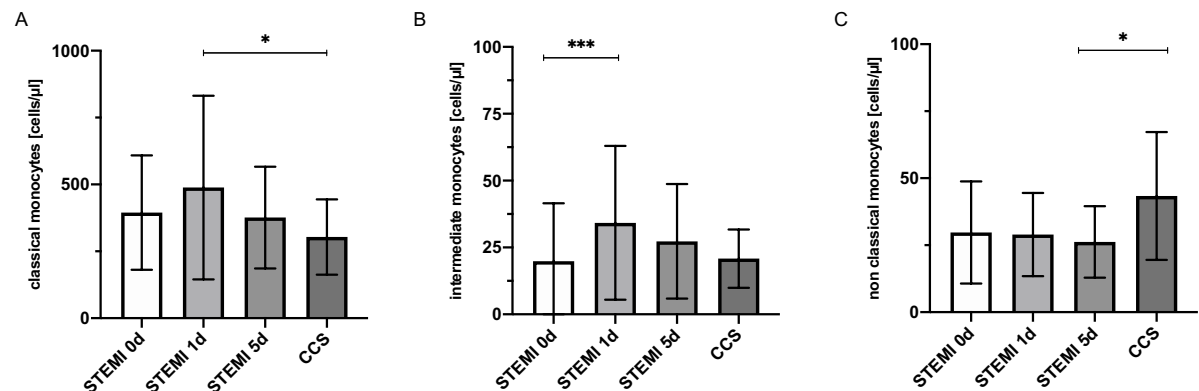
Auch an Tag 5 konnten wir eine signifikante Erhöhung des prozentualen Anteiles der *intermediate monocytes* verglichen zu Tag 0 zeigen (STEMI 5d: 5,8 $\pm$ 2,7% vs. STEMI 0d: 4,2 $\pm$ 2,8%, p=0,0184). In absoluten Zellzahlen konnten wir, trotz einer eindeutigen Tendenz, an Tag 5 nach einem STEMI keine signifikante Erhöhung der *intermediate monocytes* nachweisen (STEMI 5d: 27,31 $\pm$ 21,43cells/ μ l vs. STEMI 0d: 19,90 $\pm$ 21,66cells/ μ l; p=0,0563).

Während die *non-classical monocytes* zwischen Tag 0 bis 5 nach STEMI keine Dynamik präsentierten, zeigten die STEMI-Patienten verglichen mit der Gruppe der CCS-Patienten einen signifikant verringerten prozentualen Anteil an *non-classical monocytes* an den Zeitpunkten Tag 0 (STEMI 0d: 7,9 $\pm$ 5,8% vs. CCS: 11,3 $\pm$ 5,7%, p=0,0214) Tag 1 (STEMI 1d: 6,2 $\pm$ 4,1% vs. CCS: 11,3 $\pm$ 5,7%; p=0,0002) und Tag 5 (STEMI 5d: 6,7 $\pm$ 3,6% vs. CCS: 11,3 $\pm$ 5,7%; p=0,0059) nach STEMI.

Nur an Tag 5 nach STEMI konnten wir auch eine signifikant verringerte Anzahl an *non-classical monocytes* im Vergleich mit Patienten mit CCS messen (STEMI 5d: $26,2 \pm 13,3$ cells/ μ l vs. CCS: $43,4 \pm 23,8$ cells/ μ l, $p=0,0137$).

Zusammenfassend scheinen in den ersten 5 Tagen nach STEMI die eher proinflammatorischen Subpopulationen wie die *classical monocytes* sowie die *intermediate monocytes* anzusteigen, während die *non-classical monocytes* in den STEMI-Patienten im Vergleich zu den CCS-Patienten verringert sind. Dabei stellt sich die Population der *intermediate monocytes* als einzige Gruppe mit signifikanten Unterschieden innerhalb des STEMI-Patienten kollektiv in den Vordergrund.

Monozyten pro μ l: A-C



Prozentualer Anteil an Gesamtmonozytenzahl: D-E

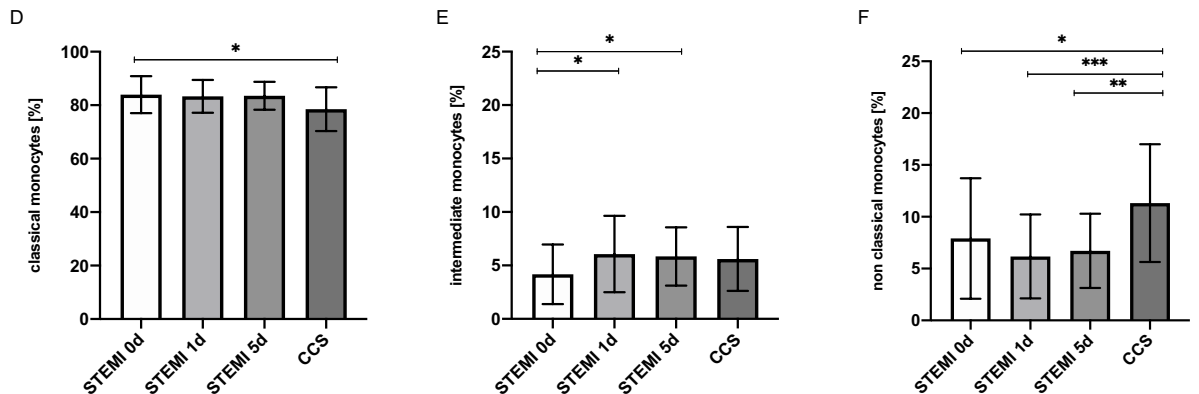


Abb. 3: Dynamik der Monozyten-Subpopulationen nach ST-Elevationsmyokardinfarkt

Dargestellt ist die Dynamik Monozyten-Subpopulationen *classical monocytes*, *intermediate monocytes* und *non-classical monocytes* der Patienten mit ST-Elevationsmyokardinfarkt (STEMI) an den Zeitpunkten Tag 0 (STEMI 0d) Tag 1 (STEMI 1d) Tag 5 (STEMI 5d) nach einem STEMI im Vergleich zu Patienten mit chronischem Coronarsyndrom (CCS) in absoluten Zellzahlen A-C und prozentualen Anteilen D-E. Abgebildet werden die Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, * p -Wert $\leq 0,05$; ** p -Wert $\leq 0,01$; *** p -Wert $\leq 0,001$.

3.3 Subgruppenspezifische Bildung von *Monocyte-Platelet-Aggregat*

Um die Unterschiede in der Bildung von MPA in den einzelnen Monozyten-Subpopulationen aufzuzeigen, untersuchten wir die prozentualen Anteile an MPA sowie die absolute Anzahl der MPA der jeweiligen Monozyten-Subpopulation an den Zeitpunkten Tag 0, Tag 1 und Tag 5 nach einem STEMI sowie die Bildung von MPA in der Gruppe der Patienten mit einem CCS (siehe Abbildung 5).

Classical und *intermediate monocytes* bildeten im Vergleich zu *non-classical monocytes* mehr MPA. Die Mittelwerte der prozentualen Anteile der *classical* MPA lagen in den untersuchten Gruppen in einem Bereich von 22,8-28,9%, bei den *intermediate* MPA in einem Bereich von 22,5-32% und in den *non-classical* MPA in einem Bereich von 1-2,5%. Als größte Monozyten-Population bildeten die *classical* monocytes den größten absoluten Anteil an MPA. Die absolute Anzahl der *classical* MPA lag in einem Bereich von 82,2-108,4 cells/ μ l, die absolute Anzahl der *intermediate* MPA in einem Bereich von 4,7-10,2 cells/ μ l und die absolute Anzahl an *non classical* MPA lag in einem Bereich von 0,4-0,6 cells/ μ l.

An Tag 1 nach STEMI wiesen wir einen nicht signifikanten Anstieg der Anzahl der *classical* MPA, im Vergleich zum Zeitpunkt Tag 0, nach (STEMI d1: 108,4 $\pm$ 78,2 cells/ μ l vs. STEMI d0: 84,1 $\pm$ 78,2 cells/ μ l; $p=0,5335$).

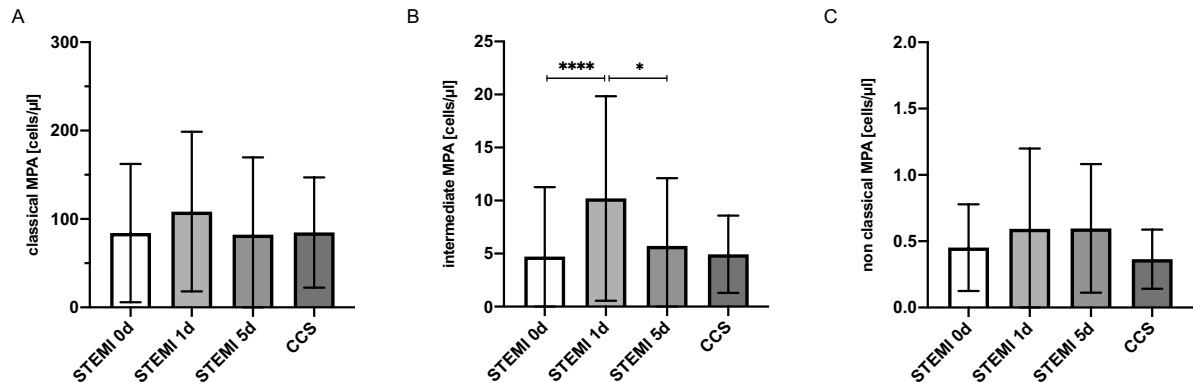
Intermediate monocytes zeigten einen deutlichen Anstieg der Anzahl der MPA an Tag 1. Diesen signifikanten Anstieg konnten an Tag 1 wir im Vergleich mit dem Zeitpunkt Tag 0 in den absoluten Zellzahlen (STEMI 1d: 10,2 $\pm$ 9,6 cells/ μ l vs. STEMI 0d: 4,7 $\pm$ 6,5 cells/ μ l; $p<0,0001$) als auch in den prozentualen Anteilen (STEMI 1d 32 $\pm$ 16,8% vs. STEMI 0d 22,5 $\pm$ 15,3%; $p=0,0436$) feststellen.

Auch im Vergleich mit dem Zeitpunkt Tag 5 ließ sich dieser Anstieg der *intermediate* MPA an Tag 1 in absoluten Zellzahlen nachweisen (STEMI 1d: 10,2 $\pm$ 9,6 cells/ μ l vs. STEMI 5d: 5,7 $\pm$ 6,3 cells/ μ l; $p=0,0205$).

Die Bildung der MPA der *non-classical monocytes* zeigte sich in der Tendenz an den Zeitpunkten Tag 1 und Tag 5 nach einem STEMI im Vergleich zu CCS Patienten erhöht (STEMI 1d 0,59 $\pm$ 0,61 cells/ μ l vs. CCS; 0,37 $\pm$ 0,22 cells/ μ l; $p>0,99$ STEMI 5d 0,6 $\pm$ 0,48 cells/ μ l vs. CCS; 0,37 $\pm$ 0,22 cells/ μ l; $p=0,78$). Allerdings präsentierten sich wie bereits erwähnt die absoluten Zellzahlen im Vergleich zu den anderen beiden Zellpopulationen in einem deutlich geringeren Ausmaß. Dennoch konnten wir eine Erhöhung des prozentualen Anteils der MPA der *non classical monocytes* an Tag 1 (STEMI 1d 2,36 $\pm$ 2,41% vs. CCS 1 $\pm$ 0,8%, $p=0,0431$) und Tag 5 (STEMI 5d: 2,4 $\pm$ 2,15% vs. CCS: 1 $\pm$ 0,8%; $p=0,0086$) verglichen mit den Patienten der Gruppe mit CCS messen.

Besonders auffällig war der Anstieg der *intermediate* MPA an Tag 1. Aufgrund der weiterhin unklaren Rolle stellte dieser Anstieg der *intermediate* MPA den Fokus der weiteren Auswertungen dar. Die Bildung der MPA der *non-classical monocytes* schien aufgrund der so geringen Anteile eine nachrangige Rolle zu spielen.

Monocyte-Platelet-Aggregates pro μl :A-C



Prozentualer Anteil der Monocyte-Platelet-Aggregates: D-F

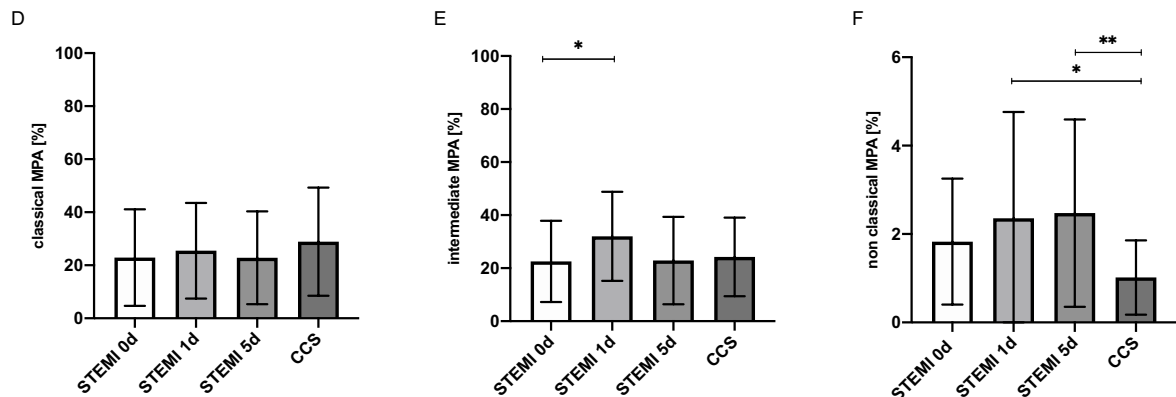


Abb. 4: Bildung von *Monocyte-Platelet-Aggregates* in den Monozyten-Subpopulationen nach ST-Elevationsmyokardinfarkt

Dargestellt ist die Bildung der *Monocyte-Platelet-Aggregates* (MPA) in den Monozyten-Subpopulationen der Patienten mit ST-Elevationsmyokardinfarkt (STEMI) an den Zeitpunkten Tag 0 (STEMI 0d) Tag 1 (STEMI 1d) und Tag 5 (STEMI 5d) nach einem STEMI im Vergleich zu Patienten mit einem chronischen Koronarsyndrom (CCS) in absoluten Zellzahlen A-C und prozentualen Anteilen D-F. Abgebildet werden die Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung, * p-Wert $\leq 0,05$; **p-Wert $\leq 0,01$; ***p-Wert $\leq 0,001$; ****p-Wert $\leq 0,0001$.

3.4 Assoziation von *Monocyte-Platelet-Aggregates* und Inflammation und der Infarktschwere

Als Parameter für das Ausmaß der Inflamationsreaktion nach einem STEMI nutzen wir das CRP sowie die maximale Leukozytenzahl. Für die weitere Analyse teilten wir die Patienten der STEMI-Gruppe nach der medianen Anzahl der *intermediate* MPA an Tag 1 in die Gruppen MPA *high* und MPA *low* ein (siehe Abbildung 6 und Abbildung 7). Dabei wurden alle Patienten mit einem Wert von $\geq 6,00$ cells/ μl der Gruppe MPA *high* und alle Patienten mit einem Wert von $< 6,00$ cells/ μl der Gruppe MPA *low* zugeordnet. Diese Zuteilung gilt für alle weiteren Analysen dieser Arbeit, in welchen die Gruppen MPA *high* und MPA *low* verglichen werden.

In der Spearman-Korrelation zwischen der Anzahl der *intermediate* MPA an Tag 1 und dem maximalen CRP-Wert der STEMI-Patienten zeigte sich eine statistisch signifikante positive Korrelation zwischen der *intermediate* MPA Anzahl und der Höhe des maximalen CRP Wertes ($r=0,6073$; $p<0,0001$).

In dem Vergleich der maximalen CRP Werte, zeigte die Gruppe *MPA high* signifikant erhöhte maximale CRP-Werte im Vergleich zu der Gruppe *MPA low* (*MPA high*: $11,4 \pm 9,0$ mg/dl vs. *MPA low*: $2,9 \pm 3,3$ mg/dl, $p < 0,0001$).

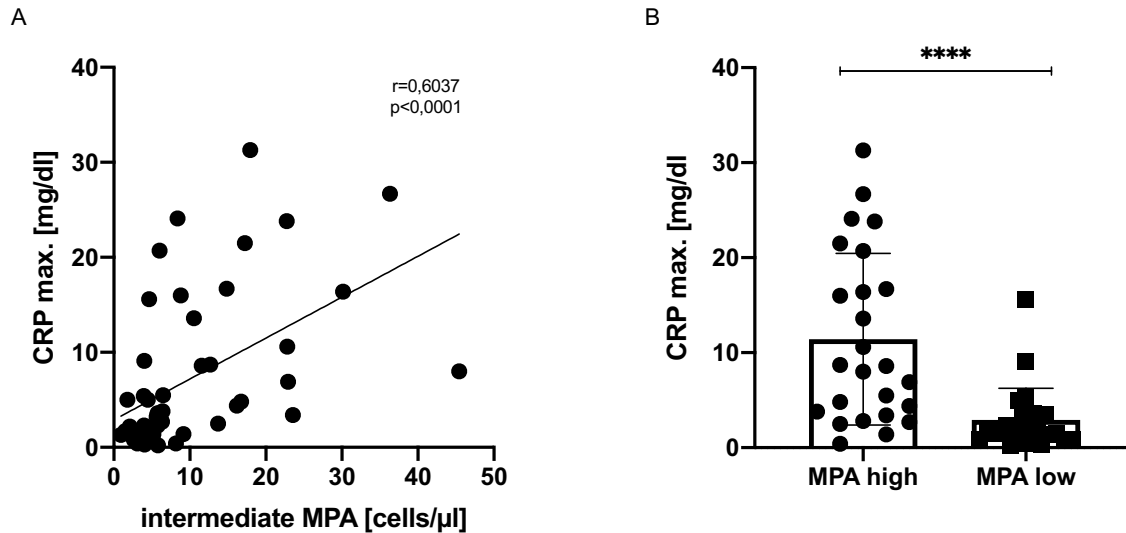


Abb. 5: Intermediate *Monocyte-Platelet-Aggregates* und C-reaktives Protein

A: Dargestellt ist die positive und statistisch signifikante Korrelation ($R=0,6073$) zwischen der Anzahl der *intermediate Monocytes-Platelet-Aggregates* (MPA) zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem erlittenen ST-Elevationsmyokardinfarkt (STEMI) und dem CRP-Maximum (CRP max.) im Verlauf des gesamten Krankenhausaufenthalts nach einem erlittenen STEMI. B: Gezeigt wird der Vergleich des CRP max. der beiden Gruppen *MPA high* (>6 cells/ μ l) und *MPA low* (<6 cells/ μ l), eingeteilt nach der Anzahl der *intermediate* MPA zum Zeitpunkt Tag 1 nach STEMI, mit einer statistisch signifikanten Erhöhung des CRP max. in der Gruppe *MPA high*. Abgebildet werden die Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung sowie die Einzeldatenpunkte, **** p -Wert $\leq 0,0001$.

In der Spearman- Korrelation zwischen der Anzahl der *intermediate* MPA an Tag 1 und dem Maximum der Leukozyten aus dem gesamten Krankenhausaufenthaltes nach einem STEMI zeigte sich keine statistisch signifikante Korrelation ($r=0,1810$; $p=0,2085$). Ergänzend konnte zwischen den beiden Gruppen *MPA high* und *MPA low* kein Unterschied der maximalen Leukozytenzahl gezeigt werden.

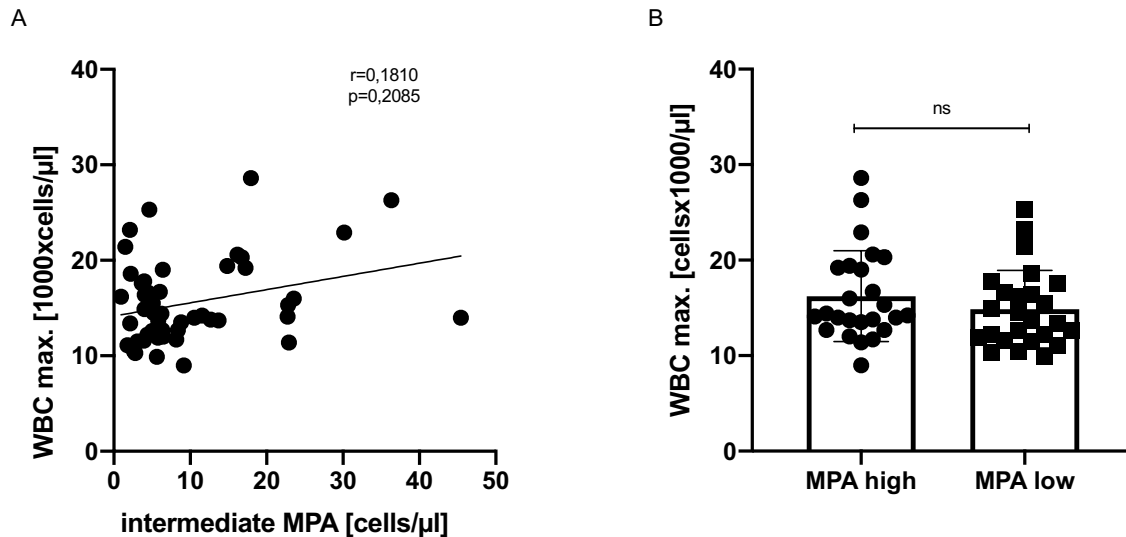


Abb. 6: *Intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates* und Leukozytenzahl

A: Dargestellt ist die nicht statistisch signifikante positive Korrelation zwischen *intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates* (MPA) zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem ST-Elevationsmyokardinfarkt (STEMI) und dem Maximum der Leukozyten (WBC max.) während des gesamten Krankenhausaufenthaltes nach einem STEMI. B: Gezeigt wird der Vergleich des WBC max. der beiden Gruppen MPA *high* (>6cells/μl) und MPA *low* (<6cells/μl), eingeteilt nach der Anzahl der *intermediate* MPA zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem STEMI, ohne einen statistisch signifikanten Unterschied. Abgebildet werden die Mittelwerte±Standardabweichung sowie die Einzeldatenpunkte.

3.5 Assoziation von *Monocyte-Platelet-Aggregates* und der Thrombozytenaktivierung

Über den Parameter MFI, welche durch die FACS-Analyse ermittelt wurde konnten wir eine Aussage über die Fluoreszenzintensität des Antigens CD62P gewinnen. Über CD62P wird P-Selektin identifiziert, welches sich auf aktivierten Thrombozyten befindet. So lässt die MFI von CD62P eine Aussage über die Aktivierung der in den gebildeten MPA gebundenen Thrombozyten zu.

Wir korrelierten die Anzahl der *intermediate* MPA an Tag 1 der STEMI-Patienten mit der MFI für das Antigen CD62P. In der durchgeführten Spearman-Korrelation zeigte sich keine Korrelation zwischen der MFI für CD62P und der *intermediate* MPA Anzahl an Tag 1.

Im Vergleich der Gruppen MPA *high* und MPA *low* konnten wir keinen signifikanten Unterschied in der MFI für CD62P messen. Anhand der MFI für CD62P ließ sich in unserem Versuchsaufbau keine erhöhte Thrombozytenaktivierung für die *intermediate* MPA an Tag 1 feststellen.

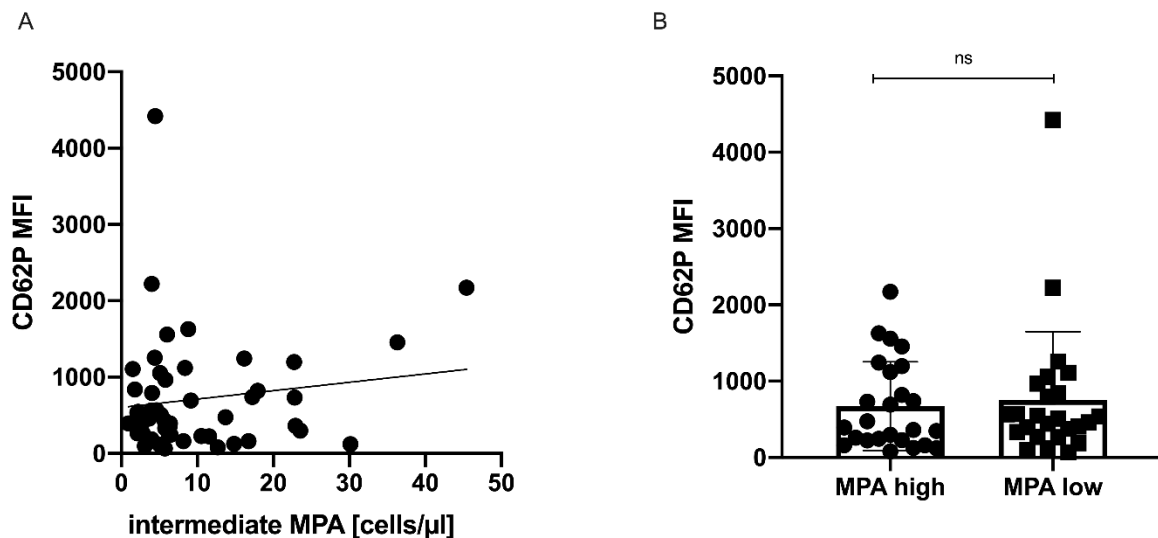


Abb. 7: Intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates und CD62P Mean Fluorescence Intensity

A: Dargestellt ist die nicht signifikante positive Korrelation der Anzahl der *intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates* (MPA) zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem erlittenen ST-Elevationsmyokardinfarkt (STEMI) und der *Mean Fluorescence Intensity* (MFI) für das Antigen CD62P. B: Gezeigt wird der Vergleich der MFI für CD62P der Gruppen MPA *high* (>6cells/μl) und MPA *low* (<6cells/μl), eingeteilt nach der Anzahl der *intermediate* MPA zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem STEMI ohne signifikanten Unterschied. Abgebildet werden die Mittelwerte±Standardabweichung sowie die Einzeldatenpunkte.

3.6 Assoziation von *Monocyte-Platelet-Aggregates* und Infarktschwere

3.6.1 *Monocyte-Platelet-Aggregates* und Creatin-Kinase

Als laborchemisches Korrelat für das Ausmaß der Myokardnekrose nach einem STEMI, nutzten wir die Parameter CK und Troponin.

Gleich wie in der oben beschriebenen Analyse erstellten wir eine Korrelation zwischen der Anzahl der *intermediate* MPA an Tag 1 und dem maximalen CK-Wert der STEMI-Patienten im Rahmen ihres Krankenhausaufenthaltes. Bei der durchgeführten Spearman-Korrelation zeigte sich eine statistisch signifikante positive Korrelation zwischen der *intermediate* MPA Anzahl an Tag 1 und der Höhe des maximalen CK-Wertes ($r=0,3188$; $p=0,0349$). Gemessen am Parameter CK lässt sich bei Probanden mit einer erhöhten Anzahl an *intermediate* MPA an Tag 1 nach einem STEMI ein größeres Ausmaß einer Myokardnekrose nachweisen.

Die Gruppe MPA *high* zeigte eine nicht signifikante Erhöhung des maximalen CK-Wertes (MPA *high*: 2268 ± 1873 U/l vs. MPA *low*: 1248 ± 1339 U/l; $p=0,0301$).

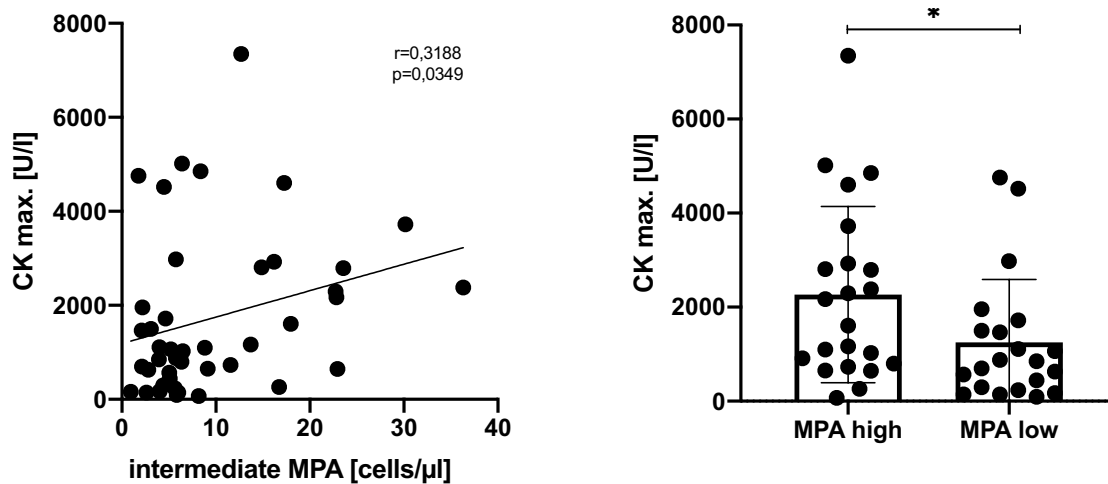


Abb. 8: Intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates und Creatin-Kinase

A: Dargestellt ist die statistisch signifikante ($r=0,3188$) und positive Korrelation zwischen *intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates* (MPA) zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem ST-Elevationsmyokardinfarkt (STEMI) und dem Maximum der Creatin-Kinase (CK max.) im Verlauf des gesamten Krankenhausaufenthaltes nach einem erlittenen STEMI. B: Gezeigt wird der Vergleich des CK max. der beiden Gruppen MPA *high* ($>6\text{ cells}/\mu\text{l}$) und MPA *low* ($<6\text{ cells}/\mu\text{l}$), eingeteilt nach der Anzahl der *intermediate* MPA zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem STEMI, mit einer statistisch signifikanten Erhöhung der CK max. in der Gruppe MPA *high*. Abgebildet werden die Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung sowie die Einzeldatenpunkte. *p-Wert $\leq 0,05$.

3.6.2 Monocyte-Platelet-Aggregates und Troponin

Wir korrelierten zudem das Maximum des hsTnT der STEMI-Patienten im Verlauf des Krankenhausaufenthaltes mit der *intermediate* MPA Bildung an Tag 1. Bei der durchgeführten Spearman-Korrelation des maximalen hsTnT und der Anzahl der *intermediate* MPA an Tag 1 stellten wir keine statistische Signifikanz fest ($r=0,277$; $p=0,0682$). Auch beim Vergleich der Gruppen MPA *high* und MPA *low* zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen bezüglich des Maximums des hsTnT-Wertes (MPA *high* $7733\pm 9919\text{ ng/l}$ vs. MPA *low* $3837\pm 5023\text{ ng/l}$; $p=0,0592$). Einen Zusammenhang zwischen dem Schweregrad des Myokardinfarktes und der Anzahl der *intermediate* MPA an Tag 1 nach STEMI konnten wir in unserer Analyse somit nicht nachweisen (siehe Abbildung 10).

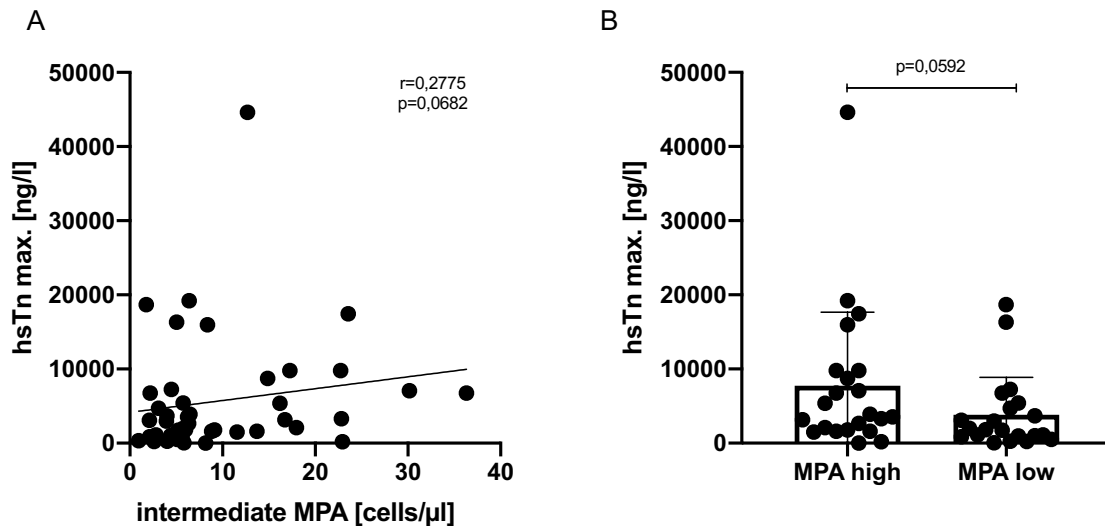


Abb. 9: *Intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates* und Troponin

A: Dargestellt ist die nicht statistisch signifikante Korrelation von *intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates* (MPA) zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem ST-Elevationsmyokardinfarkt (STEMI) und dem maximalen Troponin (hsTnT) im Verlauf des gesamten Krankenhausaufenthaltes. B: Gezeigt wird der Vergleich des hsTnT max. der beiden Gruppen MPA high und (>6cells/μl) und MPA low (<6cells/μl), eingeteilt nach der Anzahl der *intermediate* MPA zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem STEMI ohne statistisch signifikanten Unterschied. Abgebildet werden die Mittelwerte±Standardabweichung sowie die Einzeldatenpunkte.

3.6.3 *Monocyte-Platelet-Aggregates* und kardiale Funktion

Als funktionelle Parameter für die Herzfunktion bestimmten wir die Parameter LV-EF, das LV-EDV, das LV-ESV, sowie das LV-SV des linken Ventrikels. Diese wurden über eine CMR zum Akutzeitpunkt Tag 5 und 6 Monate nach STEMI generiert.

Dabei zeigte sich die LV-EF in der Gruppe MPA *high* im Vergleich zur Gruppe MPA *low* sowohl zum akuten Zeitpunkt als auch 6 Monate nach STEMI signifikant verringert (Akut: LV-EF in MPA *high*: $45,9,5 \pm 6,9\%$ vs. LV-EF in MPA *low*: $56,7 \pm 8,6\%$; $p=0,0005$), als auch 6 Monate nach STEMI (6 Monate: LV-EF in MPA *high*: $48,5 \pm 14,5\%$ vs. LV-EF in MPA *low*: $60,09 \pm 6,9\%$; $p=0,0123$).

Gleichzeitig stellten wir bei Patienten der Gruppe MPA *high* zum Zeitpunkt eine nicht signifikante Erhöhung der LV-EDV fest (Akut: LV-EDV in MPA *high*: $169,9 \pm 32,3\text{ml}$ vs. LV-EDV in MPA *low* $154,1 \pm 30,6\text{ml}$; $p=0,1652$). Zum Zeitpunkt 6 Monate nach STEMI konnten wir eine signifikante Erhöhung der LV-EDV in Patienten der Gruppe MPA *high* nachweisen, (6 Monate: LV-EDV in MPA *high*: $198,7 \pm 76,4\text{ml}$ vs. LV-EDV in MPA *low* $153,8 \pm 28,8\text{ml}$; $p=0,0012$).

Ebenso zeigten Patienten der Gruppe MPA *high* zu im akuten STEMI sowie 6 Monate nach STEMI ein signifikant erhöhtes LV-ESV (Akut: LV-ESV in MPA *high*: $92,6 \pm 24,9\text{ml}$ vs. LV-ESV in MPA *low*: $68,2 \pm 25,4\text{ml}$; $p=0,0105$ und 6 Monate: LV-ESV in MPA *high*: $110,9 \pm 77,0\text{ml}$ vs. LV-EDV in MPA *low*: $61,9 \pm 17,5\text{ml}$; $p=0,0246$).

Der Vergleich der LV-SV zeigte im Vergleich der Gruppen MPA *high* vs. MPA *low* eine zu beiden Zeitpunkten eine nicht signifikante Verringerung des LV-SV in der Gruppe

MPA *high* (Akut: LV-SV in MPA *high* 77,0±14,3ml vs. LV-SV in MPA *low* 86,0±14,3ml; p=0,0858; 6 Monate LV-SV in MPA *high* 87,9±17,9ml vs. LV-SV in MPA *low* 92,0±19,2ml; p=0,5833)

Eine erhöhte *intermediate* MPA Anzahl an Tag 1 ging in unserer Analyse mit einer verminderten LV-EF zum akuten Zeitpunkt und 6 Monate nach STEMI und einem erhöhten LV-EDV nach 6 Monaten und einem erhöhtem LV-ESV zum akuten Zeitpunkt und 6 Monate nach STEMI einher.

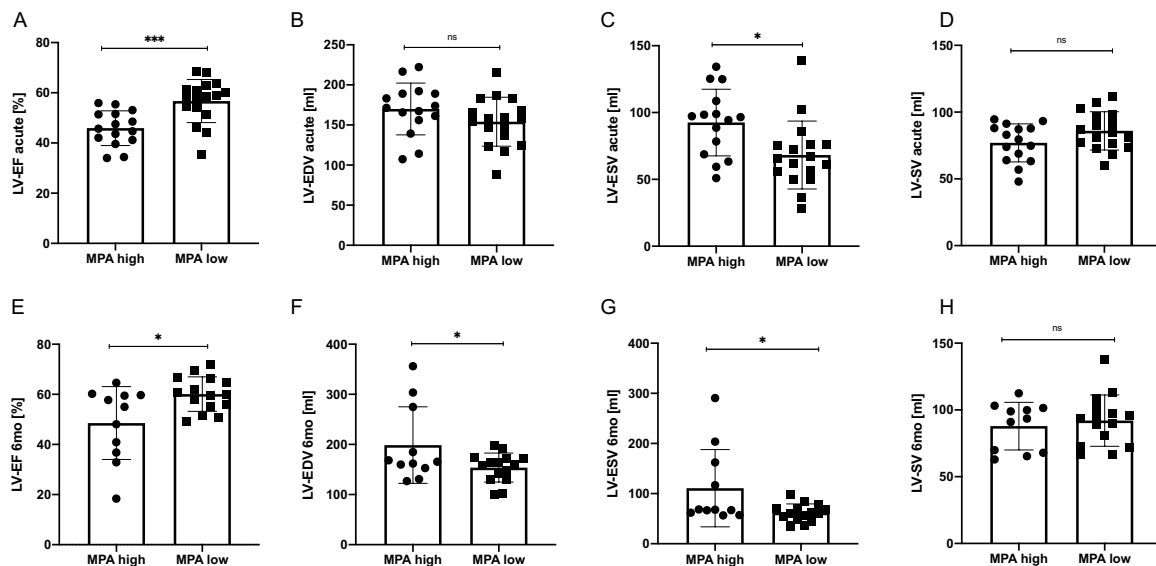


Abb. 10: Intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates und kardiale Funktion

Dargestellt wird der Vergleich der Parameter des linken Ventrikels, Ejektionsfraktion (LV-EF), Enddiastolisches Volumen (LV-EDV), Endsystolisches Volumen (LV-ESV) und Schlagvolumen (LV-SV). Verglichen werden zwei Gruppen von Probanden mit einem ST-Elevationsmyokardinfarkt. Die Einteilung in die beiden Gruppen erfolgte nach der Anzahl der *intermediate* Monocyte-Platelet-Aggregates (MPA) zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem erlittenen STEMI in die Gruppen MPA *high* (>6cells/ μ l) und MPA *low* (<6cells/ μ l). Dargestellt sind die o.g. Parameter zu den Zeitpunkten unmittelbar nach Infarkt, gekennzeichnet mit *acute*, und 6 Monate nach Infarkt, gekennzeichnet mit *6mo*. Alle funktionellen Parameter wurden durch eine kardiale Magnetresonanztomographie (CMR) erhoben. **A:** Dargestellt wird die statistisch signifikante Verringerung der LV-EF der Patienten mit einer erhöhten Anzahl an *intermediate* MPA unmittelbar nach STEMI. **B:** Dargestellt wird der Vergleich des LV-EDV der Patienten mit einem STEMI eingeteilt in die Gruppen MPA *high* und MPA *low* ohne statistische Signifikanz. **C:** Gezeigt wird die statistisch signifikante Erhöhung des LV-ESV in der Gruppe mit einer höheren Anzahl an *intermediate* MPA unmittelbar nach STEMI. **D:** Dargestellt wird der Vergleich des LV-SV der Patienten mit STEMI eingeteilt in die Gruppen MPA *high* und MPA *low* ohne statistische Signifikanz. **E:** Dargestellt wird die statistisch signifikante Verringerung der LV-EF 6 Monate nach STEMI der Patienten mit einer erhöhten Anzahl an *intermediate* MPA. **F:** Dargestellt wird die statistisch signifikante Erhöhung des LV-EDV 6 Monate nach STEMI der Patienten mit einer erhöhten Anzahl an *intermediate* MPA. **G:** Dargestellt wird die statistisch signifikante Erhöhung des LV-ESV 6 Monate nach STEMI der Patienten mit einer erhöhten Anzahl an *intermediate* MPA. **H:** Dargestellt wird der Vergleich des LV-SV der Patienten mit einem STEMI eingeteilt in die Gruppen MPA *high* und MPA *low* ohne statistische Signifikanz. *p-Wert $\leq$ 0,05; **p-Wert $\leq$ 0,01; ***p $\leq$ 0,001.

3.6.4 Monocyte-Platelet-Aggregates, Infarktgröße und mikrovaskuläre Obstruktion

Im Rahmen der CMR-Untersuchung konnten wir mit Hilfe des LGE% die Infarktgröße direkt messen. Zudem schlossen wir als weiteren Parameter das Auftreten einer MVO ein. Wir erstellten eine Pearson-Korrelation zwischen der Infarktgröße und der Anzahl der *intermediate* MPA an Tag 1 nach einem STEMI. Dabei zeigte sich eine positive und statistisch signifikante Korrelation zwischen Infarktgröße und MPA ($R^2=0,3625$; $p=0,0009$).

Die STEMI Patienten wurden anhand der Anzahl der *intermediate* MPA an Tag 1 in die beiden Gruppen MPA *high* und MPA *low* eingeteilt. Die Patienten der Gruppe MPA *high* zeigten dabei eine signifikant erhöhte Infarktgröße verglichen mit den Patienten der Gruppe MPA *low* (LGE% in MPA *high*: $26,6 \pm 13,6\%$ vs. LGE% in MPA *low*: $11,4 \pm 9,5\%$; $p=0,0023$).

Patienten mit einer MVO zeigten eine signifikant erhöhte Anzahl an *intermediate* MPA an Tag 1 nach STEMI (MPA in MVO: $14,1 \pm 9,9$ cells/ μ l vs. MPA in noMVO: $5,1 \pm 2,9$ cells/ μ l; $p=0,0157$).

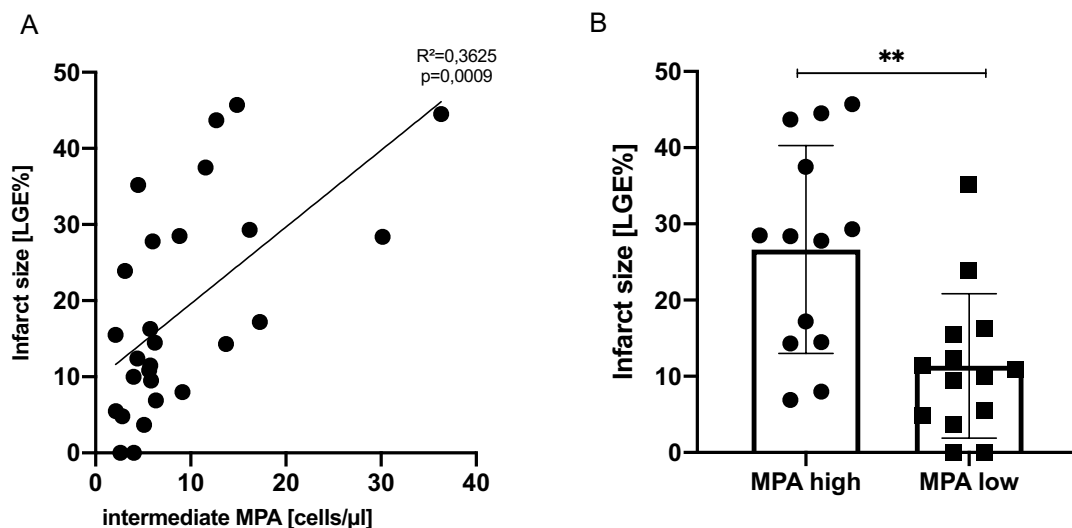


Abb. 11: *Intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates* und Infarktgröße

A: Dargestellt wird die signifikante Korrelation ($R^2=0,3625$; $p=0,0009$) der *intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates* (MPA) zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem erlittenen ST-Elevationsmyokardinfarkt (STEMI) und der Infarktgröße (LGE%). B: Gezeigt wird der Vergleich der LGE% zwischen den Gruppen MPA *high* (>6 cells/ μ l) und MPA *low* (<6 cells/ μ l), eingeteilt anhand der Anzahl der *intermediate* MPA zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem erlittenen STEMI, mit einer statistisch signifikanten Erhöhung der LGE% in der Gruppe MPA *high*. Abgebildet werden die Mittelwerte $\pm$ Standardabweichung sowie die Einzeldatenpunkte, **p-Wert $\leq 0,01$; .

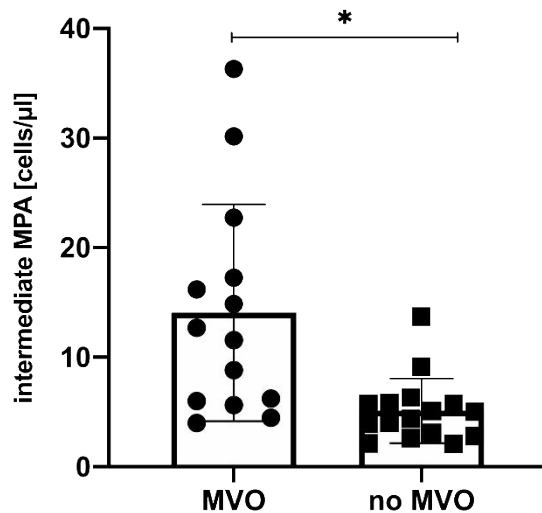


Abb. 12: **Intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates und Mikrovaskuläre Obstruktion**
Dargestellt wird die statistisch signifikante Erhöhung der Anzahl der *intermediate Monocyte-Platelet-Aggregates* (MPA) zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem ST-Elevationsmyokardinfarkt bei Patienten mit dem Nachweis einer Mikrovaskulären Obstruktion in der kardialen Magnetresonanztomographie (CMR). Abgebildet werden die Mittelwerte±Standardabweichung sowie die Einzeldatenpunkte, *p-Wert≤0,05.

4 Diskussion

4.1 Schlüsselergebnisse

Das erste Ziel dieser Arbeit war es, die zeitliche Dynamik der Monozyten in ihren Subpopulationen und der Bildung von MPA im Zeitraum von 0 bis 5 Tage nach Auftreten eines STEMIs zu untersuchen. Wir konnten einen signifikanten Anstieg der *Intermediate monocytes* mit einem Maximum zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem STEMI nachweisen. Auch die *classical monocytes* zeigten einen Anstieg zum Zeitpunkt Tag 1, wenn auch nicht im gleichen Ausmaß (siehe Abb. 4). Hieraus kann geschlossen werden, dass in der unmittelbaren Heilungsphase innerhalb eines Tages nach STEMI und nach der revaskulierenden Therapie ein Anstieg der proinflammatorischen Monozyten und eine Verringerung der antiinflammatorischen Monozyten zu verzeichnen war. *Intermediate* und *classical monocytes* wiesen zudem eine deutlich höhere Tendenz zur Bildung von MPA auf. Die Bildung der *intermediate* MPA zum Zeitpunkt Tag 1 stieg signifikant an und fiel anschließend zum Zeitpunkt Tag 5 wieder signifikant ab. In den beiden anderen Monozyten-Subpopulationen gab es hinsichtlich der Bildung von MPA keine wesentlichen signifikanten Unterschiede (siehe Abb. 5). Unsere Daten zeigten, dass an Tag 1 die MPA Bildung insbesondere der *intermediate monocytes* signifikant anstieg (siehe Abb. 5). In der bisherigen Literatur ist die Zellpopulation der *intermediate monocytes* wenig untersucht.

Zweites Ziel dieser Arbeit war es zu untersuchen ob Patienten mit mehr MPA-Bildung eine ausgeprägtere Entzündungsreaktion zeigen. Hierzu konnten wir eindeutig eine positive Korrelation zwischen den maximalen CRP-Werten und der *intermediate* MPA-Bildung nach STEMI nachweisen. Zudem zeigten Patienten nach STEMI mit erhöhten *intermediate* MPA signifikant höhere maximale CRP-Werte verglichen mit Patienten mit niedrigeren *intermediate* MPA (siehe Abb. 6).

Als Drittes untersuchten wir, ob es einen Zusammenhang zwischen der MPA-Bildung und der Infarktschwere gibt. In unserer Arbeit konnten wir zeigen, dass eine erhöhte MPA-Bildung mit laborchemischen, funktionellen und bildmorphologischen Parametern einhergeht, die für einen schwereren Myokardinfarkt sprechen. So konnten wir eine positive Korrelation zwischen den maximalen CK-Werten und der *intermediate* MPA nach STEMI zeigen. Zudem zeigten Patienten mit STEMI mit erhöhten *intermediate* MPA signifikant höhere maximale CK-Werte verglichen mit Patienten mit niedrigeren *intermediate* MPA (siehe Abb. 9). Funktionell zeigten STEMI-Patienten mit erhöhten *intermediate* MPA in der CMR eine geringere Ejektionsfraktion und ein höheres endsystolisches Volumen als STEMI-Probanden mit weniger *intermediate* MPA (siehe Abb.11). Zusätzlich konnten wir eine positive Korrelation zwischen der *intermediate* MPA-Bildung und der Infarktgröße aus der CMR nachweisen. Auch zeigten Patienten mit MVO mehr *intermediate* MPA als Patienten ohne MVO. STEMI-Patienten mit erhöhten *intermediate* MPA zeigten größere Infarktareale im Vergleich zu Patienten mit niedrigeren *intermediate* MPA (siehe Abb. 12 und 13)

4.2 Dynamik der Monozyten-Subpopulationen

Monozyten spielen nicht nur in der Entstehung atherosklerotischer Plaques, sondern auch im Myokardinfarkt als Akutmanifestation einer Atherosklerose eine Rolle [37]. Das Knochenmark und die Milz dienen dabei als Reservoir für die Monozyten [42]. Van der Laan et al. konnten in ihrer postmortem Untersuchung an menschlichem Myokard, Knochenmark und Milz von STEMI-Patienten zeigen, dass Patienten nach einem akuten Myokardinfarkt eine Erniedrigung der CD14 positiven Zellen in den Reservoirs Knochenmark und Milz zeigten. In den immunhistochemischen Analysen des infarzierten Myokards konnten hingegen vermehrt proinflammatorische CD14++CD16- Monozyten in der Grenzzone des Infarktes nachgewiesen werden. Diese finden sich insbesondere in der inflammatorischen Phase, welche von ca. 12h-5d nach einem Myokardinfarkt andauert. In der proliferativen Phase, die nach einem akuten Myokardinfarkt ca. 5-14 Tage andauert, konnten vermehrt antiinflammatorische CD14+CD16+ Monozyten im Infarktkern nachgewiesen werden [41].

Aufgrund dieser zeitlichen Abfolge scheint es plausibel, dass Monozyten aus ihrem Reservoir in Milz und Knochenmark mobilisiert werden, über das zirkulierende Blut zum Herzen gelangen und in das infarzierte Myokard einwandern. Allgemein würde man im peripheren Blut erwarten einen Anstieg der Monozyten mit Beginn der inflammatorischen Phase, ab ca. 12h nach einem akuten Myokardinfarkt, messen zu können. Betrachtet man nun die zeitliche Dimension aus der Arbeit von Van der Laan et al. so lässt sich der von uns gemessene Anstieg der Monozyten im peripheren Blut zum Zeitpunkt Tag 1 gut mit der von Van der Laan beschriebenen zeitlichen Abfolge der Entzündungsreaktion in Einklang bringen [41]. Allerdings muss erwähnt werden, dass die Analysen in unserer Studie sich ausschließlich auf peripheres Blut beschränkten. So kann eine erniedrigte Zellzahl sowohl Ausdruck einer geringeren Bildung von Monozyten, einer verminderten Rekrutierung aus ihrem Reservoir oder Hinweis einer verstärkten Gewebeeinwanderung sein. Diese Frage lässt sich durch unsere Arbeit nicht abschließend klären.

In unseren Versuchen verzeichneten wir das Maximum der *classical* und *intermediate monocytes* an Tag 1 nach einem STEMI. Die *intermediate monocytes* stiegen dabei in absoluten Zahlen und relativen Anteilen im Vergleich zu dem Zeitpunkt Tag 0 statistisch

signifikant an. *Classical monocytes* hingegen präsentierten trotz eines deutlichen Trends keinen statistisch signifikanten Anstieg an Tag 1 nach einem STEMI. Die relativen Anteile der *non-classical monocytes* waren in den STEMI-Patienten zu den Zeitpunkten Tag 0, Tag 1 und Tag 5 im Vergleich zu Patienten mit CCS signifikant vermindert.

Zhou et al. erzielten mit einer Arbeit aus 2016 bei der Untersuchung von Vollblut mittels Durchflusszytometrie an 100 STEMI-Patienten ähnliche Ergebnisse wie wir. Grundsätzlich lässt sich die Arbeit von Zhou et al. aufgrund des ähnlichen Versuchsaufbau und einer ähnlichen Gating-Strategie gut mit unseren Ergebnissen vergleichen. Zhou et al. wiesen einen signifikanten Anstieg der *intermediate monocytes* zum Zeitpunkt Tag 2 nach STEMI nach [47]. Dieser entspricht in unserer Arbeit der Analyse zum Zeitpunkt Tag 1. Diese Erhöhung hielt anschließend bis Tag 7 nach STEMI an und zeigte sich auch gegenüber den Kontrollgruppen Gesunder Probanden („*healthy*“) und Patienten mit stabiler chronischer koronarer Herzkrankheit („*stable CHD*“) signifikant und steht nicht im Gegensatz zu unseren Daten. *Classical monocytes* zeigten bei Zhou et al. keine Dynamik in der unmittelbaren subakuten Phase nach einem STEMI aber eine insgesamt signifikante Erhöhung im Vergleich zu den Kontrollgruppen „*healthy*“ und „*stable CHD*“. *Non classical monocytes* zeigten sich in der Arbeit von Zhou et al. zu den beiden Kontrollgruppen „*healthy*“ und „*stable CHD*“ keine signifikanten Unterschiede [47].

In einer weiteren Arbeit zeigten Tapp et al. in der Untersuchung von Vollblut mittels Durchflusszytometrie an 50 STEMI-Patienten ähnliche absolute Zellzahlen und prozentuale Anteile der Monozyten-Subpopulationen zu unseren Ergebnissen. Auch konnte eine Erhöhung der *intermediate monocytes* im Vergleich zu den Kontrollgruppen „*healthy*“ und „*stable CAD*“ zum Zeitpunkt Tag 1 nach einem STEMI nachgewiesen werden [48]. Zu der Arbeit von Tapp et al. gibt es in unserer Arbeit allerdings einige methodische Unterschiede. So wurde eine andere Gating-Strategie angewandt. Außerdem wurden die Blutentnahme zum Zeitpunkt Tag 1 im Gegensatz zu unserer Arbeit nicht unmittelbar nach Ankunft im Herzkatheterlabor (HKL) durchgeführt, sondern innerhalb der ersten 24h Stunden nach einem erlitten STEMI, sodass kein Ausgangswert der Monozyten-Subpopulationen festgesetzt werden konnte [48]. Die Erhöhung der *intermediate monocytes* in Tapp et al. könnte somit durchaus dem Anstieg der *intermediate monocytes* entsprechen, welchen wir ebenso an Tag 1 zeigen konnten.

Bosch et al. untersuchten das Vollblut von 102 STEMI-Patienten mittels Durchflusszytometrie. Dabei zeigte sich ein Abfall der *classical monocytes* und der *intermediate monocytes* von Zeitpunkt Tag 1 zu den Zeitpunkten Tag 3 und Tag 7 [69]. Ähnlich zur vorhin genannten Arbeit von Tapp et al. wurde die Blutabnahme in der Arbeit von Bosch et al. zum Zeitpunkt Tag 1 innerhalb der ersten 12h nach Symptombeginn und nicht unmittelbar nach Ankunft der Patienten im HKL durchgeführt [48, 69]. Aus diesem Grund ist Vergleichbarkeit die Ergebnisse von Bosch et al. mit unseren Ergebnissen eingeschränkt [69].

Eine Arbeit von Tsujioka et al. untersuchte ebenfalls das Verhalten von Monozyten aus dem Vollblut, nach einem akuten Myokardinfarkt in 36 Patienten nach einem akuten Myokardinfarkt mittels Durchflusszytometrie [45]. Hierbei wurden die Monozyten allerdings nur in die beiden Populationen CD14+CD16- und CD14+CD16+ eingeteilt und nicht in die drei allgemein geläufigen Monozyten-Subpopulationen *classical*, *intermediate* und *non-classical monocytes* [39, 45]. Der Anstieg der CD14+CD16+ Zellen nach einem akuten Myokardinfarkt im Vergleich zu Patienten mit stabiler Angina pectoris und instabiler Angina pectoris lassen sich nicht ausreichend mit unseren Ergebnissen

vergleichen, da die Subpopulation der *intermediate monocytes* nicht als eigene Monozyten-Subpopulation untersucht wurde. Zusätzlich wurde in der Patientengruppe mit Myokardinfarkt nicht zwischen STEMI und NSTEMI unterschieden [45].

Insbesondere hinsichtlich des Verhaltens der *non-classical monocytes* kommen alle der genannten Arbeiten zu einem unterschiedlichen Ergebnis. Im Gegensatz zu unserer Arbeit, wies keine der genannten Arbeiten einen Unterschied zwischen den *non classical monocytes* der STEMI-Patienten und der Kontrollgruppe der Patienten mit einem CCS nach [47, 48, 69]. Allerdings führten nur Zhou et al. die Blutentnahmen zu den exakt gleichen Zeitpunkten wie wir durch, während bei Tapp et al. und bei Bosch et al. die Blutentnahmen zu den Zeitpunkten Tag 1, Tag 3 und Tag 7 nach STEMI durchgeführt wurden [47, 48, 69]. Tsuijoka et al. führten die Blutabnahmen zu den Zeitpunkten 2, 3, 4, 5, 8, 12 Tage nach STEMI durch. [45]

Ein relevantes Ergebnis der genannten Arbeiten ist, dass eine Erhöhung einzelner Monozyten-Subpopulationen mit einem verschlechterten Outcome nach STEMI assoziiert ist. So zeigten Tsuijoka et al., dass eine erhöhte Menge an CD14+CD16- Monozyten mit einem verschlechterten linksventrikulären Remodeling und vergrößerten „myocardial salvage“ einhergeht [45]. Zhou et al. zeigten, dass eine erhöhte Menge von *intermediate monocytes* einen prädiktiven Wert für ein negatives kardiovaskuläres Ereignis in einem Follow-up von 2 Jahren hat. Als negative Ereignisse wurden Herzstillstand, Schlaganfall, Reinfarkt, Notwendigkeit von Revaskularisierung, erneute Krankenhausaufenthalte und Herzinsuffizienz gezählt [47]. Tapp et al. zeigten, dass *intermediate monocytes* signifikant positiv mit Troponin-Level und Plasmazytokin-Level sowie negativ mit der LV Funktion korrelieren [48]. Bosch et al. zeigten, dass *classical* und *intermediate monocytes* positiv mit der Infarktgröße und negativ mit der LV-Ejektionsfraktion korrelieren. *Non-classical monocytes* korrelieren laut Bosch et al. mit der Masse der Randzone des Infarktes und der Menge des arrhythmogenen Potentials [69]. Daneben konnten Rogacev et al. nach der Analyse von Vollblut mittels Durchflusszytometrie von 951 Probanden mit einer elektiven Koronarangiographie nachweisen, dass eine hohe Anzahl an *intermediate monocytes* ein unabhängiger Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse ist. Als kardiovaskuläre Ereignisse zählten in dieser Arbeit Myokardinfarkt, plötzlicher Herztod und nicht hämorrhagischer Schlaganfall [70]. Vier von fünf Arbeiten kamen zu dem Ergebnis, dass insbesondere die Population der *intermediate monocytes* weiter untersucht und charakterisiert werden sollte, auch für uns stellte die Population der *intermediate monocytes* den Fokus unserer Auswertungen dar.

4.3 MPA-Bildung und Dynamik

Die Bildung von MPA zeigt sich in unterschiedlichen kardiovaskulären Erkrankungen, wie einem abdominales Aortenaneurysma, einer Karotis-Stenose, einer periphere arteriellen Verschlusskrankung und einer koronaren Herzerkrankung erhöht [63]. Die Bildung von MPA entsteht durch aktivierte Thrombozyten und aktivierte Monozyten, die miteinander interagieren [57, 71]. Mit der Aktivierung der Thrombozyten präsentieren Thrombozyten P-Selektin auf ihrer Oberfläche [72]. P-Selektin wirkt als Hauptprotagonist bei der Bildung von MPA und bindet an den PSGL-1 auf der Monozytenoberfläche. Diese Bindung wird anschließend von weiteren Integrinen stabilisiert [58]. Im akuten Myokardinfarkt wird die Bildung von MPA teilweise als sensibler Marker für eine erhöhte Thrombozytenaktivierung oder als früher diagnostische Marker interpretiert [63-65]. Da

die Bildung von MPA als ein Marker für die Aktivierung von Thrombozyten interpretiert werden kann [63, 65] könnte nach Shantsila et al. die Erhöhung der MPA nach einem akuten Myokardinfarkt das massive Ausmaß der Thrombozytenaktivierung durch den Myokardinfarkt abbilden [73].

Zudem gibt es Hinweise darauf, dass eine erhöhte Inflammation im Zusammenhang mit der Bildung von MPA steht. So können bei Menschen mit Diabetes mellitus und einer mikroangiopathischen Erkrankung wie diabetischer Nephropathie oder diabetischer Retinopathie oder weiteren vaskulären Läsionen deutlich erhöhte MPA im Blut nachgewiesen werden [74, 75]. Danenberg et al. konnten einen weiteren Hinweis auf den Einfluss des Inflammationsstatus auf die Interaktion zwischen Monozyten und Thrombozyten geben. Nach der Exposition von humanem Blut mit rekombinanten humanem CRP zeigte sich einer Erhöhung der MPA-Bildung [76]. Es ist anzunehmen, dass die Bildung von MPA eine Verlinkung von Thrombose und Inflammation darstellt. Naheliegender ist, dass die Interaktion von Thrombozyten und Monozyten das Verhalten dieser beiden Zelltypen beeinflusst. Aktivierte Thrombozyten induzieren durch die Interaktion und Bildung von MPA die inflammatorische Chemokinsekretion in Monozyten und beeinflussen die Inflammationskaskade [59, 60]. Die Bindung von P-Selektin an PSGL-1 auf Monozyten führt unter anderem zu einer Steigerung der adhäsiven Fähigkeiten und zu einer gesteigerten Fähigkeit zur Transmigration dieser Zellen [62]. Die Arbeit von Passacuale et al. liefert zudem Hinweise, dass die Interaktion von Thrombozyten und Monozyten in vitro einen proinflammatorischen Monozytentyp induzieren kann [77]. Kossmann et al. konnten in ihrer Arbeit im CMR die Aufnahme des markierten Stoffes ¹⁸F-FDG, welches das Ausmaß einer monozytären Inflammation widerspiegelt, in das infarzierte Myokard zeigen. Dies ist ein Hinweis, dass nicht nur die systemische Inflammation eine Auswirkung auf die MPA-Bildung hat, sondern, dass MPA auch die lokale Inflammationsreaktion im Myokard beeinflussen [78]. Ob die Bildung von MPA aktiv auf thromboinflammatorische Prozesse in der Mikrozirkulation einwirkt und somit das funktionelle Outcome nach einem STEMI ursächlich beeinflusst oder ein Phänomen als Folge eines Myokardinfarktes ist, kann in der vorliegenden Arbeit nicht abschließend geklärt werden.

In unserer Arbeit konnten wir nachweisen, dass es die *classical* und *intermediate monocytes* deutlich mehr MPA bildeten als die *non-classical monocytes*. Gemessen am prozentualen Anteil der jeweiligen Zellpopulation bildeten die *intermediate monocytes* in unserer Arbeit am meisten MPA. Die *intermediate* MPA sowie die *classical* MPA zeigten ihr Maximum in unserer Analyse an Tag 1 nach einem STEMI. Der Anstieg der *intermediate* MPA vom Zeitpunkt Tag 0 zum Zeitpunkt Tag 1 nach STEMI war, im Gegensatz zum Anstieg der *classical* MPA, sowohl in absoluten Zellzahlen als auch in prozentualen Anteilen statistisch signifikant. Die *non-classical* MPA zeigten erst an Tag 5 einen nicht statistisch signifikanten Trend für einen Anstieg. Eine Erhöhung der MPA Bildung im Vergleich zu den Patienten mit CCS konnten wir bis auf den prozentualen Anteil der *non-classical* MPA an Tag 5 nicht nachweisen, auch wenn die *intermediate* MPA eine klare Tendenz dafür zeigten.

Eine generelle Erhöhung der Bildung der MPA von Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt lässt sich im Vergleich zu unterschiedlichen Kontrollgruppen sehr häufig in der Literatur finden. So zeigen drei Arbeiten eine Erhöhung der MPA in Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt im Vergleich zu Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung [47, 48, 68]. Zwei weitere Arbeiten zeigen eine Erhöhung der MPA zwischen Patienten mit Myokardinfarkt und Patienten mit nicht kardialen Brustschmerz

[64, 65]. Mehrere der erwähnten Arbeiten konnten auch eine Erhöhung der MPA von Patienten mit einem Myokardinfarkt im Vergleich gesunden Probanden nachweisen [47, 48, 65, 79]. Eine Arbeit von Levinas et al. fand hingegen in der Untersuchung von Vollblut mittels Durchflusszytometrie keinen Unterschied der MPA-Bildung zwischen Patienten mit einem Myokardinfarkt und Patienten mit nicht kardialen Brustschmerz [80].

Zwar unterscheiden sich genannten Arbeiten neben der Auswahl der Kontrollgruppe in zahlreichen Punkten voneinander, zeigen jedoch ähnliche Ergebnisse bezüglich der *intermediate monocytes* wie in unserer Arbeit [47, 48, 65, 68, 79-81]. Die Höhe der gemessenen MPA variierte von einem maximalen Anteil von ca. 10% in der Gruppe der *intermediate* MPA bei Loguinova et al. bis zu einem maximalen Anteil von ca. 90% MPA in der Population der gesamten Monozyten bei Ren et al. [79, 81]. Eine eingeschränkte Vergleichbarkeit ergibt sich unter anderem aus den uneinheitlichen Zeitpunkten der FACS-Analysen der genannten Arbeiten. So wurde das zu analysierende Blut in vielen Arbeiten direkt bei Krankenhausaufnahme abgenommen [47, 64, 65, 68, 81]. Bei Tapp et al. fand die erste Blutabnahme der ersten 24h statt [48] und bei Levinas et al. erst innerhalb der ersten 48h nach Krankenhausaufnahme [80].

Trotz dessen, konnte in diesen Arbeiten ähnlich wie in unseren Ergebnissen nachgewiesen werden, dass die *intermediate monocytes* bei STEMI-Patienten prozentual am meisten MPA bildeten, gefolgt von den *classical monocytes* und den *non-classical monocytes* [48, 79, 82]. In den Ergebnissen einer gegensätzlichen Arbeit von Allen et al. bildeten *intermediate* und *non-classical monocytes* hingegen deutlich mehr MPA als *classical monocytes* [63].

Nur die Arbeiten von Zhou et al. und Tapp et al. analysierten die Bildung der MPA über den Zeitraum von mehreren Tagen, sodass sich die Entwicklung der Bildung von MPA von Tag 1 bis 7 nach einem STEMI nachvollziehen lässt [47, 48]. Vergleicht man dann die Bildung der MPA in den einzelnen Subpopulationen mit unseren Ergebnissen, zeigt sich bei Zhou et al. ähnlich zu unseren Ergebnissen ein Maximum der *classical* MPA an Tag 1 nach STEMI und ein signifikanter Anstieg der *intermediate* MPA an Tag 1 nach einem STEMI [47]. Tapp et al. zeigte für die *classical* MPA und die *intermediate* MPA zwar ein Maximum an Tag 1 aber keine statistisch signifikanten Veränderungen im zeitlichen Verlauf [48]. Die *non-classical* MPA zeigten bei sowohl bei Zhou et al. als auch bei Tapp et al. mit einem Anstieg zu späteren Zeitpunkten der Analyse die gleiche Tendenz wie in unseren Daten [47, 48]. Da bei Tapp et al. die erste Analyse innerhalb von 24h erfolgte [48] lassen sich aus diesen Daten keine Aussagen zu dem von uns herausgearbeiteten Anstieg der *intermediate* MPA von Tag 0 zu Tag 1 treffen.

Um die genauen prozentualen Anteile der MPA in den einzelnen Monozyten-Subpopulationen valide einzuschätzen sind weitere Arbeiten notwendig. Es braucht zudem eine standardisierte Methodik in der Vorbereitung der Zellen und der Gating-Strategie, um die Ergebnisse zwischen den zahlreichen Arbeiten besser vergleichen zu können. Für uns lässt sich nicht final erklären, dass Patienten mit einem STEMI verglichen mit den Patienten mit einem CCS in unserer Analyse zu keinem Zeitpunkt eine erhöhte Bildung der MPA zeigen. Allerdings zeigen Tapp et al [48] und Zhou et al [47] einen ähnlichen oder sogar gleichen zeitlichen Verlauf der Bildung der MPA der STEMI-Patienten, sodass wir schließen, dass unsere Daten valide sind und sich bei einer höheren n-Zahl ebenfalls eine deutliche Steigerung der MPA Zahl in der Population der STEMI-Patienten im Vergleich zu den CCS-Patienten zu erwarten ist.

4.4 Thromboinflammation, Infarktschwere und MPA-Bildung

4.4.1 Thromboinflammation

Auf einen akuten Myokardinfarkt mit untergehendem Myokardgewebe folgt eine Antwort des Immunsystems. Das Ausmaß Immunantwort und das Risiko für Komplikationen lässt sich unter anderem durch die beiden häufig verwendeten Entzündungsparameter CRP und der Leukozytenanzahl klassifizieren [28, 83, 84]. In einer experimentellen Arbeit stimulierte Danenberg et al. humanes Blut mit rekombinanten CRP in vitro und zeigte eine erhöhte MPA-Bildung [76]. Um einen Zusammenhang zwischen Inflammationsstatus und der Bildung von MPA bei STEMI-Patienten in vivo zu untersuchen, korrelierten wir die Anzahl der *intermediate* MPA mit der maximalen Leukozytenzahl und dem maximalen CRP-Wert aus dem Krankenhausaufenthalt der Patienten. Hierbei korrelierte die Höhe des CRP-Wertes positiv mit der Anzahl der gebildeten *intermediate* MPA. Patienten mit erhöhten MPA zeigten höhere CRP-Werte als Patienten mit niedrigeren MPA. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen auch Zhang et al. In Ihrer Arbeit konnten sie ebenfalls eine positive Korrelation zwischen der MPA-Bildung und dem CRP in Patienten mit NSTEMI nachgewiesen. Wobei erwähnt werden muss, dass hier nicht zwischen den einzelnen Monozyten-Subpopulationen unterschieden wurde [18]. Unsere Ergebnisse könnten darauf hinweisen, dass die Bildung von *intermediate* MPA mit einer Aktivierung des Immunsystems zusammenspielt. Das Ausmaß einer Leukozytose nach einem STEMI korrelierte in unseren Ergebnissen nicht mit der MPA-Bildung.

In der aktuellen Literatur wird die Bildung von MPA zudem als Einflussfaktor auf das Ausmaß der Thrombozytenaktivierung in kardiovaskulären Erkrankungen diskutiert [63, 65, 68]. Michelson konnte in seinen Versuchen zeigen, dass aktivierte Thrombozyten schnell P-Selektin auf ihrer Oberfläche verlieren und rasch Aggregate mit Monozyten bilden. Diese Arbeit kam zum Schluss, dass die MPA-Bildung ein sensiblerer Marker für die Aktivierung von Thrombozyten ist als die Messung von P-Selektin auf der Thrombozytenoberfläche [65]. Allen et al. konnten in ihrer Arbeit eine höhere MFI auf den MPA für die Marker CD40, CD62P und den GPIIb/IIIa Rezeptor nachweisen. Alle diese Antigene können als Aktivierungsmarker für Thrombozyten gesehen werden [63]. Um diesen Aspekt zu untersuchen, korrelierten wir MPA-Bildung und die Fluoreszenzintensität für P-Selektin (CD62P) auf den MPA. Im Gegensatz zu der Arbeit von Allen et al. zeigte sich in unserer Analyse kein Zusammenhang zwischen der Bildung von MPA und dem Ausmaß der MFI für CD62P [63]. Zu hinterfragen ist, ob die Messung von CD62P in den Aggregaten zwischen Thrombozyten und Monozyten ein geeigneter Parameter für die Aktivierung von Thrombozyten ist. Da die primäre Interaktion zur Aggregatbildung zwischen P-Selektin und dem zugehörigen Liganden PSGL-1 stattfindet und aktivierte Thrombozyten rasch P-Selektin auf ihrer Oberfläche verlieren [58, 85]. CD62P als alleiniger Marker für die Thrombozytenaggregation zu werten und daraus auf die Thrombozytenaktivierung in MPA zu schließen scheint zu kurz gegriffen. Eine Analyse weiterer Parameter der Thrombozyten-Aggregation könnte hier Klarheit über Frage bringen, ob aktivierte Thrombozyten eher dazu neigen MPA einzugehen.

4.4.2 Infarktschwere

Um das Ausmaß der Infarktschwere zu detektieren, zählen sowohl Laborparameter als auch funktionelle Parameter zu den geläufigen Methoden. Als Laborparameter werden hierbei wie oben bereits erwähnt das CRP, die Leukozytenzahl, als auch die CK und das Troponin aufgeführt [25, 26, 28, 29]. Um den Aspekt der Infarktschwere zu untersuchen korrelierten wir die MPA-Bildung mit dem CK-Maximum und dem Troponin-Maximum. Hier zeigte sich eine signifikante positive Korrelation zwischen der MPA-Bildung und dem maximalen CK-Wert. Ein Vergleich der CK-Werte der nach median geteilten Gruppen MPA *high* und MPA *low* zeigte ebenfalls eine signifikante Erhöhung der CK in der Gruppe MPA *high*. Eine Korrelation zwischen MPA und CK ließ sich in der bisherigen Literatur nicht finden. Zwischen dem Troponin-Maximum und der Bildung von MPA konnten wir keinen statistisch signifikanten Zusammenhang nachweisen. Im Gegensatz zu uns gelang es Zhang et al. in NSTEMI-Patienten eine positive Korrelation zwischen Troponin und MPA. Wobei hierbei wie bereits oben erwähnt nicht zwischen den einzelnen Monozyten-Subpopulationen unterschieden wurde [18]. Unsere Korrelation zwischen MPA und CK-Maximum kann in Zusammenschau mit den Daten aus dem CMR ein Hinweis sein, dass sich die Infarktschwere auch durch *intermediate* MPA laborchemisch abbilden lässt.

Neben den Laborchemischen Prädiktoren können auch funktionelle Parameter als Korrelat für die Schwere eines Myokardinfarktes dienen. Hierfür verwendeten in unserer Arbeit die Parameter LV-EF, LV-EDV, und LV-ESV und LV-SV sowie die Infarktgröße und das MVO aus der CMR. Eine verringerte LV-EF und ein erhöhtes LV-ESV sowie ein erhöhtes LV-EDV gehen mit einer erhöhten Mortalität, Herzinsuffizienzrate und erneuten kardiovaskulären Ereignissen einher [86]. In unserer Analyse zeigten STEMI-Patienten mit erhöhten *intermediate* MPA eine signifikant verringerte LV-EF im akuten Setting als auch nach 6 Monaten, ein signifikant erhöhtes LV-EDV nach 6 Monaten, sowie erhöhte LV-ESV-Werte im akuten Setting und nach 6 Monaten im Vergleich zu STEMI-Patienten mit weniger *intermediate* MPA. Kossmann et al. konnten in ihrer Arbeit einen Zusammenhang zwischen MPA und einer Verminderung der LV-EF im CMR herstellen [78]. Auch Tapp et al. stellten diesen Zusammenhang mittels echokardiographischer Daten her, wobei dieser nach Korrektur der Störfaktoren sich nicht als signifikant hielt [48]. Erwähnt werden muss, dass die beiden genannten Arbeiten von Kossmann et al. und Tapp et al. die LVEF nur nach 6 Monaten erhoben und nicht wie wir auch unmittelbar in den ersten Tagen nach einem STEMI [48, 78].

Die Infarktgröße und das MVO stellen die beiden übergeordneten Endpunkte der Bildgebung mittels CMR nach einem Myokardinfarkt dar und können als Prädiktoren für eine erhöhte Mortalität und das Auftreten kardialer Ereignisse gewertet werden [19, 20]. Wir zeigten eine positive Korrelation zwischen *intermediate* MPA und der LGE% Infarktgröße im MRT. Patienten mit einer höheren *intermediate* MPA Bildung zeigten ein größeres LGE% Infarktareal als STEMI-Patienten mit weniger *intermediate* MPA. Bisher trifft nur eine weitere Arbeit von Kossmann et al. eine Aussage über einen Zusammenhang von LGE% Infarktgröße und MPA-Bildung und zeigt eine Korrelation zwischen *intermediate* MPA und LGE% Infarktgröße [78].

Neben einem größeren Infarktareal präsentierten STEMI-Patienten mit erhöhten *intermediate* MPA im CMR auch mehr MVO. Bisher konnten nur zwei weitere Arbeiten einen Zusammenhang zwischen MPA und MVO herstellen. In den Arbeiten von

Aurigemma et al. und Ren et al. wurde die MVO allerdings nur angiographisch anhand des No-Reflow-Phänomens diagnostiziert. Bei der Analyse wurde zudem nicht zwischen den einzelnen Monozyten-Subpopulationen unterschieden [68, 81]. Trotz der methodischen Unterschiede zu unserer Analyse, zeigten beide Arbeiten ebenso erhöhte MPA in Patienten mit einem angiographisch nachweisbaren MVO [68, 81]. Wobei die Diagnostik einer MVO mittels des CMR hier als übergeordnet anzusehen ist, da dies einen der zu bevorzugenden Endpunkte in der kardialen Bildgebung mittels CMR darstellt [19]. In Zusammenschau unserer Ergebnisse zeigt sich, dass erhöhte MPA mit mehreren Parametern korrelieren, die mit einer verschlechterten Prognose nach einem Myokardinfarkt einhergehen. Eine erhöhte Bildung von *intermediate* MPA könnte sowohl als Parameter für die Infarktschwere als auch als Parameter für eine verschlechterte Prognose nach einem STEMI diskutiert werden.

In unserer Arbeit wurde nur die subakute Phase nach einem STEMI untersucht. Eine Analyse längerfristiger Zeitpunkte wurde nicht durchgeführt. Während die vorhandene Literatur eine erhöhte MPA-Bildung nach einem Myokardinfarkt bereits gut belegt, gibt es nur eine Arbeit, die eine Aussage über die prognostische Relevanz einer erhöhten MPA-Bildung trifft [47, 48, 64, 65, 68, 79]. Laut der Arbeit von Zhou et al. geht eine Erhöhung der *intermediate* MPA mit einem erhöhten Auftreten von kardialen Ereignissen in einem 2-Jahres Follow-up einher [47]. Unsere Ergebnisse lassen sich gut in den Literaturkontext setzen und tragen einen Teil in diesem noch nicht ausführlich genug untersuchten Bereich bei. Um die Relevanz und die Bedeutung von einer erhöhten MPA-Bildung in der unmittelbaren, aber auch längerfristigen Heilungsphase zu klären, benötigt es weitere in ihrem Versuchsaufbau ähnliche Studien.

4.5 Limitationen

4.5.1 Deskriptive Aussagekraft der MPA Veränderungen

In unserer Studie konnten wir zahlreiche Aussagen über das Verhalten von Monozyten und MPA in den ersten Tagen (Tag 0 bis Tag 5) nach einem Myokardinfarkt treffen. Wir konnten auch eine Assoziation zwischen der Bildung von MPA und dem Schweregrad eines Myokardinfarktes herstellen. Allerdings sind unsere Ergebnisse nur deskriptiv zu werten. Anhand unserer Arbeit können wir leider keine Aussage darüber treffen, ob die Bildung von MPA einen pathophysiologischen Einfluss auf die Heilungsreaktion nach einem Myokardinfarkt hat. Ebenso ist es möglich, dass die MPA-Bildung als rein diagnostischer Parameter zu werten ist. Um diese Frage zu klären sind weitere Arbeiten nötig die ihren Fokus auf die pathophysiologischen Mechanismen hinter der Bildung von MPA und deren Auswirkung auf die Immunreaktion legen.

4.5.2 Methodische Einflussfaktoren auf die Messung der *Monocyte-Platelet-Aggregates* und deren Verlauf nach einem akuten STEMI

In der Analyse von Leukozyten-Thrombozyten-Aggregaten gibt es mehrere relevante Einflussfaktoren. Neben der Verarbeitungsdauer spielen die Vorbereitung der Zellen, die

Blutentnahmeart und das Entnahme-Medium eine Rolle [56]. In einem Vergleich von unterschiedlichen Entnahme-Medien zeigte sich in einer Arbeit von Harding et al. bei der Bestimmung von MPA aus Blutentnahme-Röhrchen mit Heparin-Medium mehr MPA-Bildung als in den Röhrchen mit EDTA, Sodium-Citrat oder PPACK. Die Vorbereitung der Zellen mit Erythrozyten-Lyse scheint hingegen laut Harding et al. keinen Einfluss auf die MPA-Bildung zu haben [87]. Im Gegensatz dazu wiesen Li et al. eine artifiziell gesteigerte MPA Bildung nach der Vorbereitung mit Erythrozyten-Lyse nach [88]. Beide genannten Arbeiten merken an, dass häufiges Waschen und häufiges Zentrifugieren der Zellen einen Einfluss auf die MPA-Bildung haben können [87, 88].

In der aktuellen Literatur existiert kein standardisiertes Vorgehen zur Analyse von MPA. So bleibt es fraglich inwieweit die von uns gewählte Verarbeitung eine Vergleichbarkeit der MPA-Zellzahlen und der prozentualen Anteile der vorhandenen Studien beeinflusst.

Einen weiteren Faktor, den wir in unserer Analyse berücksichtigten, ist die Veränderung der MPA-Bildung über die Zeit. Aus der Literatur geht hervor, dass mit zunehmender Dauer der Verarbeitung in der Analyse der MPA mit einer artifiziellen Erhöhung der MPA-Bildung zu rechnen ist [87, 89, 90]. Laut dem aktuellen Stand der Literatur soll Verarbeitung innerhalb der ersten 2h bzw. innerhalb der ersten Stunde nach der Blutentnahme erfolgen [89, 90]. Als Zeitrahmen für die Analyse der Blutproben unserer Patienten setzten wir ebenfalls 2h fest.

Aufgrund von Faktoren wie dem Ausfall des IT-Systems des Universitätsklinikum Düsseldorf, und Entlassungen gegen ärztlichen Rat konnten wir keine Vollständigkeit unserer Daten erreichen. Diese Tatsache limitiert unsere Ergebnisse in einem unbestimmten Ausmaß. Da sich unsere Daten aber gut in den Literatur Kontext einordnen lassen spricht für die Plausibilität unserer Ergebnisse.

4.6 Schlussfolgerung

In unserer Arbeit zeigten wir, dass erhöhte MPA und insbesondere die *intermediate* MPA mit Parametern assoziiert sind, die nach einem STEMI für einen schwereren Infarkt und einer verminderten kardialen Funktion sprechen. Aus unserer Arbeit können zwei interessante Punkte abgeleitet werden.

Die Interaktion und die Komplexbildung von Thrombozyten und Monozyten sowie die Auswirkung auf die inflammatorische Reaktion muss weiter untersucht werden. Nach wie vor ist unklar, ob und in welchem Ausmaß die Bildung von MPA die inflammatorische Reaktion im Myokard beeinflusst. Durch weitere Untersuchungen kann die Fragestellung bearbeitet werden, ob Bindungsstellen für die Komplexbildung von Thrombozyten und Monozyten als Zielstrukturen für eine zielgerichtete Therapie dienen könnten.

Der zweite interessante Aspekt, welcher sich aus unserer Arbeit ableiten lässt, ist die Bedeutung von MPA als diagnostischer Parameter mit prognostischer Aussagekraft. Um MPA als diagnostischen Marker valide nutzen zu können, müssen aber zuerst einheitliche Protokolle zur Analyse von MPA etabliert werden. Besonders hinsichtlich des zeitlichen Rahmens der Analyse und der Aufbereitung der Zellen würden einheitliche Protokolle zu einer besseren Vergleichbarkeit führen. Allerdings zeigte eine Arbeit von Zhou et al. mit der Analyse eines längeren Follow-up bereits vielversprechende Ergebnisse mit

prognostischen Aussagen getroffen werden können [47]. Um die Messung von MPA als diagnostischen Parameter zur Identifikation einer Risikogruppe zu nutzen sind nach der Optimierung und Vereinheitlichung des Protokolls weitere Arbeiten mit Langzeitergebnissen notwendig.

Die Kernaussage unserer Arbeit lautet, dass eine vermehrte Aggregation von Thrombozyten mit *intermediate monocytes* nach einem Myokardinfarkt mit einem größeren Infarktareal, einer schlechteren linksventrikulären Funktion und einer insgesamt gesteigerten Inflammationsreaktion einhergeht.

5 Literaturverzeichnis

1. Writing Group, M., et al., *Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association*. Circulation, 2016. **133**(4): p. e38-360.
2. Townsend, N., et al., *Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016*. Eur Heart J, 2016. **37**(42): p. 3232-3245.
3. Bundesamt, S., *Statistisches Jahrbuch 2019*. 2019, Statistisches Bundesamt. p. 715.
4. Visseren, F.L.J., et al., *2021 ESC Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: Developed by the Task Force for cardiovascular disease prevention in clinical practice with representatives of the European Society of Cardiology and 12 medical societies With the special contribution of the European Association of Preventive Cardiology (EAPC)*. Rev Esp Cardiol (Engl Ed), 2022. **75**(5): p. 429.
5. Libby, P., *The changing landscape of atherosclerosis*. Nature, 2021. **592**(7855): p. 524-533.
6. Libby, P., *Mechanisms of acute coronary syndromes*. N Engl J Med, 2013. **369**(9): p. 883-4.
7. Byrne, R.A., et al., *2023 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes*. Eur Heart J Acute Cardiovasc Care, 2024. **13**(1): p. 55-161.
8. Thygesen, K., et al., *Fourth universal definition of myocardial infarction (2018)*. Eur Heart J, 2019. **40**(3): p. 237-269.
9. Vrints, C., et al., *2024 ESC Guidelines for the management of chronic coronary syndromes*. Eur Heart J, 2024. **45**(36): p. 3415-3537.
10. Kastrati, A., et al., *Meta-analysis of randomized trials on drug-eluting stents vs. bare-metal stents in patients with acute myocardial infarction*. Eur Heart J, 2007. **28**(22): p. 2706-13.
11. Sabate, M., et al., *Clinical outcomes in patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with everolimus-eluting stents versus bare-metal stents (EXAMINATION): 5-year results of a randomised trial*. Lancet, 2016. **387**(10016): p. 357-366.
12. Wiviott, S.D., et al., *Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes*. N Engl J Med, 2007. **357**(20): p. 2001-15.
13. Wallentin, L., et al., *Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes*. N Engl J Med, 2009. **361**(11): p. 1045-57.
14. Antithrombotic Trialists, C., et al., *Aspirin in the primary and secondary prevention of vascular disease: collaborative meta-analysis of individual participant data from randomised trials*. Lancet, 2009. **373**(9678): p. 1849-60.
15. Chew, D.S., et al., *Change in Left Ventricular Ejection Fraction Following First Myocardial Infarction and Outcome*. JACC Clin Electrophysiol, 2018. **4**(5): p. 672-682.
16. Zhang, S., et al., *The optimal definition and prediction nomogram for left ventricular remodelling after acute myocardial infarction*. ESC Heart Fail, 2023. **10**(5): p. 2955-2965.
17. Furtado, R.H.M., et al., *Long-term mortality after acute coronary syndromes among patients with normal, mildly reduced, or reduced ejection fraction*. ESC Heart Fail, 2023. **10**(1): p. 442-452.
18. Zhang, S.-Z., et al., *Association of platelet-monocyte aggregates with platelet activation, systemic inflammation, and myocardial injury in patients with non-st elevation acute coronary syndromes*. Clinical Cardiology, 2007. **30**(1): p. 26-31.

19. Ibanez, B., et al., *Cardiac MRI Endpoints in Myocardial Infarction Experimental and Clinical Trials: JACC Scientific Expert Panel*. J Am Coll Cardiol, 2019. **74**(2): p. 238-256.
20. Pontone, G., et al., *Prognostic Stratification of Patients With ST-Segment–Elevation Myocardial Infarction (PROSPECT)*. Circulation: Cardiovascular Imaging, 2017. **10**(11).
21. Eeckhout, E. and M.J. Kern, *The coronary no-reflow phenomenon: a review of mechanisms and therapies*. Eur Heart J, 2001. **22**(9): p. 729-39.
22. Niccoli, G., et al., *Coronary microvascular obstruction in acute myocardial infarction*. Eur Heart J, 2016. **37**(13): p. 1024-33.
23. Nijveldt, R., et al., *Assessment of Microvascular Obstruction and Prediction of Short-term Remodeling after Acute Myocardial Infarction: Cardiac Imaging Study I*. Radiology, 2009. **250**.
24. Hamirani, Y.S., et al., *Effect of microvascular obstruction and intramyocardial hemorrhage by CMR on LV remodeling and outcomes after myocardial infarction: a systematic review and meta-analysis*. JACC Cardiovasc Imaging, 2014. **7**(9): p. 940-52.
25. Mayr, A., et al., *Cardiac troponin T and creatine kinase predict mid-term infarct size and left ventricular function after acute myocardial infarction: a cardiac MR study*. J Magn Reson Imaging, 2011. **33**(4): p. 847-54.
26. Hartman, M.H.T., et al., *The contemporary value of peak creatine kinase-MB after ST-segment elevation myocardial infarction above other clinical and angiographic characteristics in predicting infarct size, left ventricular ejection fraction, and mortality*. Clinical Cardiology, 2017. **40**(5): p. 322-328.
27. Costa, T.N., et al., *Comparison of MB fraction of creatine kinase mass and troponin I serum levels with necropsy findings in acute myocardial infarction*. Am J Cardiol, 2008. **101**(3): p. 311-4.
28. Sheikh, A.S., et al., *C-reactive Protein as a Predictor of Adverse outcome in Patients with Acute Coronary Syndrome*. Heart Views, 2012. **13**(1): p. 7-12.
29. Reindl, M., et al., *Relation of inflammatory markers with myocardial and microvascular injury in patients with reperfused ST-elevation myocardial infarction*. European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care, 2017. **6**(7): p. 640-649.
30. Pape, H.K., A.; Silbernagel, S., *Physiologie*. Vol. 9. 2019, Stuttgart: Themie.
31. Arslan, F., D.P. de Kleijn, and G. Pasterkamp, *Innate immune signaling in cardiac ischemia*. Nat Rev Cardiol, 2011. **8**(5): p. 292-300.
32. Beg, A.A., *Endogenous ligands of Toll-like receptors: implications for regulating inflammatory and immune responses*. Trends Immunol, 2002. **23**(11): p. 509-12.
33. Frantz, S., G. Ertl, and J. Bauersachs, *Mechanisms of Disease: Toll-like receptors in cardiovascular disease*. Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine, 2007. **4**(8): p. 444-454.
34. Frangogiannis, N., *The immune system and cardiac repair*. Pharmacological Research, 2008. **58**(2): p. 88-111.
35. Prabhu, S.D. and N.G. Frangogiannis, *The Biological Basis for Cardiac Repair After Myocardial Infarction*. Circulation Research, 2016. **119**(1): p. 91-112.
36. Murphy, K.W., Casey, *Die induzierten Reaktionen der angeborenen Immunität*. 2018, Springer Berlin Heidelberg. p. 96-164.
37. Ghattas, A., et al., *Monocytes in coronary artery disease and atherosclerosis: where are we now?* J Am Coll Cardiol, 2013. **62**(17): p. 1541-51.
38. Swirski, F.K. and M. Nahrendorf, *Leukocyte behavior in atherosclerosis, myocardial infarction, and heart failure*. Science, 2013. **339**(6116): p. 161-6.

39. Ziegler-Heitbrock, L., et al., *Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood*. Blood, 2010. **116**(16): p. e74-80.
40. Coillard, A. and E. Segura, *In vivo Differentiation of Human Monocytes*. Front Immunol, 2019. **10**: p. 1907.
41. van der Laan, A.M., et al., *Monocyte subset accumulation in the human heart following acute myocardial infarction and the role of the spleen as monocyte reservoir*. Eur Heart J, 2014. **35**(6): p. 376-85.
42. Swirski, F.K., et al., *Identification of splenic reservoir monocytes and their deployment to inflammatory sites*. Science, 2009. **325**(5940): p. 612-6.
43. Dutta, P. and M. Nahrendorf, *Monocytes in myocardial infarction*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2015. **35**(5): p. 1066-70.
44. Nahrendorf, M., et al., *The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions*. J Exp Med, 2007. **204**(12): p. 3037-47.
45. Tsujioka, H., et al., *Impact of heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets on myocardial salvage in patients with primary acute myocardial infarction*. J Am Coll Cardiol, 2009. **54**(2): p. 130-8.
46. van der Laan, A.M., et al., *A proinflammatory monocyte response is associated with myocardial injury and impaired functional outcome in patients with ST-segment elevation myocardial infarction: monocytes and myocardial infarction*. Am Heart J, 2012. **163**(1): p. 57-65 e2.
47. Zhou, X., et al., *The Kinetics of Circulating Monocyte Subsets and Monocyte-Platelet Aggregates in the Acute Phase of ST-Elevation Myocardial Infarction: Associations with 2-Year Cardiovascular Events*. Medicine (Baltimore), 2016. **95**(18): p. e3466.
48. Tapp, L.D., et al., *The CD14++CD16+ monocyte subset and monocyte-platelet interactions in patients with ST-elevation myocardial infarction*. Journal of Thrombosis and Haemostasis, 2012. **10**(7): p. 1231-1241.
49. Bergmeier, W., et al., *The role of platelet adhesion receptor GPIIb/IIIa far exceeds that of its main ligand, von Willebrand factor, in arterial thrombosis*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2006. **103**(45): p. 16900-16905.
50. Varga-Szabo, D., I. Pleines, and B. Nieswandt, *Cell adhesion mechanisms in platelets*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2008. **28**(3): p. 403-12.
51. Davi, G. and C. Patrono, *Platelet Activation and Atherothrombosis*. New England Journal of Medicine, 2007. **357**(24): p. 2482-2494.
52. Asada, Y., et al., *Thrombus Formation and Propagation in the Onset of Cardiovascular Events*. Journal of Atherosclerosis and Thrombosis, 2018. **25**(8): p. 653-664.
53. Gawaz, M., *Platelets in inflammation and atherogenesis*. Journal of Clinical Investigation, 2005. **115**(12): p. 3378-3384.
54. Tanguay, J.F., et al., *Prevention of in-stent restenosis via reduction of thrombo-inflammatory reactions with recombinant P-selectin glycoprotein ligand-1*. Thromb Haemost, 2004. **91**(6): p. 1186-93.
55. Nieswandt, B., C. Kleinschnitz, and G. Stoll, *Ischaemic stroke: a thrombo-inflammatory disease?* J Physiol, 2011. **589**(17): p. 4115-23.
56. Finsterbusch, M., et al., *Measuring and interpreting platelet-leukocyte aggregates*. Platelets, 2018. **29**(7): p. 677-685.
57. Rinder, H., et al., *Dynamics of leukocyte-platelet adhesion in whole blood*. Blood, 1991. **78**(7): p. 1730-1737.
58. Ahn, K.C., et al., *Preferential binding of platelets to monocytes over neutrophils under flow*. Biochem Biophys Res Commun, 2005. **329**(1): p. 345-55.

59. Weyrich, A.S., et al., *Activated platelets signal chemokine synthesis by human monocytes*. Journal of Clinical Investigation, 1996. **97**(6): p. 1525-1534.
60. Neumann, F.J., et al., *Induction of cytokine expression in leukocytes by binding of thrombin-stimulated platelets*. Circulation, 1997. **95**(10): p. 2387-94.
61. Dib, P.R.B., et al., *Innate immune receptors in platelets and platelet-leukocyte interactions*. J Leukoc Biol, 2020. **108**(4): p. 1157-1182.
62. Martins, P.A.D.C., et al., *Platelet binding to monocytes increases the adhesive properties of monocytes by up-regulating the expression and functionality of $\beta₁$ and $\beta₂$ integrins*. Journal of Leukocyte Biology, 2006. **79**(3): p. 499-507.
63. Allen, N., et al., *Circulating monocyte-platelet aggregates are a robust marker of platelet activity in cardiovascular disease*. Atherosclerosis, 2019. **282**: p. 11-18.
64. Furman, M.I., et al., *Circulating monocyte-platelet aggregates are an early marker of acute myocardial infarction*. Journal of the American College of Cardiology, 2001. **38**(4): p. 1002-1006.
65. Michelson, A.D., et al., *Circulating Monocyte-Platelet Aggregates Are a More Sensitive Marker of in Vivo Platelet Activation Than Platelet Surface P-Selectin*. Circulation, 2001.
66. Sarma, J., et al., *Increased Platelet Binding to Circulating Monocytes in Acute Coronary Syndromes*. Circulation, 2002. **105**(18): p. 2166-2171.
67. Starz, C., et al., *Elevated platelet-leukocyte complexes are associated with, but dispensable for myocardial ischemia-reperfusion injury*. Basic Research in Cardiology, 2022. **117**(1).
68. Aurigemma, C., et al., *Persistent enhanced platelet activation in patients with acute myocardial infarction and coronary microvascular obstruction: clinical implications*. Thromb Haemost, 2014. **111**(1): p. 122-30.
69. Bosch, X., et al., *Monocyte Subsets Are Differently Associated with Infarct Size, Left Ventricular Function, and the Formation of a Potentially Arrhythmogenic Scar in Patients with Acute Myocardial Infarction*. Journal of Cardiovascular Translational Research, 2020. **13**(5): p. 722-730.
70. Rogacev, K.S., et al., *CD14++CD16+ monocytes independently predict cardiovascular events: a cohort study of 951 patients referred for elective coronary angiography*. J Am Coll Cardiol, 2012. **60**(16): p. 1512-20.
71. Shantsila, E. and G.Y. Lip, *Monocytes in acute coronary syndromes*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2009. **29**(10): p. 1433-8.
72. Stenberg, P.E., et al., *A platelet alpha-granule membrane protein (GMP-140) is expressed on the plasma membrane after activation*. Journal of Cell Biology, 1985. **101**(3): p. 880-886.
73. Shantsila, E. and G.Y. Lip, *The role of monocytes in thrombotic disorders. Insights from tissue factor, monocyte-platelet aggregates and novel mechanisms*. Thromb Haemost, 2009. **102**(5): p. 916-24.
74. Elalamy, I., et al., *Circulating platelet-leukocyte aggregates: a marker of microvascular injury in diabetic patients*. Thromb Res, 2008. **121**(6): p. 843-8.
75. Kaplar, M., et al., *The possible association of in vivo leukocyte-platelet heterophilic aggregate formation and the development of diabetic angiopathy*. Platelets, 2001. **12**(7): p. 419-22.
76. Danenberg, H.D., et al., *C-reactive protein promotes monocyte?platelet aggregation: an additional link to the inflammatory-thrombotic intricacy*. European Journal of Haematology, 2007. **78**(3): p. 246-252.
77. Passacuale, G., et al., *Monocyte-Platelet Interaction Induces a Pro-Inflammatory Phenotype in Circulating Monocytes*. PLoS ONE, 2011. **6**(10): p. e25595.

78. Kossmann, H., et al., *Monocyte-platelet aggregates affect local inflammation in patients with acute myocardial infarction*. Int J Cardiol, 2019. **287**: p. 7-12.
79. Loguinova, M., et al., *Monocytes of Different Subsets in Complexes with Platelets in Patients with Myocardial Infarction*. Thromb Haemost, 2018. **118**(11): p. 1969-1981.
80. Levinas, T., et al., *Differentiating ischemic from non-ischemic chest pain using white blood cell-surface inflammatory and coagulation markers*. Journal of Thrombosis and Thrombolysis, 2012. **34**(2): p. 235-243.
81. Ren, F., et al., *Increased Platelet-leukocyte Aggregates Are Associated With Myocardial No-reflow in Patients With ST Elevation Myocardial Infarction*. Am J Med Sci, 2016. **352**(3): p. 261-6.
82. Czepluch, F.S., et al., *Increased proatherogenic monocyte-platelet cross-talk in monocyte subpopulations of patients with stable coronary artery disease*. Journal of Internal Medicine, 2014. **275**(2): p. 144-154.
83. Chung, S., et al., *Impact of white blood cell count on myocardial salvage, infarct size, and clinical outcomes in patients undergoing primary percutaneous coronary intervention for ST-segment elevation myocardial infarction: a magnetic resonance imaging study*. The International Journal of Cardiovascular Imaging, 2014. **30**(1): p. 129-136.
84. Palmerini, T., et al., *Impact of Leukocyte Count on Mortality and Bleeding in Patients With Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Interventions*. Circulation, 2011. **123**(24): p. 2829-2837.
85. Michelson, A.D., et al., *In vivo tracking of platelets: circulating degranulated platelets rapidly lose surface P-selectin but continue to circulate and function*. Proceedings of the National Academy of Sciences, 1996. **93**(21): p. 11877-11882.
86. Solomon, S.D., et al., *Changes in Ventricular Size and Function in Patients Treated With Valsartan, Captopril, or Both After Myocardial Infarction*. Circulation, 2005. **111**(25): p. 3411-3419.
87. Harding, S.A., et al., *Flow cytometric analysis of circulating platelet-monocyte aggregates in whole blood: methodological considerations*. Thromb Haemost, 2007. **98**(2): p. 451-6.
88. Li, N., A.H. Goodall, and P. Hjerdahl, *A sensitive flow cytometric assay for circulating platelet-leucocyte aggregates*. British Journal of Haematology, 1997. **99**(4): p. 808-816.
89. Ji, W.J., et al., *The influence of different anticoagulants and time-delayed sample processing and measurements on human monocyte subset and monocyte-platelet aggregate analyses*. Cytometry B Clin Cytom, 2017. **92**(5): p. 371-379.
90. Shantsila, E., et al., *The effects of exercise and diurnal variation on monocyte subsets and monocyte-platelet aggregates*. Eur J Clin Invest, 2012. **42**(8): p. 832-9.

Danksagung:

An dieser Stelle möchte ich den nachfolgenden Personen meinen herzlichen Dank aussprechen, ohne deren Unterstützung ich diese Dissertationsschrift nicht hätte durchführen und abschließen können.

Mein Dank gilt zunächst dem Klinikdirektor Prof. Malte Kelm, dafür dass ich meine Promotion in der Klinik für Kardiologie durchführen konnte. Zudem möchte ich meinem Doktorvater Prof. Florian Bönner herzlich für die Betreuung und die inhaltlichen und fachlichen Anregungen bedanken. Außerdem möchte ich mich bei Dr. Fabian Nienhaus bedanken, der durch seine Betreuung die praktische und tatsächliche Umsetzung der Arbeit im Labor organisiert hat und durch viele Gespräche und Ideen deren Umsetzung begleitete. Ich möchte auch dem gesamten Team des kardiologischen Forschungslabor unter Prof. Norbert Gerdes danken, die mir immer wieder kleinere Fragen freundlich beantwortet haben und stets mit Hilfe zur Seite standen. Zum Schluss möchte ich mich bei meiner Familie bedanken insbesondere bei meinen Eltern die mir das Studium ermöglicht haben und bei meiner Frau Sophie die mir immer zur Seite steht.