

Aus der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin B
Direktor Univ.-Prof. Dr. med. Stephan Felix
der Medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

**Inflammatorische und antiinflammatorische Phänomene bei
Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris sowie
akutem Myokardinfarkt**

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Medizin

(Dr. med.)

der

Medizinischen Fakultät

der

Ernst-Moritz-Arndt-Universität

Greifswald

2005

vorgelegt von: Hilmar Kleinau

geb. am: 28.02.1968

in: Berlin

Dekan:	Prof. Dr. rer. nat. Kroemer
1. Gutachter:	Prof. Dr. med. Felix (EMAU, Greifswald)
2. Gutachter:	Prof. Dr. med. Neumayer (HU, Berlin)
Datum der Disputation:	27.09.2005

Inhalt

1.	Übersicht	1
2.	Einleitung	2
2.1.	Problemstellung	2
2.2.	Interaktionen von Leukozyten und Endothelzellen im Rahmen einer Entzündungsreaktion	3
2.2.1.	Zellen der Entzündungsreaktion	3
2.2.2.	Zellaktivierung und Adhäsion	3
2.2.3.	Transendotheliale Migration und Chemotaxis	7
2.2.4.	Leukozytäre Effektormechanismen	7
2.2.5.	Akutphasereaktion	7
2.2.6.	Regulation einer Entzündung	8
2.3.	Zellen und Aktivierungsmarker des Immunsystems	12
2.3.1.	Antigenunspezifische Reaktionen	12
2.3.2.	Antigenspezifische Reaktionen	15
2.4.	Reaktionswege und immunmodulatorische Aspekte der Streßreaktion	17
2.4.1.	Das hypothalamo-hypophysär-adrenale System	17
2.4.2.	Das autonome Nervensystem	19
2.4.3.	Streßassoziierte Aspekte des akuten Myokardinfarktes	22
2.5.	Entzündungsassoziierte Aspekte der Koronaren Herzkrankheit	24
2.5.1.	Atherogenese	24
2.5.2.	Plaquestabilisierung / Plaqueruptur	26
2.5.3.	Ischämie und Reperfusion	27
3.	Fragestellung	30
4.	Patienten und klinische Untersuchungen	31
4.1.	Patienten	31
4.1.1.	Einschlußkriterien	32
4.1.2.	Ausschlußkriterien	32
4.2.	Klinische Untersuchungen	34

5.	Material und Methoden	35
5.1.	Material	35
5.1.1.	Chemikalien und biologische Materialien	35
5.1.2.	Verbrauchsmaterialien	37
5.1.3.	Meß- und Arbeitsgeräte sowie Software	37
5.2.	Methoden	38
5.2.1.	Probenverarbeitung	38
5.2.2.	Zytokinfreisetzung in Vollblutkulturen	39
5.2.3.	Durchflußzytometrische Phänotypisierung von Leukozyten / FACS	39
5.2.4.	Messung der Plasmakonzentration von Zytokinen und löslichen Adhäsionsmolekülen	40
5.2.5.	Leukozytenzählung	41
5.2.6.	Differentialblutbild	41
5.2.7.	Statistik	41
6.	Ergebnisse	42
6.1.	Klinische Ergebnisse	42
6.1.1.	Koronarangiographie und PTCA	42
6.1.2.	Linksventrikuläre Funktion	42
6.1.3.	Myokardenzyme	43
6.2.	Quantitatives Verhalten von Leukozytenpopulationen	44
6.3.	HLA-DR-Expression auf Monozyten	49
6.4.	Plasmakonzentrationen von IL-10, TNF- α und IL-6	50
6.5.	LPS-induzierte TNF- α -Produktion in vitro	52
6.6.	Aktivierungsmarker auf CD4+T-Zellen	53
6.7.	Adhäsionsmoleküle auf Phagozyten	53
6.8.	LPS/LBP-Rezeptor auf Monozyten	56
6.9.	Fc γ -Rezeptoren auf Phagozyten	57
6.10.	Plasmakonzentrationen löslicher Adhäsionsmoleküle	60
6.11.	Plasmakonzentrationen von Kortisol	62

7.	Diskussion	63
7.1.	Rekrutierung und Umverteilung von Leukozytenpopulationen in den zirkulierenden Pool beim akuten Myokardinfarkt	63
7.2.	Reduzierte Absolutzahlen von CD4+T-Zellen und CD25+T-Zellen beim akuten Myokardinfarkt	65
7.3.	Reduzierte HLA-DR-Expression auf Monozyten beim akuten Myokardinfarkt	66
7.4.	Erhöhte Plasmaspiegel von IL-10 und TNF- α beim akuten Myokardinfarkt	67
7.5.	Erhöhte in-vitro-Produktion von TNF- α bei stabiler und instabiler Angina pectoris, demgegenüber Reduktion beim akuten Myokardinfarkt	69
7.6.	Erhöhte Plasmaspiegel von IL-6 beim akuten Myokardinfarkt	69
7.7.	Expression von Adhäsionsmolekülen bei KHK-Patienten	70
7.7.1.	L-Selektin	70
7.7.2.	β 2-Integrine	71
7.7.3.	ICAM-1	72
7.8.	Plasmakonzentrationen löslicher Adhäsionsmoleküle bei KHK-Patienten	73
7.8.1.	sL-Selektin	73
7.8.2.	sP-Selektin	74
7.8.3.	sE-Selektin	75
7.8.4.	sCD58	76
7.9.	Reduzierte phagozytäre Expression von Fc γ -Rezeptoren bei KHK-Patienten, insbesondere beim akuten Myokardinfarkt	77
7.9.1.	CD16	77
7.9.2.	CD32	78
7.9.3.	CD64	79
7.10.	Reduzierte phagozytäre Expression des LPS/LBP-Rezeptors bei KHK-Patienten	80
8.	Zusammenfassung	82
8.1.	Zeichen einer Streßreaktion bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt	82
8.2.	Zeichen einer Entzündungsreaktion beim akuten Myokardinfarkt	82
8.3.	Zeichen einer verstärkten antiinflammatorischen Gegenregulation bzw. streßbedingten Immunmodulation beim akuten Myokardinfarkt	83
8.4.	Hinweise auf eine chronische Entzündungsreaktion bei KHK-Patienten	83
8.5.	Hinweise auf eine Akzelleration der Entzündungsreaktion bei Patienten mit instabiler Angina pectoris	84
8.6.	Schlußfolgerungen und weiterführende Untersuchungen	84
9.	Literatur	86

Verzeichnis der verwendeten Tabellen und Abbildungen

Tabellen

Tab. 1: Übersicht über eine Auswahl zellulärer Adhäsionsmoleküle	10
Tab. 2: Übersicht über eine Auswahl von Zytokinen / Chemokinen	11
Tab. 3: Patienten und Kontrollprobanden	31
Tab. 4: Bezugsquellen	35
Tab. 5: Lösungen, Puffer und Kulturmedien	35
Tab. 6: Konjugierte monoklonale Antikörper	36
Tab. 7: Enzymimmunoassays	36
Tab. 8: Verbrauchsmaterialien	37
Tab. 9: Meß- und Arbeitsgeräte	37
Tab. 10: Software	37
Tab. 11: Zusammensetzung der Antikörpersuspensionen	38
Tab. 12: Kulturansätze für in-vitro-Stimulationstests	39
Tab. 13: LVEF von KHK-Patienten	42
Tab. 14: LVEDP von KHK-Patienten	43
Tab. 15: Absolutzahlen eosinophiler und basophiler Granulozyten sowie Gesamtlymphozytenzahl, Gruppenvergleich	47
Tab. 16: TNF- α -Produktion im LPS-freien Kulturmedium (Kontrolle), Gruppenvergleich	52
Tab. 17: Relativ- und Absolutzahl CD11a-positiver CD4+T-Zellen, Gruppenvergleich	53
Tab. 18: β 2-Integrine auf Phagozyten, Gruppenvergleich	53
Tab. 19: L-Selektin auf Monozyten, Gruppenvergleich	54
Tab. 20: Plasmakonzentration von löslichem E-Selektin, Gruppenvergleich	61

Abbildungen

Abb. 1: Leukozytenzahl, Gruppenvergleich	44
Abb. 2: Leukozytenzahl, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	44
Abb. 3: Neutrophile, Gruppenvergleich	44
Abb. 4: Neutrophile, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	44
Abb. 5: Segmentkernige, Gruppenvergleich	45
Abb. 6: Segmentkernige, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	45
Abb. 7: Stabkernige, Gruppenvergleich	45
Abb. 8: Stabkernige, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	45
Abb. 9: Subpopulationen Neutrophile, Gruppenvergleich	46
Abb. 10: Subpopulationen Neutrophile, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	46
Abb. 11: Monozyten, Gruppenvergleich	46
Abb. 12: Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	46
Abb. 13: NK-Zellen, Gruppenvergleich	47
Abb. 14: NK-Zellen, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	47
Abb. 15: CD4+T-Zellen, Gruppenvergleich	48
Abb. 16: CD4+T-Zellen, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	48
Abb. 17: CD25+T-Zellen, Gruppenvergleich	48
Abb. 18: CD25+T-Zellen, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	48
Abb. 19: HLA-DR auf Monozyten, Gruppenvergleich	49
Abb. 20: HLA-DR auf Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	49

Abb. 21: IL-10, Gruppenvergleich	50
Abb. 22: IL-10, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	50
Abb. 23: TNF- α (Plasma), Gruppenvergleich	51
Abb. 24: IL-6, Gruppenvergleich	51
Abb. 25: LPS-induzierte TNF- α -Produktion, Gruppenvergleich	52
Abb. 26: LPS-induzierte TNF- α -Produktion, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	52
Abb. 27: CD 11b (IOM1) auf Granulozyten, Gruppenvergleich	54
Abb. 28: CD 11b (IOM1) auf Monozyten, Gruppenvergleich	54
Abb. 29: L-Selektin auf Granulozyten, Gruppenvergleich	54
Abb. 30: L-Selektin auf Granulozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	54
Abb. 31: ICAM-1 auf Granulozyten, Gruppenvergleich	55
Abb. 32: ICAM-1 auf Granulozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	55
Abb. 33: ICAM-1 auf Monozyten, Gruppenvergleich	55
Abb. 34: ICAM-1 auf Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	55
Abb. 35: CD 14 auf Monozyten, Gruppenvergleich	56
Abb. 36: CD 14 auf Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	56
Abb. 37: CD 16 auf Granulozyten, Gruppenvergleich	57
Abb. 38: CD 16 auf Granulozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	57
Abb. 39: CD 16 auf Monozyten, Gruppenvergleich	57
Abb. 40: CD 16 auf Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	57
Abb. 41: CD 32 auf Granulozyten, Gruppenvergleich	58
Abb. 42: CD 32 auf Granulozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	58
Abb. 43: CD 32 auf Monozyten, Gruppenvergleich	58
Abb. 44: CD 32 auf Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	58
Abb. 45: CD 64 auf Granulozyten, Gruppenvergleich	59
Abb. 46: CD 64 auf Granulozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	59
Abb. 47: CD 64 auf Monozyten, Gruppenvergleich	59
Abb. 48: CD64 auf Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R	59
Abb. 49: sL-Selektin, Gruppenvergleich	60
Abb. 50: sP-Selektin, Gruppenvergleich	60
Abb. 51: sCD58, Gruppenvergleich	61
Abb. 52: Kortisol, Gruppenvergleich	62

Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen

ACTH	adrenocorticotropic hormone
AMI	acute myocardial infarction
ANS	autonomes Nervensystem
ARDS	adult respiratory distress syndrome
C	complement
CCS	Canadian Cardiologic Society
CD	cluster of differentiation
CD4+T-Zellen	CD4-positive T-Lymphozyten
CK	Kreatinkinase
CP	Chlamydia pneumoniae
CR	complement receptor
CRH	corticotropine releasing hormone
CRP	C-reaktives Protein
ELISA	enzyme linked immunosorbent assay
FACS	fluorescent activated cell sorter
Fc	fragment crystallisable
Fc γ RI-III	Fc-gamma-Rezeptoren I-III
G-CSF	granulocyte colony stimulating factor
GM-CSF	granulocte-macrophage colony stimulating factor
gp	glycoprotein
HLA	human leucocyte antigen
HPA	hypothalamo-pituitary-adrenal
hsp	heat shock protein
ICAM	intercellular adhesion molecule
IFN	Interferon
IL	Interleukin
KHK	Koronare Herzkrankheit
L	Leukotrien
LFA-1	lymphocyte function-assotiated antigen 1
LPB	lipopolysaccharide binding protein
LPS	Lipopolysaccharid
LVEDP	linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MAC-1	macrophage antigen 1
mRNA	messenger-RNA
NK	natural killer
NYHA	New Yorck Heart Association
oxLDL	oxydized low density lipoprotein
PAF	platelet aggregating factor
PAVK	periphere arterielle Verschußkrankheit
PG	Prostaglandin
PMN	polymorphonuclear neutrophils
PTCA	perkutane transluminale Koronarangioplastie
SAA	Serumamyloid A
T4/T8-Ratio	Zahlenverhältnis CD4-positiver und CD8-positiver T-Lymphozyten
TH-1-, TH-2-Zellen	T-Helfer-Zellen, Typ 1 und 2
TNF	Tumornekrosefaktor

1. Übersicht

Grundlagen. Bei der Koronaren Herzkrankheit (KHK) wurden neben dem chronischen, proliferativ-entzündlichen Prozeß der Atherogenese auch akut entzündliche Vorgänge bei der Plaquestabilisierung sowie bei Ischämie und Reperfusion beschrieben. Hierauf zielende, therapeutisch-antiinflammatorische Interventionen sind Gegenstand intensiver Forschung. Sie erfordern begleitend eine Charakterisierung des physiologischen, inflammatorisch-antiinflammatorischen Gleichgewichts bei den einzelnen Manifestationsformen der KHK.

Methoden. Anhand eines breiten Spektrums leukozytärer Oberflächenmarker, löslicher Plasmafaktoren und eines in-vitro-Funktionstests wurden inflammatorische und antiinflammatorische Phänomene bei KHK-Patienten mit stabiler Angina pectoris (n=22), instabiler Angina pectoris (n=17) sowie akutem Myokardinfarkt (n=19) im Vergleich zu Kontrollprobanden (n=16) beschrieben. Einzelne Parameter wurden weiterhin bei einer Subgruppe der Infarktpatienten (n=5) zeitlich verfolgt.

Ergebnisse. Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigen eine signifikante Erhöhung der Plasmakonzentration von IL-6 sowie eine tendenzielle Erhöhung des TNF- α -Spiegels als Hinweis auf eine akute Inflammation. Weiterhin finden sich erhöhte Plasmakortisolspiegel als Marker einer Streßreaktion. Gleichzeitig kommt es beim Myokardinfarkt zu einer signifikanten, im Verlauf reversiblen Reduktion der monozytären HLA-DR-Expression, einem Phänomen der antiinflammatorischen Konversion von Monozyten. Entsprechend ist die LPS-induzierte in-vitro-Produktion von TNF- α in der Akutphase des Infarktes reduziert. Ein bei Infarktpatienten signifikanter IL-10-Anstieg kann als pathogenetisches Bindeglied zwischen Inflammation bzw. Streßreaktion und dem beobachteten antiinflammatorischen Phänomen angesehen werden. Im weiteren werden leukozytäre Rekrutierungsphänomene sowie veränderte Expressionsmuster leukozytärer Adhäsionsmoleküle und Fc γ -Rezeptoren ebenso wie die Plasmaspiegel löslicher Adhäsionsmoleküle in Bezug auf Inflammation und Antiinflammation bei KHK-Patienten dargestellt.

Schlußfolgerungen. Der überwiegende Teil der hier bei KHK-Patienten beobachteten immunologischen Phänomene ist als Resultat einer Inflammation zu erklären. Beim akuten Myokardinfarkt kommt es zur Überlagerung mit Phänomenen einer verstärkten antiinflammatorischen Gegenreaktion bzw. einer streßbedingten Immunmodulation. Eine klinische Einordnung dieser Beobachtungen erfordert weitergehende Untersuchungen.

2. Einleitung

2.1. Problemstellung

Komplexe Interaktionen von Leukozyten und Endothelzellen spielen eine zentrale Rolle in der Pathogenese der Koronaren Herzkrankheit (KHK) und ihrer akuten Komplikationen. Dabei stellen zelluläre Aktivierungs-, Adhäsions- und Migrationsvorgänge wichtige Schritte sowohl bei der Entstehung der arteriosklerotischen Läsion als auch bei der Auslösung der akuten ischämischen Ereignisse sowie ihrer Folgen dar.

Die Arteriosklerose wird demzufolge zunehmend als chronisch entzündliche Erkrankung betrachtet. Im Zusammenhang mit den Prozessen der Plaquestabilisierung und Plaqueruptur wurden akut entzündliche Veränderungen beschrieben. Ebenso führt die resultierende Ischämie und Reperfusion zu einer akuten Inflammation im Bereich der betroffenen Mikrozirkulation. Die hierbei beteiligten leukozytären und endothelialen Aktivierungsvorgänge wurden bereits umfassend untersucht.

Beim Myokardinfarkt ist eine ausgeprägte neuroendokrine Aktivierung als Ausdruck einer akuten Streßreaktion bekannt. Hierbei ist neben der durch entzündliche Prozesse ausgelösten antiinflammatorischen Gegenregulation auch eine streßinduzierte Immunmodulation zu erwarten. Derzeit existieren jedoch nur wenige Daten über Veränderungen des inflammatorisch-antiinflammatorischen Gleichgewichts bei den verschiedenen Manifestationsformen der KHK.

Die vorliegende Untersuchung sollte Veränderungen der Expression wichtiger leukozytärer Membranantigene bei Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris bzw. mit akutem Myokardinfarkt erfassen. Daneben wurden zur Beurteilung zellulärer Interaktionen die Plasmakonzentrationen löslicher Adhäsionsmoleküle gemessen. Zur Charakterisierung der Reaktionslage des Immunsystems wurden weiterhin die Plasmakonzentrationen proinflammatorischer (TNF- α , IL-6) sowie eines antiinflammatorischen (IL-10) Zytokins bestimmt. Zur Beurteilung der TNF- α -Bildungskapazität erfolgte ein in-vitro-Funktionstest.

2.2. Interaktion von Leukozyten und Endothel im Rahmen einer Entzündungsreaktion

Eine Entzündung ist die Gesamtheit der Gewebs- und Immunreaktionen zur Neutralisation einer Noxe. Pathologisch-anatomisch wird ein Entzündungsherd gekennzeichnet durch kapilläre Vasodilatation und Permeabilitätserhöhung mit erhöhter Perfusion und Exsudation von Plasmabestandteilen, daneben Adhärenz von Leukozyten an das Endothel und schließlich transendotheliale Migration und Gewebeeinfiltration der Leukozyten.

Entzündungsreaktionen haben unterschiedliche Auslösermechanismen. Zum einen können Noxen unmittelbar zur Aktivierung von Effektorzellen führen (z.B. Trauma, Hypoxie). Zum anderen kann eine Entzündung durch eine antigenspezifische Aktivierung des Immunsystems vermittelt sein (z. B. Virusinfektionen). In Abhängigkeit von der Fähigkeit des Immunsystems die auslösende Noxe zu eliminieren, können Entzündungen akut oder chronisch verlaufen.

2.2.1. Zellen der Entzündungsreaktion

Histologisch findet man bei jeder entzündlichen Reaktion ein leukozytäres Infiltrat, bestehend aus Granulozyten, mononukleären Phagozyten und Lymphozyten. Neben Leukozyten interagieren auch Thrombozyten, Endothelzellen, Fibroblasten und Parenchymzellen im Rahmen einer Entzündung.

2.2.2. Zellaktivierung und Adhäsion

Zentrales Ereignis jeder Entzündungsreaktion ist der Einstrom von Leukozyten in den Entzündungsherd. Hierbei sind folgende Phasen zu unterscheiden (1-3):

- Endothelaktivierung
- Selektin-vermitteltes “Rollen” von Leukozyten auf dem Endothel
- weitere Leukozytenaktivierung durch endothelständige chemotaktische Faktoren
- Integrin-vermittelte Adhärenz
- transendotheliale Migration der Leukozyten
- Chemotaxis zum Ort der Entzündung
- Freisetzung von Entzündungsmediatoren und anderen Effektoren

Zunächst wird eine Endothelaktivierung durch die von ortsständigen Entzündungszellen freigesetzten Mediatoren bzw. proinflammatorischen Zytokine vermittelt. Hiermit wird die Entzündung lokalisiert.

Auf aktivierten Endothelzellen wie auch auf Leukozyten werden verstärkt membranständige Adhäsionsmoleküle exprimiert. Interaktionen dieser Membranrezeptoren bedingen die nun folgende Anheftung von Leukozyten an das Endothel bzw. die nachfolgende Transmigration. Folgende Klassen von Adhäsionsmolekülen werden unterschieden (1):

2.2.2.1. Selektine

Die Selektinfamilie besteht aus kohlenhydratbindenden Glykoproteinen mit einer gemeinsamen Grundstruktur, u.a. einer extrazellulären lektinähnlichen Domäne (4, 5). Die Bindungsstellen ihrer Liganden sind dem Tetrasaccharid Sialyl Lewis X bzw. seinem Isomer Sialyl Lewis A verwandt. Eine Zellaktivierung führt zunächst zur vermehrten Membranexpression bzw. Affinitätserhöhung der Selektine. Sie vermitteln eine rasche, innerhalb von Millisekunden reversible Bindung von Leukozyten an das Endothel ("Rollen") und ermöglichen damit deren Wechselwirkung mit weiteren proadhäsiven Molekülen (z.B. chemotaktischen Faktoren). Nachfolgend kommt es zur proteolytischen Abspaltung der Selektine von der Zellmembran, so daß lösliche Formen nachweisbar werden (4, 5).

L-Selektin (LECAM, CD 62L): Das Molekül wird konstitutiv von Leukozyten exprimiert. Zytokine (z.B. TNF- α) und chemotaktische Faktoren (z.B. IL-8, C5a) bewirken eine Zunahme des L-Selektin-Bindungsvermögens durch Affinitätserhöhung. L-Selektin ist an der initialen Interaktion stimulierter Leukozyten mit Endothelzellen beteiligt. Endotheliale Bindungspartner sind MadCAM-1, CD34 sowie E-Selektin. Neben der Vermittlung einer Adhäsion an Endothelzellen kann die Ligandenbindung von L-Selektin ihrerseits eine weitere Leukozytenaktivierung bewirken. Nach der Aktivierung führt eine proteolytische Abspaltung ("shedding") innerhalb weniger Minuten zur Abnahme der Membranexpression von L-Selektin (5-7).

E-Selektin (ELAM-1, CD 62E): Stimulation von Endothelzellen durch inflammatorische Zytokine (z.B. TNF- α , IL-1) bewirkt eine Neusynthese des Moleküls. Dementsprechend benötigt die endotheliale Expression ca. 1 Stunde, sie erreicht ein Maximum nach 4-8 Stunden und hält 1-2 Tage an. Schließlich führen Endozytose und proteolytische Abspaltung zu einer Abnahme der Membranexpression. E-Selektin auf aktivierten Endothelzellen bewirkt eine Margination unstimulierter Leukozyten am Ort der Entzündung.

Leukozytäre Bindungspartner sind ESL-1, PSGL-1 sowie L-Selektin (4-8).

P-Selektin (GMP-140, CD 62P): Das Molekül liegt bereits präformiert in Endothelzellen und Thrombozyten vor. Entzündungsmediatoren (z.B. Thrombin, Histamin) und Zytokine (TNF- α , IL-1) bewirken eine Translokation auf die Zelloberfläche innerhalb von Sekunden bis Minuten. Nach 5-10 Minuten wird eine maximale endotheliale Expression erreicht. Innerhalb von weiteren 30-60 Minuten kommt es durch Endozytose und durch proteolytische Abspaltung zum Verschwinden des Moleküls von der Zelloberfläche. Die frühe P-Selektin-vermittelte Adhäsion unstimulierter Leukozyten an Endothelzellen scheint für eine effektive Interaktion mit chemotaktischen Faktoren (z.B. IL-8, PAF) notwendig zu sein. Thrombozytengebundenes P-Selektin ist an deren Interaktionen mit z.B. Granulozyten beteiligt. Leukozytärer Bindungspartner ist PSGL-1 (2, 4-7).

2.2.2.2. Chemokine

Chemokine sind chemotaktische Peptide mit Spezifität für unterschiedliche Leukozytenpopulationen (9). Einen klassischen Vertreter stellt das IL-8 dar. Nach Exposition mit TNF- α , IL-1 oder LPS wird es von Endothelzellen, Monozyten, T-Lymphozyten und Fibroblasten gebildet. IL-8 bleibt nach Sekretion zum Teil mit der Endothelzellmembran assoziiert und reagiert von hieraus mit Granulozyten, Monozyten und T-Zellen. Es resultiert u.a. eine verstärkte Expression bzw. Affinität leukozytärer Integrine (2, 8, 9).

2.2.2.3. Integrine

Integrine bilden eine Familie von Adhäsionsmolekülen, deren Expression und Aktivierung sehr rasch reguliert werden kann. Alle Integrine bestehen aus zwei Proteinketten, α und β , die in verschiedenen Varianten auftreten. Die Interaktionen zwischen Leukozyten und Endothelzellen werden u.a. durch die Untergruppe der leukozytären β 2-Integrine vermittelt. Ihre Expression wird vor allem durch chemotaktische Faktoren und Zytokine hochreguliert. Weiterhin wird das Adhäsionsvermögen durch schnelle Konformationsänderungen sowie örtliche Umverteilung der Integrine auf der Zellmembran erhöht (1, 2, 6, 7). Bindungspartner sind u.a. endotheliale Moleküle, die zur Immunglobulin-Superfamilie gehören. Hierdurch wird das bislang lockere "Rollen" in eine über Minuten stabile Adhärenz zwischen Leukozyten und Endothelzellen überführt (1).

LFA-1 (CD 11a/CD 18) wird konstitutiv auf allen Leukozyten exprimiert. Seine Affinität wird durch eine vorübergehende Konformationsänderung über ca. 30 Minuten erhöht (4, 8). Endothelialer Bindungspartner ist u.a. ICAM-1.

MAC-1 (CD 11b/CD 18, CR 3) wird 5-10 Minuten nach Aktivierung aus intrazellulären Granula von Granulozyten und Monozyten/Makrophagen auf die Zelloberfläche transloziert. Zusätzlich führen Konformationsänderungen zu einer erhöhten Affinität (10). Bindungspartner sind neben ICAM-1 auch Komplementkomponenten (iC3b) und Fibrinogen (6, 8).

gp150,95 (CD 11c/CD18, CR 4) wird auf Gewebsmakrophagen und Monozyten sowie Granulozyten exprimiert und bindet ebenfalls iC3b und Fibrinogen (6).

2.2.2.4. Immunglobulin-Superfamilie

Die endothelialen Bindungspartner der Leukozyten-Integrine zeigen eine Strukturhomologie mit Immunglobulinen.

ICAM-1 (CD 54) bindet LFA-1 und MAC-1. Das Molekül findet sich in geringem Ausmaße konstitutiv auf Endothelzellen. Zytokine (TNF- α , IL-1) verstärken die Expression (2, 6, 7). Die Proteinsynthese dauert 2-3 Stunden und erreicht ihr Maximum nach 12-24 Stunden (4). Zytokine wie IL-1 und IFN- γ induzieren die ICAM-1-Expression auch auf Monozyten.

LFA-3 (CD 58) wird von hämatopoetischen Zellen und Endothelzellen exprimiert. Über Bindung an seinen Liganden CD2 werden leukozytär-leukozytäre sowie leukozytär-endotheliale Adhäsionsvorgänge vermittelt. Unter anderem ist die Aktivierung von T-Zellen und NK-Zellen hiervon abhängig (4,11).

Zusammenfassend wird die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle v.a. durch inflammatorische Zytokine (z.B. TNF- α , IL-1) induziert. Die Auswanderung von Leukozyten beginnt mit einer Strömungsverlangsamung im Bereich der postkapillären Venolen, die als "Rollen" bezeichnet wird. Es wird vorrangig durch endotheliale Selektine gesteuert, die an Kohlenhydratketten von Membranmolekülen der Leukozyten binden. Diese noch instabile Leukozyten-Endothel-Interaktion wird durch Aktivierung der Leukozyten mit Affinitätszunahme der Integrine (bewirkt v.a. durch Chemokine) in einen stabilen Zellkontakt überführt. Bindungspartner der leukozytären Integrine sind endothelialen Moleküle, die zur Familie der Immunglobulin-Superfamilie gehören.

Das Expressionsmuster der Adhäsionsmoleküle repräsentiert hierbei den Aktivitätszustand der jeweiligen Zelle (1).

2.2.3. transendotheliale Migration und Chemotaxis

Als letzter Schritt wandern die Leukozyten durch transendotheliale Migration ins Gewebe aus. Dieser Prozeß wird wiederum durch chemotaktische Faktoren gesteuert. Chemotaktische Aktivität besitzen u.a einige Komplementkomponenten (C3a, C5a), Leukotriene (LB4), PAF, sowie Chemokine (IL-8).

2.2.4. leukozytäre Effektormechanismen

Hierzu zählen lysosomale Enzyme (z. B. Proteasen, Phospholipasen, Lipasen, Ribonukleasen) Entzündungsmediatoren (Eicosanoide, basische Proteine, Komplementfaktoren) und reaktive Sauerstoffspezies (O₂⁻, OH⁻, H₂O₂).

Viele dieser Substanzen sind intrazellulär gespeichert und können bei Aktivierung sehr rasch freigesetzt werden (v.a. Enzyme, z.T. als inaktive Vorstufen), andere werden nach Zellaktivierung vermehrt gebildet (12). Sämtliche Effektormechanismen zielen auf eine Beseitigung der entzündungsauslösenden Noxe (z.B. Mikroorganismen, Gewebnekrose). Aufgrund ihrer relativen Unspezifität (Enzyme, reaktive Sauerstoffspezies) werden jedoch stets auch körpereigene Strukturen angegriffen (13).

2.2.5. Akutphasereaktion

Die systemische Mitreaktion bei einer lokalen Entzündung wird u.a. durch die Zytokine IL-1, TNF- α sowie IL-6 vermittelt und umfaßt 3 Komplexe (14):

- 1) *Die Fieberreaktion* durch Induktion von PGE₂ im Temperaturregulationszentrum des Hypothalamus.
- 2) *Die endokrine Reaktion* mit Stimulation der hypophysären ACTH-Produktion.
- 3) *Die hepatische Akutphasereaktion*. Hierbei kommt es u.a. zu einer Umstellung der hepatischen Proteinsynthese. So vermitteln IL-1 und TNF- α eine Erhöhung von CRP und Komplementkomponenten. IL-6 bewirkt einen Anstieg von Fibrinogen und Antiproteasen.

2.2.6. Regulation einer Entzündung

2.2.6.1. Aktivierung

Eine Schlüsselrolle nehmen hierbei die Zytokine ein. Als Zytokine werden Polypeptide definiert, die vorwiegend von Zellen des Immunsystems gebildet werden, die Aktivierung dieser Zellen steuern und an vielen Effektorfunktionen des Immunsystems (u.a. der Entzündungsreaktion) beteiligt sind. Entsprechend werden einige von den heute mehr als 40 bekannten Zytokinen auch als "proinflammatorische Zytokine" zusammengefaßt (7). Hierzu zählen u.a. TNF- α , IL-1, IL-6 und IL-8. Die zentrale Stellung der vorwiegend von Monozyten und Makrophagen gebildeten Zytokine IL-1 und TNF- α beruht auf zwei Eigenschaften. Beide sind potente Aktivatoren von Makrophagen und anderen Leukozyten, wobei sie neben anderen Entzündungsmediatoren auch die eigene Synthese erhöhen (15). Hierin besteht ein wirkungsvoller autokriner Verstärkermechanismus der Entzündung. IL-1 und TNF- α rekrutieren weiterhin Endothelzellen und weitere parenchymale oder mesenchymale Zellen, am Entzündungsprozeß teilzunehmen. Diese Zellen sezernieren dann ihrerseits Zytokine bzw. Chemokine (z.B. IL-6, IL-8), daneben viele der auch von Leukozyten freigesetzten Entzündungsmediatoren: Enzyme, Arachidonsäurederivate und reaktive Sauerstoffspezies (15). Mesenchymale Zellen wie Endothelzellen, Fibroblasten und Myozyten sind jedoch auch ohne Stimulation durch proinflammatorische Zytokine in der Lage, z.B. im Rahmen einer Ischämie bzw. Hypoxie IL-6 und IL-8 zu produzieren (16-18).

2.2.6.2. anti-entzündliche Gegenregulation

Um unverhältnismäßige Schäden zu vermeiden, werden Entzündungsmechanismen auf verschiedenen Ebenen gehemmt. Am einfachsten geschieht dies durch Enzyminhibitoren, die als Akutphaseproteine gebildet werden (14). Weiterhin bewirkt die Kortisol-Freisetzung im Rahmen der endokrinen Akutphasereaktion eine Hemmung der Zytokin-Genexpression (14). Prostaglandine (Prostaglandin E und Prostacyclin) supprimieren die Zytokinsynthese in Lymphozyten und Monozyten und vermitteln hiermit eine negative Rückkopplung. Die TH1-Zytokine IL-1, IL-2, IL-12 und INF γ , die zelluläre Immunreaktionen und nachgeschaltete Entzündungsreaktionen fördern, hemmen gleichzeitig humorale Immunreaktionen. Umgekehrt hemmen die TH2-Zytokine IL-4 und IL-10, die eine humorale Immunreaktion ermöglichen, ihrerseits zelluläre Immunreaktionen und die Funktion von Makrophagen (19). Hieraus ergibt sich der Begriff der "antiinflammatorischen Zytokine".

LPS-stimulierte Monozyten bilden zunächst proinflammatorische Zytokine, im weiteren Verlauf jedoch zunehmend IL-10 sowie einen IL-1-Rezeptorantagonisten (20).

IL-10 inhibiert die Synthese von TNF- α , IL-1 und IL-6 durch Monozyten/Makrophagen in vitro (21, 22), schließlich auch die eigene Synthese (16). Weiterhin bewirkt IL-10 eine Reduktion der HLA-DR-Expression auf Monozyten durch eine Suppression der Exozytose des neusynthetisierten Moleküls bzw. seiner Rezirkulation aus intrazellulären Speichern (16, 21, 23). Folge ist eine Hemmung der antigenpräsentierenden Funktion von Monozyten im Rahmen T-Zell-abhängiger Immunreaktionen (23).

In Bezug auf PMN inhibiert IL-10 in vitro ebenfalls die Bildung proinflammatorischer Zytokine (IL-1, IL-8, TNF- α) sowie Entzündungsmediatoren (Eicosanoide, PAF), weiterhin wurde eine supprimierte Phagozytose bei reduzierter MAC-1-Expression beschrieben (24). Weiterhin wirkt IL-10 einem aktivierungsbedingten Abfall der Apoptoserate von PMN und damit deren Persistenz bei Entzündungsprozessen entgegen (24).

In vitro führt eine Stimulation mit TNF- α zu einer erhöhten IL-10-Freisetzung durch Monozyten (20). Glukokortikoide und Katecholamine steigern deren entzündungsinduzierte IL-10-Produktion (25). Daneben können Katecholamine auch unabhängig von einer Entzündungsreaktion eine frühe Freisetzung von IL-10 aus Monozyten bewirken (21, 25-28).

Zusammenfassend induziert jede Entzündung eine antiinflammatorische Gegenregulation. Hierdurch wird einerseits eine überschießende Entzündung limitiert, andererseits kann dieser Vorgang bis zu einer entzündungsinduzierten Immundepression führen (29-31).

So wurde die Sepsis als biphasischer Verlauf beschrieben: eine initiale Hyperinflammation wird von einer Hypoinflammation bzw. Immundepression ("Immunparalyse") gefolgt, die ihrerseits prognosebegrenzend sein kann (16, 31).

Als charakteristische Marker hierfür wurden ein Abfall der HLA-DR-Expression auf Monozyten sowie eine Reduktion der monozytären TNF- α -Produktionskapazität (bei jedoch erhaltener IL-10-Produktion) identifiziert (16, 31).

In vitro konnte eine solche antiinflammatorische Konversion von Monozyten durch IL-10 demonstriert werden (16, 21). In vivo finden sich im Falle einer "Immunparalyse" erhöhte IL-10-Plasmaspiegel (16, 32). Dementsprechend wird IL-10 als zentraler Steuerungsfaktor der antientzündlichen Gegenregulation angesehen.

Das Auftreten von löslichen Adhäsionsmolekülen kann als Ausdruck einer Inflammation, gleichzeitig jedoch auch als Bestandteil einer antiinflammatorischen Gegenregulation angesehen werden.

Durch proteolytische Abspaltung, daneben auch durch Neusynthese mit alternativem mRNA-splicing, entstehen lösliche Formen z.B. der Selektine und der Immunglobulin-Superfamilie. Lösliche Adhäsionsmoleküle konkurrieren mit den membrangebundenen Formen um die entsprechenden Bindungspartner und können so zur Begrenzung der Entzündungsreaktion beitragen (33).

Tab. 1: Übersicht über eine Auswahl der hier betrachteten zellulären Adhäsionsmoleküle

Adhäsionsmolekül	Beispiele zellulärer Expression	Verhalten bei Zellaktivierung	Beispiele für Liganden	Beispiele zellulärer Interaktion	lösliche Form
L-Selektin CD 62L	alle Leukozyten	Affinitätserhöhung, ↓Expression durch shedding	MadCAM-1, CD 34, E-Selektin	Adhäsion aktivierter Leukozyten an Endothel,	sL-Selektin
E-Selektin CD 62E	Endothel	↑Expression durch Neusynthese	sialyl Lewis(X), PSGL-1, L-Selektin	Adhäsion von Leukozyten an aktiviertes Endothel	sE-Selektin
P-Selektin CD 62P	Endothel, Thrombozyten	↑Expression durch Membrantranslokation	sialyl Lewis(X), PSGL-1	Adhäsion von Leukozyten an aktiviertes Endothel und an Thrombozyten	sP-Selektin
LFA-1 CD 11a/CD 18	Lymphozyten, Monozyten	Affinitätserhöhung	ICAM-1	leukozytär-endotheliale Adhäsion	-
MAC-1 CD 11b/CD 18	Granulozyten, Monozyten, Makrophagen	↑Expression durch Membrantranslokation, Affinitätserhöhung	ICAM-1, iC3b, Fibrinogen	leukozytär-endotheliale Adhäsion	-
ICAM-1 CD 54	Endothel, Monozyten	↑ Expression durch Neusynthese	LFA-1, MAC-1	leukozytär-endotheliale Adhäsion	sICAM-1
LFA-3 CD 58	Endothel, Monozyten	↑ Expression durch Neusynthese	CD 2	lymphozytär-endotheliale Interaktion lymphozytär-monozytäre Interaktion	sCD 58

Tab. 2: Übersicht über eine Auswahl der hier betrachteten Zytokine / Chemokine

Zytokin / Chemokin	Beispiele für zellulären Ursprung	Beispiele für Zielzellen	Beispiele für zelluläre Wirkung bei Entzündungsreaktionen
TNF-α	Makrophagen, Monozyten, Lymphozyten	Makrophagen, Granulozyten, Endothel	↑ MHC-Klasse II ↑ proinflammatorische Zytokine, ↑ Entzündungsmediatoren, ↑ Adhäsionsmoleküle <i>proinflammatorisch</i>
IFN-γ	T-Zellen, NK-Zellen	Makrophagen, Monozyten, Granulozyten, Endothel	↑ MHC-Klasse II, ↑ Adhäsionsmoleküle, ↑ TNF- α , ↑ IL-1, Makrophagenaktivierung <i>proinflammatorisch</i>
IL-1	Makrophagen, Monozyten	Leukozyten, Endothel	↑ proinflammatorische Zytokine, ↑ Entzündungsmediatoren, ↑ Adhäsionsmoleküle, Makrophagenaktivierung <i>proinflammatorisch</i>
IL-6	Makrophagen, Endothel	Leukozyten, Hepatozyten	Akutphasereaktion, ↑ Adhäsionsmoleküle, <i>proinflammatorisch</i>
IL-8	Makrophagen, Endothel	Monozyten, Granulozyten, T-Zellen	Chemotaxis, ↑ Adhäsionsmoleküle, <i>proinflammatorisch</i>
IL-10	Makrophagen, Monozyten, T-Zellen	Makrophagen, Monozyten, T-Zellen, Granulozyten	↓ MHC-Klasse II, ↓ proinflammatorische Zytokine, ↓ Entzündungsmediatoren, ↓ Adhäsionsmoleküle <i>antiinflammatorisch</i>

2.3. Zellen und Aktivierungsmarker des Immunsystems

Die Reaktionen des Immunsystems stellen einen komplexen Mechanismus unter Beteiligung von Lymphozyten, Monozyten/Makrophagen sowie Granulozyten dar. Zur Beurteilung des Aktivierungszustandes dieses Systems werden die Zellzahlen der beteiligten Subpopulationen sowie lösliche Produkte der Immunantwort wie Immunglobuline, Zytokine oder Komplementkomponenten quantitativ bestimmt. Weiterhin spiegelt das Expressionsmuster von Membranrezeptoren (Phänotyp) eine Aktivierung der beteiligten Zellen wieder. Schließlich dienen in-vitro-Funktionstests der Charakterisierung der Reaktionslage isolierter Zellpopulationen (12).

Grundsätzlich kann zwischen antigenspezifischen (erworbenen) und antigenunspezifischen Immunreaktionen unterschieden werden.

2.3.1. antigenunspezifische Reaktionen

Unspezifische Reaktionen auf Mikroorganismen wie auch auf physikalische Noxen, Ischämie/Nekrose sowie Aktivierung der Plasmaproteinkaskaden werden durch Granulozyten und Monozyten/Makrophagen vermittelt.

Blutmonozyten stellen die am leichtesten zugänglichen Zellen der Monozyten/Makrophagen-Reihe dar. Neben der Beteiligung an antigenunspezifischen Reaktionen nehmen Monozyten/Makrophagen als antigenpräsentierende und zytokinproduzierende Zellen eine zentrale Stellung im Rahmen der spezifischen Immunität ein. Charakteristisch ist die Expression eines Rezeptors für LPS/LPS-bindendes Protein (LBP), CD14. Aktivierte Monozyten zeigen eine vermehrte Expression der β 2-Integrine CD11a/CD18 (LFA-1), CD11b/CD18 (MAC-1) und CD11c/CD18 (p150/95). Als Fc-Rezeptoren für IgG werden CD16 (Fc γ RIII), CD32 (Fc γ RII) und CD 64 (Fc γ RI) konstitutionell exprimiert (6, 34).

Blutmonozyten stellen eine inhomogene Population dar. Beispielsweise tritt bei Entzündungsreaktionen verstärkt eine CD16-positive Monozytenpopulation auf, die morphologisch und funktionell Makrophagen ähnelt ("Prämakrophagen", "adult monocytes") und u.a. durch eine erhöhte HLA-DR- und LFA-1-, sowie eine reduzierte CD14-, CD64- und MAC-1-Expression gekennzeichnet ist (35-37). Ebenso führt kurzzeitige körperliche Belastung, ein Modell für die katecholaminvermittelte Mobilisation des marginalen Pools, zur kurzzeitigen Rekrutierung von "Prämakrophagen" (38, 39).

Funktionell ist diese Monozytenpopulation vorrangig für die Antigenpräsentation gegenüber T-Zellen von Bedeutung.

Die meisten Monozyten exprimieren HLA-DR, ein Molekül des Haupthistokompatibilitätskomplexes (major histocompatibility complex, MHC), Klasse II. Dessen Funktion besteht in einer Antigenpräsentation gegenüber CD4+T-Zellen. Proinflammatorische Zytokine wie TNF- α und IFN- γ , daneben auch LPS und C5a, bewirken eine Zunahme, IL-10 dagegen eine Abnahme der monozytären HLA-DR-Expression (12, 16, 21).

Die Expressionsdichte von HLA-DR auf Monozyten gilt als Marker der Immunkompetenz, insbesondere in Bezug auf T-Zell-abhängige Immunreaktionen (16, 31).

So wurde eine inverse Korrelation zum Infektionsrisiko bei Polytrauma-Patienten beschrieben. Posttraumatisch zeigte sich bei allen Patienten eine monozytäre HLA-DR-Reduktion. Ein Wiederanstieg auf das Niveau von gesunden Probanden bzw. eine Zunahme der in-vitro-Induktion von HLA-DR durch TNF- α war mit einer günstigeren Gesamtprognose assoziiert (40-42). Mehrfach wurde ein entsprechender Zusammenhang auch für das postoperative Infektionsrisiko gezeigt (21, 40, 42-45). Auch für nichtchirurgische Infektionen bzw. Sepsis sowie die neuroendokrin vermittelte Immundepression stellt die monozytäre HLA-DR-Expression einen Prognosemarker dar (16, 26, 31, 40).

Neben der Betrachtung des Phänotyps können zur funktionellen Beurteilung von Monozyten in-vitro-Stimulationstests genutzt werden. Hierzu eignet sich u.a. die Bestimmung der TNF- α -Produktionskapazität nach Stimulation mit LPS (12). Dieser Parameter verhielt sich unter den oben genannten pathophysiologischen Bedingungen parallel zur monozytären HLA-DR-Expression (16, 21, 31, 40, 45).

Neutrophile Granulozyten (polymorphonuclear neutrophils, PMN) stellen ca. 70% der zirkulierenden Leukozyten und haben eine deutlich kürzere Lebensdauer (1-3 Tage) im Vergleich zu Monozyten/Makrophagen (Monate-Jahre).

In Bezug auf IgG-Fc-Rezeptoren werden CD16 und CD32 konstitutionell exprimiert, CD64 kann durch proinflammatorische Zytokine induziert werden (34).

Nach Aktivierung werden die β 2-Integrine MAC-1 und LFA-1 hochreguliert, L-Selektin wird dagegen nach vorübergehender Affinitätserhöhung abgespalten (6).

Neben der Phänotypisierung und der Bestimmung löslicher Zellprodukte (z.B. Entzündungsmediatoren, PMN-Elastase) werden zur Beurteilung des Aktivierungszustandes von PMN in-vitro-Funktionstests angewandt (z.B. in Bezug auf Adhäsion, Chemotaxis, Phagozytose und Produktion reaktiver Sauerstoffspezies)(12).

Der quantitativen Zunahme von Granulozyten in der Blutzirkulation können eine Neubildung oder auch eine Umverteilung verschiedener Kompartimente zugrunde liegen. Unter Ruhebedingungen befinden sich 90% der Granulozyten im postmitotischen Knochenmarkspool, 7% in anderen Geweben und 3% in der Blutzirkulation (46). Intravasal werden weiterhin 2 Kompartimente unterschieden: ein Anteil frei zirkulierender Zellen (zirkulierender Pool) sowie ein Anteil locker mit dem Kapillarendothel assoziierter Zellen (marginaler Pool, lokalisiert v.a. in Lunge und Milz), unter Ruhebedingungen etwa im Verhältnis 1:1. Neben PMN enthält der marginale Pool auch Monozyten, T- und B-Lymphozyten sowie NK-Zellen (47). Als Ursache für diese Form der Margination werden sowohl mechanisch-rheologische Zusammenhänge als auch spezifische zelluläre Interaktionen, vermittelt durch Adhäsionsmoleküle, vermutet (36, 48, 49). Antikörper gegen CD18 und L-Selektin haben jedoch in vivo keinen Einfluß auf die Leukozytenzahl im zirkulierenden Pool (50). Die physiologische Bedeutung einer Umverteilung vom marginalen in den zirkulierenden Pool ist unklar (50).

Im Rahmen einer *Entzündungsreaktion* bewirken proinflammatorische Zytokine (z.B. IL-1, TNF- α) und Entzündungsmediatoren (z.B. Komplementkomponenten, Eicosanoide) nach einer passageren Neutropenie eine rapide Freisetzung von PMN aus dem Knochenmark, nicht jedoch aus dem marginalen Pool. Begleitend treten im Blut unreife Vorstufen der Granulozytenzellreihe auf ("Linksverschiebung") (50-52). Im Gegensatz zu TNF- α führen physiologische Konzentrationen von C5a in vivo zum Auftreten aktivierter PMN (CD18 erhöht, L-Selektin erniedrigt) im Rahmen der resultierenden Granulozytose (51). *Glukokortikoide* bewirken eine verzögerte Freisetzung von PMN aus dem Knochenmark (mit "Linksverschiebung"), daneben eine Umverteilung vom marginalen in den zirkulierenden Pool (53-55). Hierbei zeigt sich eine reduzierte L-Selektin-Expression (56). *Katecholamine* führen zu einer rapiden Umverteilung von PMN aus dem marginalen in den zirkulierenden Pool (ohne "Linksverschiebung") (54, 57, 58). Ebenfalls zeigt sich hierbei eine reduzierte L-Selektin-Expression, daneben eine gesteigerte MAC-1-Expression (59).

2.3.2. antigenspezifische Reaktionen

2.3.2.1. humorale Immunität

Bei der Abwehr extrazellulärer Mikroorganismen bzw. Toxine nehmen die *B-Lymphozyten* eine zentrale Stellung ein. In den meisten Fällen ist für eine effektive Immunantwort neben der Bindung des Antigens an ein membranständiges Immunglobulin eine Interaktion mit T-Helfer-Lymphozyten notwendig. Von Plasmazellen freigesetzte Immunglobuline aktivieren u.a. das Komplementsystem. Weiterhin vermittelt die Bindung von Immunglobulinen an Fc-Rezeptoren von Leukozyten eine Kopplung der humoralen Immunantwort mit deren zellulären Effektormechanismen (34).

2.3.2.2. zelluläre Immunität

Die durch *T-Lymphozyten* initiierten Immunreaktionen stehen u.a. bei der Abwehr intrazellulärer Erreger im Vordergrund. Die T-Zell-Aktivierung erfordert die Bindung des spezifischen Antigens in Verbindung mit einem MHC-Molekül (19).

MHC-Klasse I wird auf allen kernhaltigen Zellen exprimiert, hierdurch erfolgt eine Präsentation endogener, zytosolischer Peptide auf der Zelloberfläche. Bei Präsentation eines Fremdantigens kommt es zur Interaktion mit CD8⁺ T-Zellen.

MHC-Klasse II wird lediglich von Monozyten/Makrophagen, B-Zellen und anderen antigenpräsentierenden Zellen exprimiert. Es erfolgt eine Präsentation exogener, endosomaler Peptide an CD4⁺ T-Zellen. Die Aktivierung naiver T-Zellen durch Bindung des spezifischen Antigens/MHC führt zu deren klonaler Expansion mit Bildung von Effektorzellen und Memory-T-Zellen.

Die CD4⁺ T-Zellen (meist T-Helferzellen) nehmen aufgrund der von ihnen gebildeten Zytokine eine zentrale Steuerungsfunktion ein (19). Hierbei werden funktionell 2 Subpopulationen unterschieden: TH1-Zellen bewirken über IFN- γ , IL-2 und TNF- β eine Aktivierung von Makrophagen, T-Zellen und NK-Zellen. TH2-Zellen können B-Zellen über IL-4 und IL-5 aktivieren, daneben produzieren sie IL-10.

Aktivierte CD8⁺ T-Zellen (meist zytotoxische T-Zellen) können antigentragende Zielzellen direkt durch osmotische Zytolyse bzw. durch Induktion von Apoptose vernichten. Daneben bilden sie u.a. IFN- γ und IL-2.

Einen Aktivierungsmarker für T-Zellen stellt der IL-2-Rezeptor (CD25) dar.

NK-Zellen (natural killer cells) werden negativ definiert als Lymphozyten, die keinen Oberflächenantigenrezeptor wie T-Zellen oder B-Zellen tragen (19). Nach Aktivierung durch IL-2 wirken sie zytotoxisch auf Tumorzellen sowie auf virusinfizierte und IgG-opsonierte Zellen. Als Differenzierungsmerkmal gegenüber anderen Lymphozytenpopulationen kann die Expression von CD16 (FcγRIII) genutzt werden.

Zur Beurteilung des Aktivierungszustandes verschiedener Lymphozytenpopulationen werden neben deren Phänotypisierung und der Bestimmung löslicher Zellprodukte (z.B. Zytokine, Immunglobuline) verschiedene in-vitro-Funktionstests eingesetzt (z.B. Proliferations- und Zytotoxizitätsassays) (12).

2.4. Reaktionswege und immunmodulatorische Aspekte der Streßreaktion

Neben primär immunologischen Regulationsmechanismen können auch zentralnervös gesteuerte Reaktionen in den Ablauf einer Immunreaktion eingreifen.

Beim Menschen können im Rahmen einer psychogenen Streßreaktion u.a. folgende immunologischen Veränderungen beobachtet werden: Granulozytose und Lymphopenie mit Abfall der T4/T8-Ratio (60), eine supprimierte NK-Zell-Funktion und Phagozytenfunktion in vitro (60), weiterhin eine verringerte IFN- γ -Produktion in vitro (61).

Das Konzept der Streßreaktion (62) beschreibt die Gesamtheit der neuroendokrinen Aktivierungsvorgänge als Reaktion auf eine Noxe (z.B. Schmerz / Trauma, Infektion, hämodynamische Entgleisung, aber auch psychische Belastung).

Hierbei stehen zwei Reaktionswege im Vordergrund:

- (1) das hypothalamo-hypophysär-adrenale System
- (2) das autonome Nervensystem einschließlich des Nebennierenmarks

2.4.1. das hypothalamo-hypophysär-adrenale System (hypothalamo-pituitary-adrenal axis, HPA-Achse)

Stressoren führen in Abhängigkeit von Art, Intensität und Dauer zu einer Aktivierung der HPA-Achse mit vermehrter Freisetzung von Glukokortikoiden (63). Das hypothalamische Peptidhormon CRH bewirkt eine vermehrte Ausschüttung von ACTH aus der Adenohypophyse. ACTH seinerseits führt zu einer Synthesesteigerung von Kortisol in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde. Kortisol und ACTH hemmen jeweils die Freisetzung ihrer Releasinghormone. Der gesamte Regelkreis unterliegt einer circadianen Rhythmik. Die streßprotektiven Eigenschaften der Glukokortikoide beruhen zu einem wesentlichen Anteil auf der Modulation von (v.a. zellulären) Immunreaktionen (64).

In vivo führt eine Gabe von Glukokortikoiden zu einer reversiblen Abnahme der Lymphozytenzahl, insbesondere der CD4+T-Zellen (65, 66). Ebenso sinkt die Monozytenzahl. Als Ursache hierfür wird eine Margination der Zellen an das Endothel, z.B. in Knochenmark und Milz, diskutiert (67-69). Demgegenüber werden PMN vermehrt aus dem marginalen Pool, daneben auch aus dem Knochenmark freigesetzt (53, 55, 60, 67, 68). Diese neurekrutierten PMN zeigen eine reduzierte L-Selektin-Expression (56).

In vitro supprimieren Glukokortikoide nach Bindung an ihren zytosolischen Rezeptor die Synthese von Zytokinen (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8, TNF- α , IFN- γ , IL-12, nicht jedoch IL-10)

und Entzündungsmediatoren (z.B. Eicosanoide, Proteasen) (65). Weiterhin bewirken Glukokortikoide auf direktem Wege eine Abnahme der monozytären HLA-DR-Expression (60, 65). Eine Suppression der T-Zell-Funktion wird durch eine Beeinflussung der Zytokinsynthese, daneben möglicherweise über eine Abnahme des IL-2-Rezeptors (CD25) vermittelt (70). Aufgrund der durch Glukokortikoide einerseits reduzierten IL-12-Synthese von CD4+T-Zellen (Differenzierung zu TH1-Zellen) sowie der Inhibition der IL-2 und IFN- γ -Produktion durch TH1-Zellen, andererseits einer synergistischen Funktion von Glukokortikoiden und IL-4 auf die TH2-Zell-Funktion und einer fehlenden Inhibition der IL-10-Bildung scheint eine Verschiebung des TH1/TH2-Gleichgewichts zugunsten einer Unterstützung der B-Zell-Funktion zu resultieren (25, 65). Hohe Konzentrationen von Glukokortikoiden supprimieren jedoch die Antikörperproduktion durch Plasmazellen (60). In vitro wurde weiterhin eine Suppression der NK-Zell-Funktion beschrieben. Dagegen zeigte sich in vivo nach Gabe von Glukokortikoiden eine Zunahme der NK-Zell-vermittelten Zytotoxizität, möglicherweise als Ausdruck stärkerer Präsenz aktivierter NK-Zellen im zirkulierenden Pool nach den oben genannten Umverteilungsvorgängen (60).

Eine in-vitro-Suppression der Phagozytenfunktion mit Abnahme der Expression von Fc γ -Rezeptoren unter hohen Glukokortikoidkonzentrationen ist als Folge der Abnahme proinflammatorischer Zytokine zu erklären und ist z.B. durch Substitution von IFN- γ umkehrbar (71). Physiologische Glukokortikoidkonzentrationen verursachen jedoch keine Funktionseinschränkung neutrophiler Granulozyten (72).

Weiterhin können leukozytär-endothelialen Wechselwirkungen auf der Ebene der Adhäsionsmoleküle beeinflusst werden. So wird in vitro die endotheliale Expression von E-Selektin und ICAM-1 durch Glukokortikoide reduziert (73).

Eine Hypersekretion von Kortisol wird insbesondere in Zusammenhang mit entzündungsassoziierten Stressoren beobachtet (z.B. Infektion, Trauma). Es konnte gezeigt werden, daß sowohl Zytokine (IL-1, IL-6, TNF- α) als auch Entzündungsmediatoren (z.B. Eicosanoide) ihrerseits in der Lage sind, die HPA-Achse auf der Ebene von Hypothalamus und Hypophyse zu aktivieren (74). Weiterhin bewirken Elastasen am Entzündungsort eine vermehrte Freisetzung von Cortisol aus seiner Bindung an das kortikosteroidbindende Protein (CBP) in seine biologisch aktive Form (75).

Zusammenfassend hat die Aktivierung der HPA-Achse in den meisten Fällen eine immunsuppressive Wirkung. Überschießende Immunreaktionen können so begrenzt werden (76). Andererseits kann eine bei chronischem Streß längeranhaltend gesteigerte Kortisolsynthese ein erhöhtes Infektionsrisiko bedingen (77, 78).

2.4.2. das autonome Nervensystem (ANS)

Durch seine neuroendokrine Funktion sowie durch direkte Innervation lymphatischer Organe ist das ANS in der Lage, Immunreaktionen zu beeinflussen.

Zentrale Integrations- und Kontrollfunktion haben der Hypothalamus und die Formatio reticularis des Hirnstamms. Die efferenten Bahnen des ANS werden anatomisch und funktionell in Parasympathikus und Sympathikus eingeteilt. Der Sympathikus beinhaltet als neuroendokrine Komponente das Nebennierenmark.

Im Rahmen einer akuten Streßreaktion steht eine Erhöhung des Sympathikotonus im Vordergrund. Die hierbei auftretenden immunmodulatorischen Wirkungen werden durch Katecholamine vermittelt (79).

Durch eine Innervation der primären und sekundären lymphatischen Organe kontrolliert das ANS den Tonus von Blut- und Lymphgefäßen sowie den Kontraktionszustand der Milzkapsel. Daneben wurden noradrenerge Nervenendigungen auch in unmittelbarer Nachbarschaft von Immunzellen beschrieben (80).

Membranständige Katecholaminrezeptoren (α 1-, α 2- und β 2-Rezeptoren) sind auf sämtlichen Leukozytenpopulationen in verschiedener Dichte nachweisbar. Ihre physiologische Bedeutung ist unklar. Eine fortgesetzte Katecholamineinwirkung senkt die Expressionsdichte adrenerger Rezeptoren auf Leukozyten (80-82).

2.4.2.1. in-vivo-Effekte

In vivo bewirkt eine Sympathikusaktivierung ebenso wie eine Gabe von Katecholaminen eine Umverteilung von Leukozyten vom marginalen in den zirkulierenden Pool. So führt eine Gabe von Adrenalin zu einem reversiblen Anstieg von neutrophilen Granulozyten und Monozyten (maximal nach 2-4 Stunden). Bei einem Anstieg der Gesamtlymphozytenzahl (maximal nach ca. 30 Minuten) sind insbesondere die NK-Zellen vermehrt, die T4/T8-Ratio ist erniedrigt (54, 57, 83-89).

Als Rekrutierungsmechanismus werden neben hämodynamischen Wirkungen katecholaminbedingte Konformations- bzw. Affinitätsveränderungen leukozytärer Adhäsionsmoleküle diskutiert, ein Nachweis hierfür existiert jedoch nicht (36). Die katecholaminbedingte Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten aus dem marginalen Pool ist α -Rezeptor-abhängig (89). Die rekrutierten Neutrophilen zeigen sich in Bezug auf ihre Phagozytenfunktion und Bildung reaktiver Sauerstoffspezies unverändert (58, 86), die Chemotaxis ist jedoch supprimiert (53).

Die Gabe des β -Blockers Propranolol bewirkt als Hinweis auf eine indirekte Verstärkung der PMN-Funktion die Zunahme eines fMLP-induzierten Hautödems (90).

Kurzzeitige körperliche Belastung, ein Modell für die Mobilisation des marginalen Pools durch Katecholamine, führt rekrutierungsbedingt zu einer insgesamt reduzierten L-Selektin-Expression und gesteigerten MAC-1-Expression auf zirkulierenden PMN (59).

In Bezug auf die Monozytenfunktion ist beim Menschen nach Gabe von Adrenalin eine Inhibition der LPS-induzierten Produktion von TNF- α und IL-1 in vivo und in vitro zu beobachten (91, 92). Ebenso kommt es am Tiermodell nach Gabe von Katecholaminen β -Rezeptor-abhängig zu einer Reduktion der LPS-induzierten TNF- α -Freisetzung (93, 94). Kurzzeitige körperliche Belastung führt zur β -Rezeptor-vermittelten Rekrutierung von "Prämakrophagen" aus dem marginalen Pool. Hierbei handelt es sich um eine CD16-positive Monozytenpopulation, die morphologisch und funktionell Makrophagen ähnelt ("adult monocytes") und u.a. durch eine erhöhte HLA-DR- und LFA-1-, sowie eine reduzierte CD14-, MAC-1- und CD64-Expression gekennzeichnet ist (36, 38, 39). Funktionell ist diese Monozytenpopulation vorrangig für die Antigenpräsentation gegenüber T-Zellen von Bedeutung, die Produktion proinflammatorischer Zytokine ist dagegen reduziert (37).

Eine Aktivierung des ANS ist β -Rezeptor-abhängig mit einem Anstieg der Gesamtlymphozytenzahl assoziiert. Bei den hierbei insbesondere vermehrten NK-Zellen fällt als Hinweis auf ein Rekrutierungsphänomen eine erhöhte β -Rezeptordichte auf (81). Eine nach Gabe von β -Agonisten in vivo gesteigerte NK-Zell-Funktion (87), wird ebenfalls als Folge einer Neurekrutierung aktivierter Zellen diskutiert, zumal in vitro Katecholamine eine Abnahme der Zytotoxizität von NK-Zellen bewirken (95, 96). In einer weiteren Untersuchung wurde eine Suppression der NK-Zell-Funktion nach Katecholamingabe auch in vivo beschrieben (83).

Auch eine Verschiebung des Verhältnisses der Lymphozytensubpopulationen mit einem Abfall der T4/T8-Ratio (87) wird als Rekrutierungsphänomen in Zusammenhang mit der Expressionsdichte adrenerger Rezeptoren diskutiert (88).

2.4.2.2. in-vitro-Effekte

Katecholamine inhibieren in vitro eine Reihe von zellvermittelten Immunvorgängen. So wurde in Bezug auf neutrophile Granulozyten (im Gegensatz zu den in vivo-Befunden (58,85)) eine reduzierte Bildungskapazität für reaktive Sauerstoffspezies beschrieben (97, 98). Weiterhin findet sich ein verändertes Expressionsmuster von Eicosanoiden (99), sowie eine verminderte Enzymfreisetzung und eine Hemmung der Adhäsion an Endothelzellen (100).

Umgekehrt führt der β -Blocker Propranolol in vitro zu einer verstärkten Aggregation und Chemotaxis von Neutrophilen (90). Die Expression granulozytärer Adhäsionsmoleküle wie L-Selektin und MAC-1 wird durch Katecholamine in vitro nicht verändert (59). In Bezug auf Monozyten hemmen Katecholamine in vitro die Produktion von TNF- α und IL-6 nach Stimulation mit LPS (101-103). Ebenso wurde eine katecholaminbedingte Suppression der LPS-induzierten IL-1-Produktion von Makrophagen beschrieben (104). Dagegen wird die LPS-induzierte Produktion von IL-10 verstärkt (91,105). Neuere Untersuchungen zeigen, daß Katecholamine in vitro auch ohne einen weiteren Stimulus innerhalb von Minuten zur Freisetzung von präformiertem IL-10 aus Monozyten führen, weiterhin wird eine Neusynthese induziert. Dieser Vorgang ist β_2 -Rezeptor-abhängig. Eine IL-10-vermittelte Suppression zellulärer Immunvorgänge durch Katecholamine wird daher diskutiert (21, 26, 28).

Eine gleichzeitig in vitro nachweisbare Suppression der IL-12-Produktion könnte eine Verschiebung des TH1/TH2-Gleichgewichts zugunsten einer Unterstützung humoraler Immunreaktionen bewirken (25).

Von Seiten proinflammatorischer Zytokine scheint ein Gegenregulationsmechanismus zur katecholaminbedingten Hemmung zellulärer Immunreaktionen zu bestehen. So kann die β -adrenerge Signaltransduktion von Monozyten in vitro u.a. durch IL-1, IL-2 und TNF- γ inhibiert werden (106).

In Bezug auf NK-Zellen bewirken Katecholamine in vitro β -Rezeptor-vermittelt eine Abnahme der Zytotoxizität (95, 96).

Weiterhin führen Katecholamine in vitro β -Rezeptor-vermittelt zu einer Hemmung der isoliert betrachteten T- und B-Zell-Funktion (107). So wird die mitogen- oder anti-CD3-AK-induzierte T-Zell-Proliferation inhibiert, möglicherweise vermittelt durch eine hierbei nachweisbare Hemmung der IL-2-Produktion sowie der IL-2-Rezeptor (CD25)-Expression (93, 107-109). Ebenso wird eine Suppression der LPS- oder anti-Ig-AK-induzierten B-Zell-Proliferation beschrieben (107, 109). Bei der Betrachtung eines Modells der T-Helfer-Zell-abhängigen B-Zell-Funktion zeigte sich jedoch eine gesteigerte Produktion von Immunglobulinen nach Zugabe von Katecholaminen. Als Erklärung hierfür wird eine β -Rezeptor-vermittelte, differenzierte Beeinflussung von TH1- und TH2-Zellen diskutiert. Katecholamine bewirken eine Hemmung der IFN- γ -Produktion isolierter TH1-Zellen, während die IL-4-Produktion von TH2-Zellen nicht beeinflusst wird (107).

Zusammenfassend wird einerseits die Neurekrutierung von Zellen des unspezifischen Immunsystems (neutrophile Granulozyten, NK-Zellen) als sinnvolle Komponente einer akuten Streßreaktion (z.B. bei Trauma) angesehen (89).

Andererseits könnten die auf zellulärer Ebene zumeist immundepressiven Wirkungen von Glukokortikoiden und Katecholaminen einen Gegenregulationsmechanismus im Falle einer direkten Aktivierung von HPA-Achse und ANS durch eine systemische Immunreaktion darstellen (92).

Ebenso kann es jedoch im Falle eines nichtimmunologischen Auslösers der Streßreaktion (z.B. psychogen, Schmerz, Neurotrauma/-OP) zu einer Immundepression mit erhöhtem Infektionsrisiko kommen (26, 78).

Die klinische Bedeutung einer streßbedingten Immunmodulation bei akuten Erkrankungen bzw. ihre mögliche Aussagekraft als Prognosemarker ist weiterhin Gegenstand intensiver Forschung (89).

2.4.3. Streßassoziierte Aspekte des akuten Myokardinfarktes

Bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt (AMI) werden regelmäßig die Zeichen einer Aktivierung von HPA-Achse und ANS beobachtet. Als Stressoren werden hierbei viszeraler Schmerz, ggf. eine hämodynamische Kompromittierung sowie die resultierende Angstreaktion angesehen (110, 111). Bei der Bewertung entzündlicher Phänomene beim AMI sind daher die immunmodulatorischen Aspekte der akuten Streßreaktion zu berücksichtigen.

2.4.3.1. ANS:

Bei Patienten mit AMI werden deutlich erhöhte Plasmakonzentrationen von Noradrenalin und Adrenalin gemessen (110-117). Neben einer eigentlichen Streßreaktion kommt es beim AMI mit linksventrikulärer Funktionseinschränkung zur Aktivierung des Barosensorenreflexes, ebenso verbunden mit einer Katecholaminfreisetzung (111). So ist insbesondere bei ausgedehnten Infarkten mit einer deutlichen linksventrikulären Funktionseinschränkung (LVEF<40%) eine massive Katecholaminfreisetzung zu beobachten, assoziiert mit einer eingeschränkten Prognose (111, 112, 116).

Einerseits können erhöhte Katecholaminspiegel hier als Epiphänomen bzw. als adäquater Kompensationsmechanismus diskutiert werden, andererseits deutet die durch β -Blocker-Therapie erreichte Prognoseverbesserung bei AMI-Patienten mit erhaltener linksventrikulärer Funktion auf die pathogenetische Bedeutung einer neuroendokrinen Dysregulation hin (118).

2.4.3.2. HPA-Achse:

Als weiteres Zeichen einer akuten Streßreaktion wird bei Patienten mit AMI ein rascher Anstieg der Plasmakonzentration von Kortisol beschrieben (119-123).

Wiederum zeigt sich eine Assoziation des Kortisolspiegels mit der Infarktausdehnung und der Mortalität (120, 122).

Verschiedene immunologische Phänomene bei Patienten mit AMI werden in Bezug auf die Wirkung von Streßhormonen diskutiert.

So wurde neben einer Granulozytose (124-126) und Monozytose (126) eine Reduktion der CD4⁺T-Lymphozytenzahl und der T4/T8-Ratio beschrieben (127-129).

Im Vergleich zu Kontrollprobanden zeigten sich im Hauttest schwächer ausgeprägte Überempfindlichkeitsreaktionen vom Typ IV (130, 131).

Plasma von AMI-Patienten inhibierte in vitro die mitogeninduzierte Proliferation und IL-2-Produktion von Kontroll-T-Zellen (121).

Weiterhin wurde eine reduzierte NK-Zell-Funktion beschrieben (127, 132).

Neuere Untersuchungen zeigten einen IL-10-Anstieg beim akuten Myokardinfarkt (117,133). Insbesondere bei einem kurzen Zeitintervall zum akuten ischämischen Ereignis ist hierbei eine catecholamininduzierte IL10-Freisetzung aus Monozyten zu diskutieren (21, 26, 28). Die kausale Bedeutung einer streßbedingt alterierten Immunfunktion für den klinischen Verlauf eines akuten Myokardinfarktes (Reperfusionsschaden, Remodelling, Infektionsrisiko) ist noch weitgehend unklar. Immunologische Phänomene sind hier jedoch auch als Prognosemarker im Sinne eines Epiphänomens interessant. So konnte bereits eine negative Korrelation zwischen Plasma-IL-10 und linksventrikulärer Funktion bei Infarktpatienten gezeigt werden (133).

2.5. Entzündungsassoziierte Aspekte der Koronaren Herzkrankheit (KHK)

Interaktionen von Leukozyten und Endothel spielen eine zentrale Rolle sowohl bei der Entstehung der arteriosklerotischen Läsion als auch bei der Auslösung der akuten ischämischen Ereignisse im Rahmen einer Plaqueruptur. Weiterhin führen die resultierende Ischämie und Reperfusion zu einer akuten Entzündungsreaktion im Bereich der betroffenen Mikrozirkulation.

2.5.1. Entzündungsassoziierte Aspekte der Atherogenese

Die Entstehung der arteriosklerotischen Läsion wird zunehmend als ein chronisch entzündlich-proliferativer Prozeß infolge einer Endothelschädigung verstanden, vergleichbar den Prozessen der Wundheilung bei jedoch fortgesetzter Einwirkung des schädigenden Agens (134-136). Bereits die morphologisch zuerst faßbaren arteriosklerotischen Veränderungen, "fatty streaks", zeigen eine subendotheliale Einlagerung von lipidbeladenen Makrophagen sowie T-Zellen (134, 135, 314). Die sich hieraus entwickelnden Intermediärläsionen und schließlich fibrösen Plaques sind durch eine zunehmende Infiltration von Makrophagen und T-Zellen gekennzeichnet, deren Phänotyp auf eine Aktivierung hindeutet (134, 136, 137). Daneben finden sich Immunglobuline und Komplementkomponenten (138). Weiterhin zeigt sich eine gesteigerte Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle (z.B. ICAM-1, VCAM-1, E-Selektin) (137, 139-141). Als Hinweis auf eine Makrophagenaktivierung sind in arteriosklerotischen Plaques proinflammatorische Zytokine (z.B. TNF- α , IL-1), daneben Wachstumsfaktoren (z.B. PDGF) nachweisbar (142). Die glattmuskuläre Proliferation und Ausbildung einer extrazellulären Matrix (z.B. Kollagen) werden hierdurch in vitro stimuliert (135, 143). Das von T-Zellen gebildete und ebenfalls im Plaque nachweisbare IFN- γ hat diesbezüglich in vitro eine entgegengesetzte Wirkung (143, 144). Die Ergebnisse verschiedener immunsuppressiver Strategien (genetische bzw. pharmakologische Interventionen) am Tiermodell weisen auf eine proatherogene Wirkung zellulärer Immunreaktionen hin (145).

Als auslösend für die initiale Endothelfunktionsstörung wird in Hinblick auf die bekannten vaskulären Risikofaktoren ein multifaktorielles Geschehen mit verändertem Redox-Status der Endothelzellen diskutiert (146). Unter anderem stellt oxydiertes LDL (oxLDL) einen chemotaktischen Faktor und Aktivator für Monozyten/Makrophagen dar (135).

Weiterhin wird die Expression endothelialer Adhäsionsmoleküle (z.B. VCAM-1) *in vitro* und *in vivo* durch oxLDL stimuliert (147). Aus arteriosklerotischen Plaques wurden oxLDL-reaktive T-Zellen isoliert (145). Zirkulierende Autoantikörper gegen oxLDL wurden als Marker für eine fortschreitende Arteriosklerose identifiziert und deuten auf eine Beteiligung humoraler Immunvorgänge hin (148).

In Bezug auf zelluläre und humorale Immunreaktionen im Rahmen der initialen Atherogenese werden neben oxLDL eine Vielzahl weiterer Aktivatoren bzw. Antigene diskutiert. Hierzu zählen Hitzeschockproteine (z.B. hsp70), die nach mechanischer bzw. hämodynamischer Belastung, aber auch zytokininduziert auf Endothelzellen exprimiert werden und dort eine Autoimmunreaktion initiieren (138).

Daneben häufen sich Hinweise auf eine Beteiligung infektiöser Antigene an der Atherogenese (149-150). Zunehmendes Interesse gewinnt hierbei v.a. *Chlamydia pneumoniae* (CP). So waren, neben einer engen seroepidemiologischen Assoziation einer CP-Infektion zu arteriosklerotischen Erkrankungen (151-154), die Erreger auch direkt im Plaque nachweisbar (155, 156). Weiterhin wurden bei Patienten mit Arteriosklerose sowohl im Plaque als auch im peripheren Blut CP-reaktive T-Zellen beschrieben (157). Als Hinweis auf eine ätiologische Bedeutung einer CP-Infektion bei der Atherogenese konnte durch die Gabe eines Makrolidantibiotikums in einem kurzen Beobachtungszeitraum die Inzidenz akuter ischämischer Ereignisse bei KHK-Patienten parallel zu Entzündungsparametern (CRP) und zum CP-Antikörpertiter gesenkt werden (158, 159). Der zugrundeliegende Pathomechanismus ist jedoch weiterhin unklar (134, 135). Diskutiert wird u.a. eine Stimulation der Lipidakkumulation in subendothelialen Makrophagen ("Schaumzellen") durch ein von CP freigesetztes Lipopolysaccharid (160). CP-infizierte Makrophagen produzieren vermehrt proinflammatorische Zytokine wie TNF- α , IL-1 und IL-6 (161). Weiterhin wird eine Autoimmunreaktion infolge einer Strukturhomologie eines CP-Membranproteins mit kardialem Myosin diskutiert (162).

Übereinstimmend mit dem Konzept der Arteriosklerose als chronisch entzündliche Erkrankung wurden bei KHK-Patienten mit stabiler Angina pectoris Phänomene beschrieben, die auf gesteigerte leukozytär-endotheliale Wechselwirkungen hindeuten. So zeigte sich im Vergleich zu Kontrollprobanden eine erhöhte Expression von MAC-1 auf PMN (163), sowie erhöhte Plasmaspiegel der löslichen Adhäsionsmoleküle sE-Selektin, sVCAM-1 und sICAM-1 (164-166). Weiterhin fanden sich erhöhte Plasmakonzentrationen der Akutphaseproteine CRP und SAA (167-169).

2.5.2. Entzündungsassoziierte Aspekte der Plaquestabilisierung und Plaqueruptur

Den akuten ischämischen Komplikationen der Arteriosklerose (akutes Koronarsyndrom, Myokardinfarkt) liegen Erosionen, Fissuren und Rupturen der fibrösen Plaques mit nachfolgender Thrombozytenaktivierung und ggf. Bildung eines Fibrinthrombus zugrunde. Diese "aktiven" Plaques sind durch eine gesteigerte Infiltration von aktivierten Makrophagen und T-Zellen sowie Mastzellen am Ort der Ruptur charakterisiert (134-136, 157, 170-175). Die endotheliale Expression von P-Selektin ist erhöht (176). Die Plaques enthalten vermehrt TNF- α , daneben wird die erhöhte MHC-Klasse II-Expression glatter Muskelzellen als Marker für eine gesteigerte Freisetzung von IFN- γ verstanden (143, 170, 174). Neben einer lokalen Anreicherung von Entzündungszellen im Bereich des Plaques wird im Rahmen akuter Koronarsyndrome auch eine diffuse Infiltration des Koronarsystems durch aktivierte T-Zellen beschrieben (314). Die Ätiologie der hierbei auftretenden Immunreaktionen ist unklar. In Bezug auf die CP-Infektionshypothese existieren Anhaltspunkte für die Reaktivierung einer chronischen Infektion im Rahmen akuter ischämischer Syndrome (177, 178). So wurden bei Patienten mit akutem Koronarsyndrom vermehrt CP-reaktive T-Zellen sowohl im "aktiven" Plaque als auch im peripheren Blut beschrieben (157). Eine Kausalität ist jedoch bisher nicht belegt. Als Pathomechanismus der Plaquestabilisierung wird eine IFN- γ -bedingte Hemmung der Kollagensynthese bei gleichzeitig gesteigerter Apoptose glatter Muskelzellen diskutiert (134). Weiterhin führen die nach Stimulation durch proinflammatorische Zytokine (z.B. IL-1, TNF- α , IFN- γ) von Makrophagen freigesetzten Metalloproteasen zu einer Degradation der extrazellulären Matrix (135, 143, 179).

Eine Akzelleration entzündlicher Phänomene ist bei KHK-Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt zu beobachten (180). So zeigte sich eine weitere Erhöhung der MAC-1-Expression auf PMN und Monozyten, insbesondere im Bereich der Koronarzirkulation (181, 182), begleitet von einem Anstieg der PMN-Elastase (183). Ebenso waren im Vergleich zu Patienten mit stabiler Angina pectoris erhöhte Plasmakonzentrationen löslicher Adhäsionsmoleküle (sE-Selektin, sP-Selektin, sICAM-1) nachweisbar (184-189). Monozyten exprimieren verstärkt Gewebsthromboplastin, ein Effekt, der sich durch in-vitro-Inkubation mit Lymphozyten von Patienten mit instabiler Angina pectoris bei Kontroll-Monozyten reproduzieren läßt (190). Im Vergleich zu Patienten mit stabiler Angina pectoris fanden sich erhöhte Plasmakonzentrationen proinflammatorischer Zytokine (z.B. IL-6, TNF- α) (192, 193) und Akutphaseproteine (CRP, SAA, Fibrinogen) (195-197). CRP konnte dabei als unabhängiger Prognosemarker der instabilen Angina pectoris identifiziert werden (197, 198).

Betrachtet man also die Arteriosklerose als chronisch entzündliche, fibroproliferative Erkrankung, so scheinen zusätzliche akut entzündliche Veränderungen ihre akuten ischämischen Komplikationen auszulösen. Bei der Interpretation dieser Entzündungsphänomene ist jedoch auch eine evtl. gleichzeitig auftretende Inflammation infolge von Ischämie und Reperfusion zu beachten.

2.5.3. Ischämie und Reperfusion

Infolge von Ischämie und Reperfusion kommt es im Bereich der betroffenen Mikrozirkulation zu einer akuten Entzündungsreaktion, die ihrerseits das Ausmaß der ischämischen Nekrose verstärken kann ("Reperfusionsschaden"). Weiterhin wird eine postischämische Mikrozirkulationsstörung bei gestörter endothelabhängiger Vasodilatation beobachtet ("no-reflow-Phänomen") (136, 199-201). Eine zentrale Rolle nehmen hierbei neutrophile Granulozyten (PMN) ein. So ist während einer anhaltenden Myokardischämie, insbesondere aber in der frühen Reperusionsphase, eine massive intravasale Akkumulation sowie Gewebsinfiltration von PMN zu beobachten (202-204). Die myokardprotektiven und reperusionsfördernden Wirkungen verschiedener experimenteller Strategien zur spezifischen Hemmung granulozytär-endothelialer Interaktionen weisen auf eine kausale Beteiligung von PMN am Reperusionschaden hin. So bewirkten eine PMN-Depletion ebenso wie die Gabe von blockierenden Antikörpern gegen Selektine (P-Selektin, L-Selektin), Integrine (MAC-1, LFA-1) und Mitglieder der Ig-Superfamilie (ICAM-1) eine Reduktion der Myokardnekrose und des "no-reflow-Phänomens" in Tiermodellen für Ischämie und Reperfusion (208-220). Nachdem beim Menschen eine hochdosierte Glukokortikoidgabe bei akutem Myokardinfarkt zu einer Prognoseverschlechterung aufgrund einer ungünstigen Beeinflussung des postinfarziellen Remodelling führte (207), stellen selektive, antiadhäsive Therapieansätze (vergleichbar der GPIIb/IIIa-Blockade) weiterhin einen Gegenstand intensiver Forschung in Bezug auf den Reperfusionsschaden dar (203-206).

Ein initiales Ereignis der Entzündungskaskade ist eine Aktivierung von Endothelzellen, verbunden mit einer Imbalance der endothelialen NO- und Superoxidproduktion, als direkte Folge von Hypoxie und Reoxygenierung (201). Weiterhin wird u.a. eine Komplementaktivierung infolge von Myokardnekrosen diskutiert (202, 203). Die daraufhin während der Reperfusion ablaufenden, komplexen Aktivierungsvorgänge sind gekennzeichnet durch eine Freisetzung proinflammatorischer Zytokine (IL-6, IL-8, TNF- α),

eine gesteigerte Expression von Adhäsionsmolekülen auf PMN (MAC-1), Endothelzellen (E-Selektin, P-Selektin, ICAM-1) und Myozyten (ICAM-1) sowie einer intravasalen und interstitiellen Akkumulation von PMN mit Freisetzung von Entzündungsmediatoren, Enzymen und reaktiven Sauerstoffspezies, insbesondere in der potenziell vitalen Infarkttrandzone (202-206, 221-227).

Als Ausdruck einer akuten Inflammation werden bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt und Reperfusion eine Reihe von Entzündungsphänomenen beobachtet. So zeigten sich erhöhte Plasmakonzentrationen der proinflammatorischen Zytokine TNF- α (228, 229, 316), IL-6 und IL-8 (230), begleitet von einem CRP-Anstieg (228). Während der Reperfusion wurde im Bereich der Koronarstrombahn eine lokale PMN-Aktivierung mit Expressionszunahme von MAC-1 und korrespondierender Abnahme von L-Selektin beschrieben (230). Weiterhin fand sich ein Anstieg der Plasmaelastase (124).

Eine Myokardnekrose bewirkt auch unabhängig von einer Reperfusion eine lokale Entzündungsreaktion mit verzögerter Infiltration von PMN und Monozyten/Makrophagen (126, 221). Auch bei Patienten mit transmuralem Myokardinfarkt ohne dokumentierte Reperfusion finden sich dementsprechend Phänomene einer akuten Entzündungsreaktion, die sich mit denen der akuten koronaren Syndrome überlagert. Neben aktivierten Komplementkomponenten (194) werden erhöhte Plasmakonzentrationen von TNF- α (193, 228, 229) und IL-6 (230-233), begleitet von einem CRP-Anstieg (167, 168, 231), beschrieben. Ein TNF- α -Anstieg zeigte sich insbesondere bei ausgedehnten Infarkten mit linksventrikulärer Funktionseinschränkung (229, 234). Als Zeichen einer Aktivierung von PMN und Monozyten wird eine gesteigerte Expression von MAC-1 und LFA-1 beschrieben (235), entsprechend zeigt sich ein Anstieg der Plasmaelastase (124, 183). Auch die erhöhten Plasmakonzentrationen der löslichen Adhäsionsmoleküle sICAM-1 (164, 236-238), sL-Selektin (166), sP-Selektin (239-241) und sE-Selektin (164, 237-239) weisen auf eine gesteigerte leukozytär-endotheliale Wechselwirkung hin.

Neben inflammatorischen Phänomenen finden sich beim akuten Myokardinfarkt auch Zeichen einer antiinflammatorischen Reaktion. So beschreiben neuere Untersuchungen einen Anstieg der IL-10-Plasmakonzentration bei Infarktpatienten (28, 117, 133, 316). Tierexperimentell wurde nach myokardialer Ischämie und Reperfusion eine lokale IL-10-Produktion durch infiltrierende T-Lymphozyten demonstriert (242).

Alternativ zu einem entzündungsreaktiven Geschehen ist bei akuten Myokardinfarkt auch eine katecholamininduzierte IL-10-Freisetzung aus Monozyten zu diskutieren (21, 26, 28). Am IL-10-defizienten Tiermodell wurde eine, verglichen mit dem Wildtyp, deutlich verstärkte lokale und systemische Entzündungsreaktion nach myokardialer Ischämie und Reperfusion beobachtet, begleitet von einer Zunahme von Infarktausdehnung und Mortalität (243). Umgekehrt bewirkte eine IL-10-Gabe eine zusätzliche Myokardprotektion bei verringerter PMN-Infiltration (244).

3. Fragestellung

Die im Rahmen der Koronaren Herzkrankheit auftretenden entzündlichen und immunologischen Phänomene wurden bisher in Bezug auf verschiedene pathogenetische Komplexe getrennt betrachtet.

So wird die Arteriosklerose als chronisch entzündliche Krankheit verstanden, die Prozesse der Plaquestabilisierung und Plaqueruptur als akute Entzündungsreaktion. Ischämie und Reperfusion führen zu einer weiteren, phänomenologisch ähnlichen, akuten Inflammation. Die Prozesse der entzündungsinduzierten, antientzündlichen Gegenregulation wurde in Bezug auf die Koronare Herzkrankheit bisher nicht systematisch untersucht.

Weiterhin ist durch die beim akuten Myokardinfarkt auftretende akute Streßreaktion eine entzündungshemmende und immundepressive Wirkung zu erwarten.

Zur Entwicklung neuer Strategien des Monitorings und ggf. der therapeutischer Beeinflussung inflammatorischer Pathomechanismen der KHK ist ein integrierendes Verständnis der beteiligten entzündlichen und antientzündlichen Prozesse notwendig.

Antiinflammatorische bzw. antiadhäsive Therapieansätze, ein Gegenstand intensiver Forschung insbesondere in Zusammenhang mit Ischämie und Reperfusion, erfordern zur Patientenauswahl und zur Steuerung der jeweiligen Intervention eine Charakterisierung des vorliegenden inflammatorisch-antiinflammatorischen Gleichgewichts.

Die Auswahl hierfür geeigneter Parameter setzt zunächst breitangelegte, beschreibende Studien dieses komplexen Geschehens voraus.

Ziel der vorliegenden Untersuchung war es daher, anhand eines breiten Spektrums immunologischer Parameter gleichzeitig entzündliche, antientzündliche und streßbedingt immunmodulatorische Phänomene bei Patienten mit stabiler Angina pectoris, akutem Koronarsyndrom und akutem transmuralen Myokardinfarkt im Vergleich zu Kontrollprobanden zu betrachten. Folgende Fragen sollten beantwortet werden:

- (1) In welchem Ausmaß kommt es bei den Patientengruppen zu einer systemischen Entzündungsreaktion?
- (2) Können gleichzeitig Phänomene einer antientzündlichen Gegenregulation beobachtet werden?
- (3) Gibt es Hinweise für eine stressbedingte Immunmodulation beim akuten Myokardinfarkt?

4. Patienten und klinische Untersuchungen

4.1. Patienten

Die Durchführung der vorliegenden Studie erfolgte nach deren Befürwortung durch die Ethikkommission. Sämtliche Patienten und Kontrollprobanden wurden vor der Blutentnahme über den Zweck der Untersuchung informiert und gaben hierzu ihr Einverständnis. Die Patientenrekrutierung erfolgte in Zusammenhang mit einer geplanten Koronarangiographie, hierbei wurde eine periphervenöse Blutentnahme vor Untersuchungsbeginn durchgeführt. Als Kontrollprobanden dienten altersentsprechende Blutspender sowie Klinikmitarbeiter.

Insgesamt wurden 58 Patienten mit Koronarer Herzkrankheit, hiervon 22 Patienten mit stabiler Angina pectoris (Gruppe 1), 17 Patienten mit instabiler Angina pectoris (Gruppe 2) und 19 Patienten mit akutem Myokardinfarkt (Gruppe 3), sowie 16 Kontrollprobanden (Gruppe 0) untersucht. Nach einer ersten Zwischenauswertung der Ergebnisse wurden besonders interessierende Parameter anhand einer Subpopulation von Gruppe 3 im Zeitverlauf von 4 Tagen nachverfolgt. Diese Subgruppe (Gruppe3-R) entsprach Patienten, bei denen ein Verschuß des infarktassoziierten Gefäßes mittels konventioneller PTCA rekanalisiert worden war. Die zusätzlichen Blutentnahmen erfolgten hierbei 4 Stunden nach Rekanalisation sowie jeweils in 24-stündigem Abstand an den folgenden 4 Tagen.

Gruppenzuordnung sowie Alters- und Geschlechtsverteilung stellen sich wie folgt dar:

Tab. 3: Patienten und Kontrollprobanden

	Gruppe 0 Kontrollen	Gruppe 1 stabile Angina pectoris	Gruppe 2 instabile Angina pectoris	Gruppe 3 akuter Myokardinfarkt	Subgruppe 3-R Rekanalisation
Anzahl	16	22	17	19	5
Geschlecht männlich/weiblich	12 / 4	22 / 0	15 / 2	13 / 6	3 / 2
Alter (\pm SEM)	50,6 (\pm 2,2)	55,4 (\pm 2,3)	58,8 (\pm 2,6) *	61,5 (\pm 2,6) **	65,5 (\pm 3,3)

*) $p < 0,05$ vs. Kontrollen, Mann Whitney U-Test

***) $p < 0,01$ vs. Kontrollen, Mann Whitney U-Test

Obwohl versucht wurde, die Kontrollprobanden entsprechend dem erwarteten Patientenalter zu rekrutieren, zeigt sich, daß die Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt signifikant älter als die Kontrollprobanden sind. Eine etwaige Altersabhängigkeit erhobener Parameter muß daher diskutiert werden. Beim Vergleich der Ergebnisse von Gruppe 0 und Gruppe 3 kann in diesem Zusammenhang der Zeitverlauf von Subgruppe 3-R berücksichtigt werden.

4.1.1. Einschlußkriterien

Gruppe 0 / Kontrollprobanden

Gesunde Personen einer den Patienten ähnlichen Altersklasse, insbesondere keine bekannten kardiovaskulären Erkrankungen.

Gruppe 1 / KHK-Patienten mit stabiler Angina pectoris

- typische, belastungsinduzierte Angina pectoris (CCS II)
- Ischämienachweis mittels Ergometrie, Streßechokardiographie oder Myokardszintigraphie

Gruppe 2 / KHK-Patienten mit instabiler Angina pectoris

- wiederholt typische Angina pectoris in Ruhe (CCS IV) in den letzten 24 Stunden vor der Untersuchung
- im Aufnahme-EKG keine ST-Strreckenhebungen

Gruppe 3 / KHK-Patienten mit akutem Myokardinfarkt

- typische Angina pectoris in Ruhe, anhaltend über mindestens 30 Minuten
- Beschwerdenbeginn höchstens 12 Stunden vor der Untersuchung
- im Aufnahme-EKG ST-Strreckenhebungen $\geq 0,2\text{mV}$ in mindestens 2 benachbarten Brustwandableitungen oder ST-Strreckenhebungen $\geq 0,1\text{mV}$ in mindestens 2 Extremitätenableitungen

4.1.2. Ausschlußkriterien

generelle Ausschlußkriterien

- akute und chronische Infektionskrankheiten
- akut entzündliche Erkrankungen (wie Pankreatitis, Cholezystitis usw.)
- chronisch entzündliche Erkrankungen (wie Krankheiten des rheumatologischen Formenkreises, chronisch entzündliche Darmkrankheiten)
- maligne Tumorerkrankungen
- zytostatische, immunsuppressive oder antientzündliche Therapie (mit Ausnahme von ASS)
- Myokardinfarkt in den letzten 3 Monaten
- Koronarinterventionen oder sonstige Operationen in den letzten 3 Monaten

- hypertensive Entgleisung (RR nach Aufnahme wiederholt >200/100 mmHg)
- dekompensierte Herzinsuffizienz (NYHA 3-4 bzw. Killip-Klasse 2-4)
- schwere Niereninsuffizienz (Kreatinin > 3,0 mg/dl)
- schwere Leberinsuffizienz (Child-Pugh B-C)
- Schwangerschaft
- Teilnahme an einer anderen kontrollierten Studie in den letzten 28 Tagen

gruppenspezifische Ausschlußkriterien

Gruppe 1 (stabile Angina pectoris)

- de-novo-Angina, crescendo-Angina oder Ruheangina in den letzten 2 Monaten
- Anstieg der CK > 100 U/l mit einem CKMB-Anteil > 6% in den folgenden 24 Stunden
- koronarangiographischer Ausschluß einer KHK.

Gruppe 2 (instabile Angina pectoris)

- Anstieg der CK > 100 U/l mit einem CKMB-Anteil > 6% in den folgenden 24 Stunden
- koronarangiographischer Ausschluß einer KHK

Gruppe 3 (akuter Myokardinfarkt)

- koronarangiographischer Ausschluß einer KHK

Instabile Angina pectoris und nichttransmuraler Myokardinfarkt werden aufgrund ihrer ähnlichen Pathogenese (Plaqueruptur und Thrombozytenaktivierung) unter dem Begriff des akuten Koronarsyndroms zusammengefaßt. Der Übergang zum transmuralen Myokardinfarkt mit Ausbildung eines persistierenden und okkludierenden Fibrinthrombus ist hierbei fließend (245-249). Wie aus den Ein- und Ausschlußkriterien hervorgeht, wurde in der vorliegenden Untersuchung zur Erreichung einer besseren Abgrenzung von Gruppe 2 und Gruppe 3 auf einen Einschluß von Patienten mit nichttransmuralem Myokardinfarkt verzichtet. Ebenso wurden zur besseren Abgrenzung der Gruppen 1 und 2 Patienten mit einer de-novo- oder crescendo-Angina pectoris nicht in die Untersuchung einbezogen. Die Kriterien für Gruppe 2 entsprechen damit dem Stadium IIIb der Braunwald-Klassifikation der instabilen Angina pectoris (250).

4.2. Klinische Untersuchungen

Die folgenden Untersuchungen dienten der Ermittlung von Ein- und Ausschlußkriterien für die Patientengruppen 1-3 und wurden im Rahmen der klinischen Routine durchgeführt.

- körperliche Untersuchung
- Ruhe-EKG (12 Ableitungen)
- Röntgen des Thorax
- Koronarangiographie
- Laborbestimmungen: Blutbild, Natrium, Kalium, Kreatinin, Harnstoff, CK, GOT, GPT, Quick, PTT

Die Laborbestimmungen erfolgten auch bei den Kontrollprobanden.

Die Untersuchungen zur Ischämiediagnostik für die Patientengruppe 1 wurden zuvor ambulant durchgeführt.

Im Rahmen der Herzkatheteruntersuchung erfolgte eine biplane Laevokardiographie. Bei Kontraindikation (z.B. bereits hoher Kontrastmittelverbrauch während einer Koronarintervention) wurde die linksventrikuläre Funktion am Tage der Herzkatheteruntersuchung echokardiographisch beurteilt.

5. Material und Methoden

5.1. Material

Tab. 4: Bezugsquellen

Anthos Mikrosysteme, Köln	Medac, Heidelberg
Becton Dickinson, Heidelberg	Medgenix, Ratingen
Biermann, Bad Nauheim	Menzel Gläser, Braunschweig
Biochrom KG, Berlin	Merck Diagnostika, Darmstadt
Biosource, Fleurus (BE)	Multilab, Berlin
Braun, Melsungen	Neubauer, Marienfeld
CoTech, Berlin	Ortho Diagnostics, Milano
Dianova, Hamburg	Sarstedt, Nümbrecht
Eppendorf-Netheler-Hinz-GmbH, Hamburg	Sigma Chemicals, Bad Deisenhofen

5.1.1. Chemikalien und biologische Materialien

Tab. 5: Lösungen, Puffer und Kulturmedien

Aqua bidest	Braun
Essigsäure 3%	Merck
FACS-Puffer	
1 mg Natrium-Azid (NaN ₃)	Sigma
20 µl fetales Kälberserum	Sigma
ad 1ml isotonischer Phosphatpuffer (PBS = phosphate buffered saline)	Charité
FACS-Lyse	
100 ml FACS Lysing Solution®, 10-fach konzentriert	Becton Dickinson
ad 1000 ml Aqua bidest	Braun
Kulturmedium	
RPMI 1640 (steril, endotoxinarm < 1pg/ml)	Biochrom
Na-Heparin, 5000 IU/ml	Biochrom
LPS	
1 µg Lipopolysacharid (Stamm E. coli 0127:B8)	Sigma
ad 1ml isotonischer Phosphatpuffer (PBS = phosphate buffered saline)	Charité

Tab. 6: Konjugierte monoklonale Antikörper (Maus-anti-Mensch) der Subklasse IgG1

Zielantigen	Bezeichnung	Fluoreszenz-Markierung	Hersteller
CD4	(T4)	TriColor	Medac
CD8	(T8)	TriColor	Medac
CD11a	(LFA-1, α -Kette)	FITC	Dianova
CD11b/IOM1	(MAC-1, α -Kette)	FITC	Dianova
CD11b/OKM1	(MAC-1, α -Kette)	PE	Ortho
CD11c	(gp150,95, α -Kette)	PE	Becton-Dickinson
CD14	(LeuM3)	TriColor	Medac
CD16	(Fc γ RIII)	TriColor	Medac
CD18	(β -Kette CD11a-c)	FITC	Dianova
CD25	(IL-2-Rec., α -Kette)	PE	Dianova
CD32	(Fc γ RII)	PE	Medac
CD54	(ICAM-1)	FITC	Dianova
CD62-L	(L-Selektin)	FITC	Dianova
CD64	(Fc γ RI)	TriColor	Medac
CD69	(Leu-23)	FITC	Becton-Dickinson
HLA-DR	(MHC-Klasse II)	PE	Dianova

Tab. 7: Enzymimmunoassays

1. Lösliche Adhäsionsmoleküle

sL-Selektin (sCD62L)	Biermann
sP-Selektin (sCD62P)	Biermann
sE-Selektin (sCD62E)	Biermann
sLFA-3 (sCD58)	Dianova

2. Zytokine

TNF- α HS Quantikine	Biermann
TNF- α	Medgenix
IL-10 US	Biosource

3. Hormone

Cortisol	Biermann/Immulite
----------	-------------------

5.1.2. Verbrauchsmaterialien

Tab. 8: Verbrauchsmaterialien

Monovette EDTA 10 ml	Sarstedt
Monovette EDTA 5 ml	Sarstedt
Eppendorf-Röhrchen 1,5 ml	Eppendorf
Eppendorf-Röhrchen 2,0 ml, steril	Eppendorf
Micronic-Röhrchen 1ml	Multilab

5.1.3. Meß- und Arbeitsgeräte sowie Software

Tab. 9: Meß-und Arbeitsgeräte

Durchflußzytometer:	FACSort	Becton Dickinson
EIA-Reader:	Anthos EIA Star Reader 2001	Anthos
Sterilbox:	DLF/BSS 6 Biohazard	CoTech
Brutschrank:	Jouan 110/R	CoTech
Zentrifuge:	CW-2	Heraeus

Tab. 10: Software

Durchflußzytometrie:	LYSIS II	Becton Dickinson
EIA-Reader:	Anthos EIA Star, Vs. 7.0	Anthos
Statistik:	SPSS, Vs. 10.0	Microsoft

5.2. Methoden

5.2.1. Probenverarbeitung

Die Verarbeitung der Blutproben erfolgte unmittelbar nach der periphervenösen Entnahme.

5.2.1.1. Plasmaproben für ELISA

EDTA-Blut (Sarstedt-Monovette) wurde 20 Minuten mit 2000 G bei 10°C zentrifugiert. Der hierdurch thrombozytenfreie Plasmaüberstand wurde zu je 500 µl in Eppendorf-Röhrchen bei 70°C kryokonserviert.

5.2.1.2. Probenverarbeitung für die Durchflußzytometrie

Separationsmethoden wie die Dichtegradientenzentrifugation, verbunden mit Abkühlung und Wiedererwärmung, führen zu einer Phagozytenaktivierung mit entsprechend veränderter Expression von Oberflächenmolekülen (z.B. Erhöhung von MAC-1, CD16, CD32, Reduktion von L-Selektin) (251-254). In der vorliegenden Untersuchung wurde daher die Inkubation mit fluorochrommarkierten monoklonalen Antikörpern im Vollblut bei Raumtemperatur durchgeführt. Nachträgliche zelluläre Aktivierungsvorgänge wurden zusätzlich durch in den Antikörperansätzen und im FACS-Puffer enthaltenes Natrium-Azid (ATPasen-Inhibitor) gehemmt.

EDTA-Blut (Sarstedt-Monovette) wurde zu je 50 µl den in Eppendorf-Röhrchen zu je 20 µl vorbereiteten Antikörpersuspensionen A-F zugegeben.

Tab. 11: Zusammensetzung der Antikörpersuspensionen

Ansatz	Antikörper mit Fluoreszenz 1 (FITC) Volumenanteil	Antikörper mit Fluoreszenz 2 (PE) Volumenanteil	Antikörper mit Fluoreszenz 3 (TriCol.) Volumenanteil	Natrium-Azid 0,1% Volumenanteil
A	ICAM-1 (4x)	CD11c (4x)	CD14 (1x)	6x
B	CD11a (4x)	HLA-DR (4x)	CD4 (1x), CD8 (1x)	6x
C	CD69 (4x)	CD25 (4x)	CD4 (1x), CD8 (1x)	6x
D	CD18 (1x)	CD11b/OKM1 (1x)	CD16 (1x)	1x
E	CD11b/IOM1 (1x)	CD32 (1x)	CD64 (1x)	1x
F	L-Selektin (1x)	CD41 (1x)	CD14 (1x)	1x

Anschließend erfolgte eine 30-minütige Inkubation bei Raumtemperatur und unter Lichtabschluß. Im weiteren wurden die Erythrozyten durch Zugabe von 1 ml FACS-Lyse-Reagenz mit 8-minütiger Einwirkzeit bei Raumtemperatur lysiert. Die nun zur Entfernung freier Antikörper durchgeführten zwei Waschschriffe beinhalteten je eine Zentrifugation mit 300 G bei 4°C über 4 Minuten, Dekantieren und Resuspension in 1 ml bzw. 100 µl FACS-Puffer. Schließlich wurden die Proben zu je 100 µl in Micronic-Röhrchen umgefüllt und der durchflußzytometrischen Messung zugeführt.

5.2.2. Zytokinfreisetzung in Vollblutkulturen

EDTA-Blut (Sarstedt-Monovette) wurde zu je 1ml den in Eppendorf-Röhrchen zu je 1ml vorbereiteten Kulturansätzen I und II zugegeben. (Deren Präparation erfolgte zuvor unter sterilen Bedingungen, die Zwischenlagerung wurde bei -70°C durchgeführt.)

Tab. 12: Kulturansätze für in-vitro-Stimulationstests

Ansatz	RPMI 1640	Na-Heparin	LPS
I (LPS)	1ml	20 IU	200 ng
II (Kontrolle)	1ml	20 IU	entfällt

Anschließend erfolgte eine Inkubation über 6 Stunden bei 37°C. Nachfolgend wurden die Kulturüberstände mittels Zentrifugation mit 2000 G über 10 Minuten bei 10°C separiert. Schließlich wurden die Proben zu je 400 µl in Eppendorf-Röhrchen bei -70°C kryokonserviert.

5.2.3. Durchflußzytometrische Phänotypisierung von Leukozyten

Die Durchflußzytometrie ist eine etablierte Methode zur Analyse fluorochrommarkierter Einzelzellen in Suspension auf der Grundlage von Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften. Innerhalb eines laminaren Flüssigkeitsstrahls erreichen die Zellen den Meßpunkt, auf den ein Argonlaser fokussiert ist. Entsprechend den physikalischen Eigenschaften der Zelle (Größe und Granularität) und der Fluoreszenzmarkierung kommt es zur Streuung des Lichts und zur Absorption mit nachfolgend langwelligerer Fluoreszenzlichtemission durch die Fluorochrome. Bereits die Streulichteigenschaften erlauben eine Differenzierung einer Leukozytenpopulation in Granulozyten, Monozyten und Lymphozyten. Eine noch genauere Abgrenzung sowie die

Differenzierung von Lymphozytensubpopulationen erfordert eine zusätzliche Fluoreszenzmarkierung mit Antikörpern gegen zellspezifische Membranantigene. Nach Mehrfachmarkierung der Zellen können so die durch Kombination von Streulicht- und Fluoreszenzeigenschaften ("gate") selektierten Zellen gleichzeitig in Hinblick auf eine weitere Fluoreszenzeigenschaft (die z.B. die Expression eines Zellaktivierungsmarkers repräsentiert) untersucht werden (Multiparameteranalyse). Das für die vorliegende Untersuchung verwandte FACSort (Becton Dickinson) ermöglicht die Nutzung von 3 Fluoreszenzkanälen entsprechend den Emissionsmaxima der genutzten Fluorochrome: 525 nm (Fluoreszinoisothiocyanat/FITC), 575 nm (Phycoerythrin/PE) und 650 nm (TriColor). Je Probe wurden 10.000 Zellen untersucht. Die Rohdatenauswertung erfolgte mittels LYSIS-II-Software, die Gerätestandardisierung durch das AutoComp-Programm und Calibrite-Beads (alle Becton Dickinson).

5.2.4. Messung der Plasmakonzentrationen von Zytokinen und löslichen Adhäsionsmolekülen

Beim Enzymimmunoassay (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) sind an eine Trägerplatte Antikörper gegen das zu untersuchende Antigen gebunden. Nach Zugabe einer Probe bzw. einer Verdünnungsreihe des reinen Antigens (Standard) bindet das Antigen an den Festphasenantikörper. Ungebundenes Antigen wird ausgewaschen. Ein danach im Überschuß zugegebener zweiter Antikörper bindet an ein anderes Epitop des untersuchten Antigens. An diesen Detektionsantikörper ist ein Enzym gekoppelt, das eine Farbreaktion vermitteln kann. Nichtgebundene Antikörper werden ausgewaschen. Nach Zugabe eines Substrates wird die enzymvermittelte Farbreaktion gestartet. Die Extinktion der einzelnen Proben wird dann photometrisch gemessen und zur Berechnung der Konzentration des Antigens mit den Standards verglichen. Für die vorliegende Untersuchung wurden kommerziell verfügbare ELISA's verwandt. Die Methodik entsprach dabei der Anleitung des jeweiligen Herstellers. Die photometrische Messung erfolgte mit dem Anthos-EIA-Star-Reader 2001, die Rohdatenauswertung mit der zugehörigen Software Anthos EIA Star, Vs. 7.0 (Anthos) anhand der Eichkurven.

Die Plasmakortisolspiegel wurden mittels eines vollautomatischen Chemilumineszenz-Immunoassay-Systems (Immulite, Biermann) im Rahmen der klinischen Routine bestimmt.

5.2.5. Leukozytenzählung

Die Leukozytenzahl wurde im EDTA-Blut (Sarstedt-Monovette) photometrisch im Rahmen der klinischen Routine ermittelt (Coulter-MD8). Die Absolutzahlen lymphozytärer Subpopulationen (CD4+, CD16+) ergaben sich aus der durchflußzytometrisch ermittelten Relativzahl von Leukozyten mit lymphozytären Streulichteigenschaften sowie Expression des entsprechenden Oberflächenantigens, bezogen auf die Gesamtleukozytenzahl.

5.2.6. Differentialblutbild

Die Relativzahlen von Lymphozyten, Monozyten, eosinophilen, basophilen sowie segmentkernigen und stabkernigen neutrophilen Granulozyten wurden mikroskopisch nach Auszählung von 100 Zellen im Rahmen der klinischen Routine bestimmt.

5.2.7. Statistik

Die Ergebnisse wurden als Absolutwerte (arithmetischer Mittelwert \pm Standardfehler) dargestellt. Zum Vergleich der Ausgangswerte von Gruppe 0-3 (unabhängige Stichproben) wurde der Mann-Whitney-U-Test verwandt. Zum Vergleich verschiedener Zeitpunkte der Subgruppe 3-R (abhängige Stichproben) diente der Wilcoxon-Paar-Rang-Test. Korrelationen von Parametern in der Gesamtpopulation (Gruppe 0-3) wurden mit dem Pearson-Korrelationskoeffizienten beschrieben.

Signifikanzniveau: 5% signifikant ($p < 0,05$), 1% hochsignifikant ($p < 0,01$).

Die statistische Auswertung erfolgte mit Hilfe der SPSS-Software, Vs. 10.0 (Microsoft).

6. Ergebnisse

6.1. Klinische Ergebnisse

6.1.1. Koronarangiographie und PTCA

Die untersuchten KHK-Patienten (Gruppe 1-3) zeigten koronarangiographisch signifikante Stenosen bzw. Verschlüsse epikardialer Koronargefäße. Die im Zeitverlauf verfolgten 5 Infarktpatienten (Untergruppe 3-R) wiesen proximale Verschlüsse von Koronararterien auf, die mittels konventioneller PTCA rekanalisiert werden konnten. Das Zeitintervall vom Beschwerdenbeginn bis zur Koronarangiographie (Mittelwert \pm SEM) betrug für Gruppe 3 4,4 (\pm 0,5) Stunden, für Untergruppe 3-R 3,6 (\pm 0,9) Stunden.

6.1.2. Linksventrikuläre Funktion

-klinische Beurteilung

Sämtliche Infarktpatienten entsprachen klinisch der Killip-Klasse I. Auch bei den Patienten der Gruppen 1 und 2 fanden sich klinisch keine Zeichen einer kardialen Dekompensation.

-laevokardiographische und echokardiographische Abschätzung

Die mittels biplaner Laevokardiographie bzw. Echokardiographie abgeschätzte linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) stellt sich für die Patientengruppen 1-3 wie folgt dar:

Tab. 13: LVEF von KHK-Patienten (Mittelwert \pm SEM)

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
LVEF [%]	63,4 (\pm 2,1)	62,1 (\pm 3,2)	55,1 (\pm 2,5) *, **

*) $p < 0,05$ vs. Gruppe 2, Mann Whitney U-Test

***) $p < 0,01$ vs. Gruppe 1, Mann Whitney U-Test

Die Infarktpatienten zeigten demzufolge gegenüber Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris eine signifikante, jedoch nur geringgradige linksventrikuläre Funktionseinschränkung.

-invasive Druckmessung

Der im Rahmen der Herzkatheteruntersuchung gemessene linksventrikuläre enddiastolische Druck (LVEDP) stellt sich für die Patientengruppen 1-3 wie folgt dar:

Tab. 14: LVEDP von KHK-Patienten (Mittelwert \pm SEM)

	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
LVEDP [mmHg]	12,1 (\pm 1,3)	16,9 (\pm 2,0) *	16,6 (\pm 1,9) +

*) $p < 0,05$ vs. Gruppe 1, Mann Whitney U-Test

+) $p = 0,068$ vs. Gruppe 1, n.s., Mann Whitney U-Test

Demzufolge zeigten Patienten mit instabiler Angina pectoris signifikant höhere linksventrikuläre Füllungsdrücke als Patienten mit stabiler Angina pectoris.

Eine ähnliche Tendenz ist auch für Infarktpatienten zu erkennen.

6.1.3. Myokardenzyme

Sämtliche Infarktpatienten zeigten einen signifikanten Anstieg der Creatinkinase (CK) mit einem CKMB-Anteil $> 6\%$. Die im stationären Verlauf maximal erreichte CK (Mittelwert \pm SEM) betrug für die Gesamtgruppe 726 (\pm 63,7) U/l, für Untergruppe 3-R 766(\pm 159) U/l.

6.2. Quantitatives Verhalten von Leukozytenpopulationen

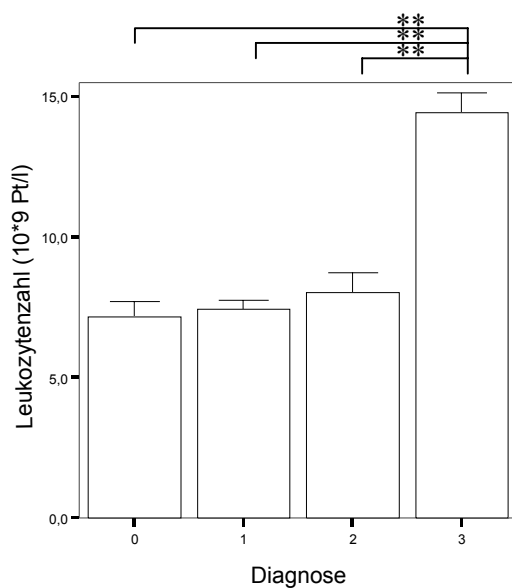


Abb. 1: Leukozytenzahl, Gruppenvergleich

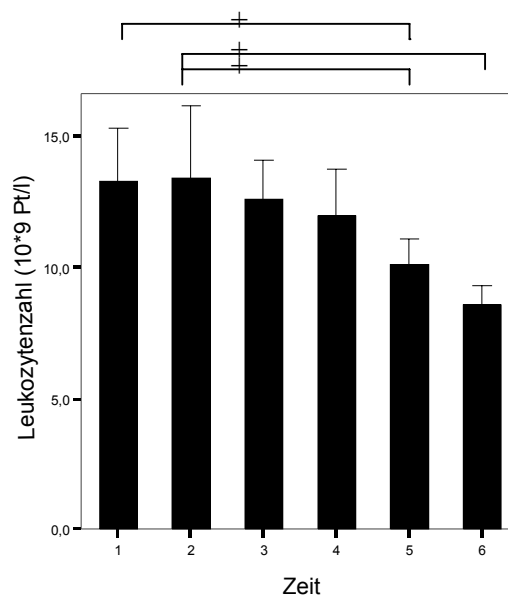


Abb. 2: Leukozytenzahl, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

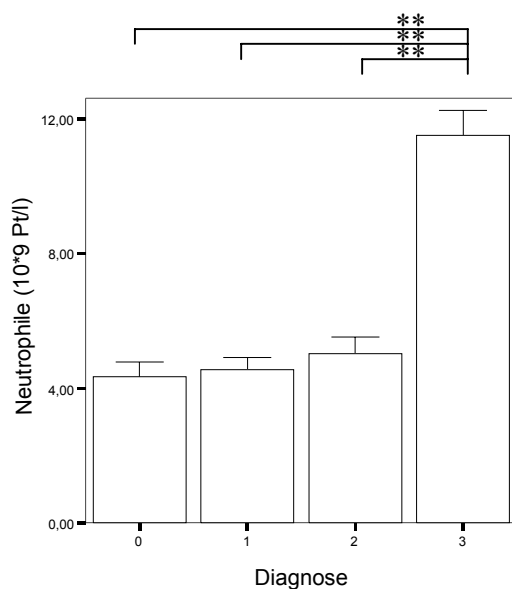


Abb. 3: Neutrophile, Gruppenvergleich

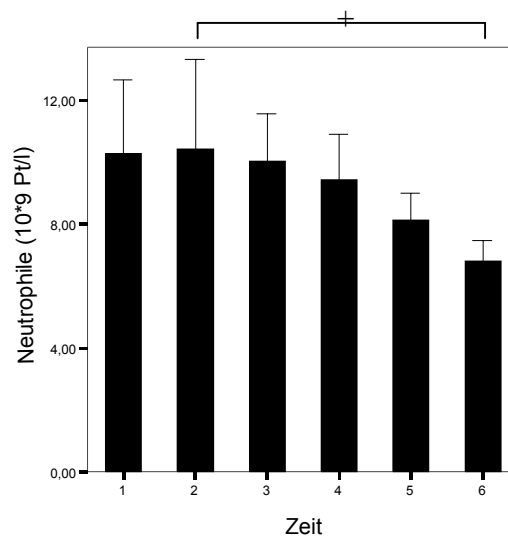


Abb. 4: Neutrophile, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

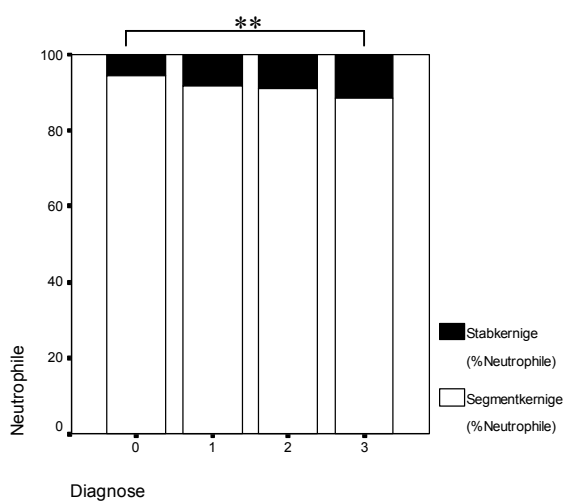
Sämtliche Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

+) $p < 0,05$, Wilcoxon-Paar-Rang-Test

**) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

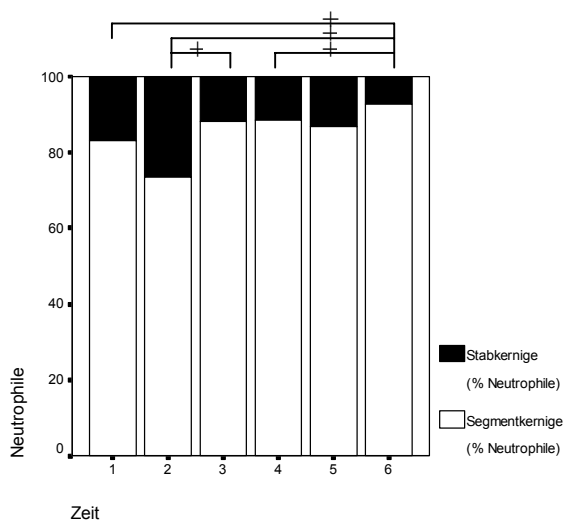
Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation



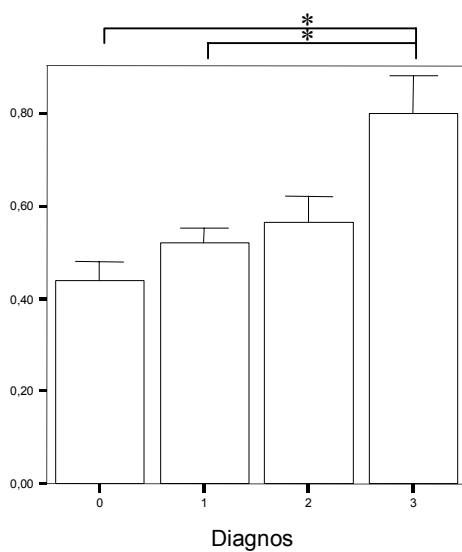
Diagnose

Abb. 9: Subpopulationen Neutrophile.



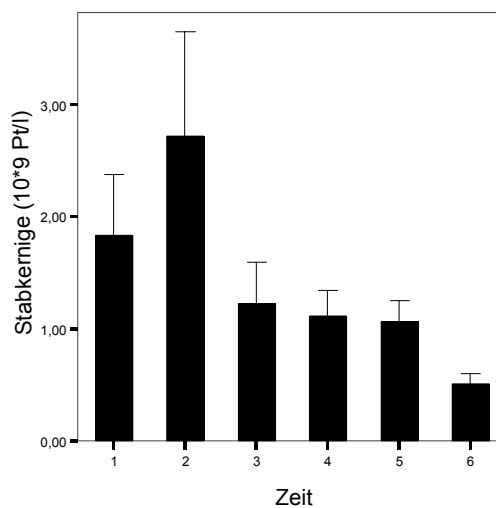
Zeit

Abb. 10: Subpopulationen Neutrophile, Zeitverlauf



Diagnos

Abb. 11: Monozyten Gruppenvergleich



Zeit

Abb. 12: Monozyten Zeitverlauf Subgruppe

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

+) $p < 0,05$, Wilcoxon-Paar-Rang-Test

**) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation

Tab. 15: Absolutzahlen eosinophiler und basophiler Granulozyten sowie Gesamtlymphozytenzahl, Gruppenvergleich (Mittelwert \pm SEM)

	Gruppe 0	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
Eosinophile [10^9 Pt/l]	1,1 \pm 0,35	1,3 \pm 0,28	1,3 \pm 0,32	0,69 \pm 0,26
Basophile [10^9 Pt/l]	0,16 \pm 0,09	0,43 \pm 0,10	0,41 \pm 0,15	0,61 \pm 0,21
Lymphozyten [10^9 Pt/l]	20,8 \pm 1,9	20,6 \pm 1,4	21,2 \pm 2,5	18,9 \pm 2,5

Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigen eine signifikant erhöhte Leukozytenzahl. Hierzu trägt vor allem eine erhöhte Zahl neutrophiler Granulozyten mit Linksverschiebung bei. Weiterhin ist die Monozytenzahl erhöht. Demgegenüber zeigen die Absolutzahlen von eosinophilen und basophilen Granulozyten ebenso wie die Gesamtlymphozytenzahl keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen.

Ein tendenzieller Rückgang der Anzahl neutrophiler Granulozyten sowie der Linksverschiebung ist ab dem 1.Tag nach Rekanalisation zu erkennen. Demgegenüber tendiert die Monozytenzahl zu einem Maximum am 2. postinfarziellen Tag.

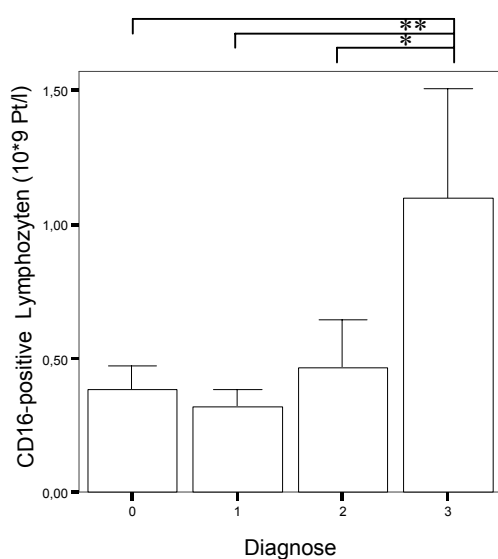


Abb.13: NK-Zellen
Gruppenvergleich

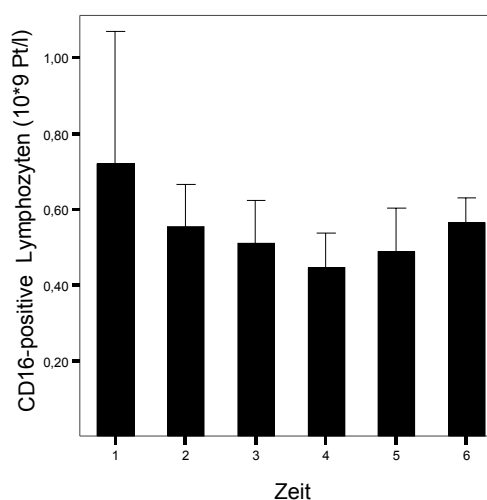


Abb.14: NK-Zellen
Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

+) $p < 0,05$, Wilcoxon-Paar-Rang-Test

**) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation

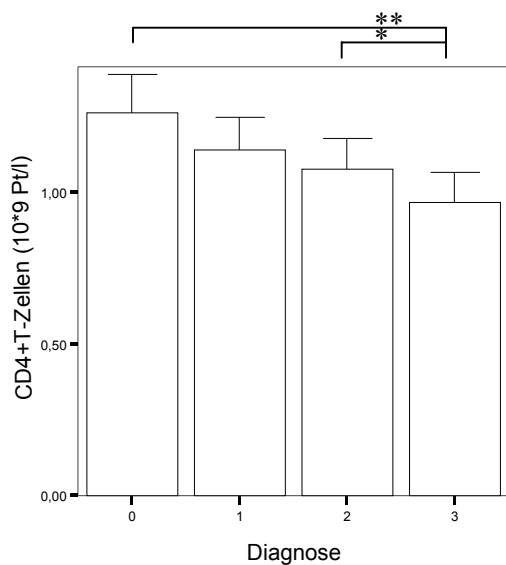


Abb. 15: CD4+T-Zellen
Gruppenvergleich

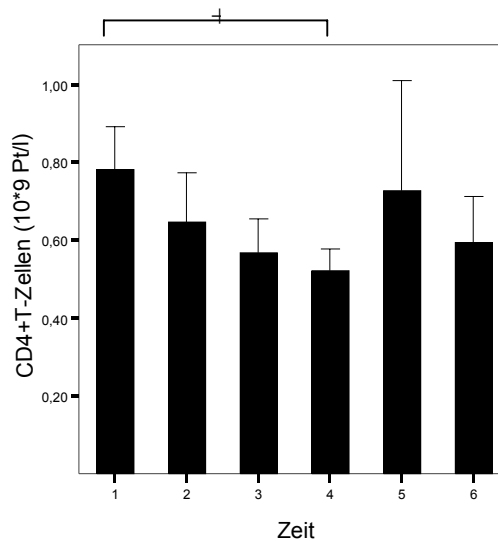


Abb. 16: CD4+T-Zellen
Zeitverlauf Subgruppe 3-R

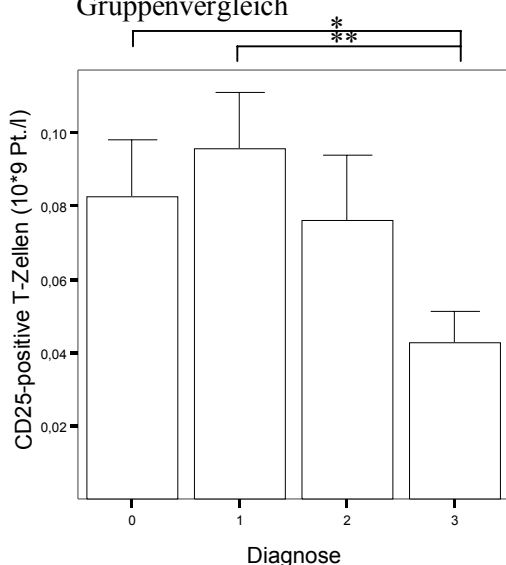


Abb. 17: CD25+T-Zellen
Gruppenvergleich

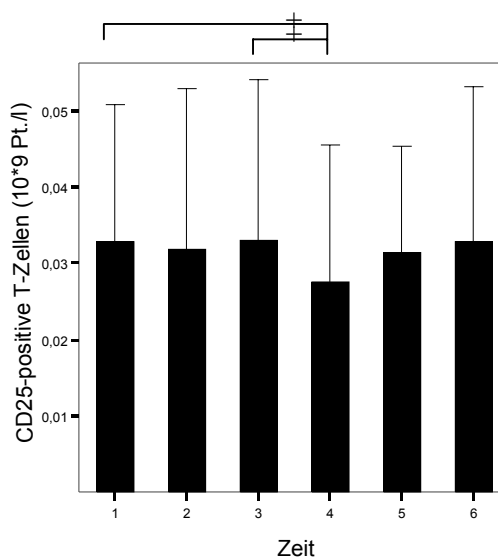


Abb. 18: CD25+T-Zellen
Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigen innerhalb der Lymphozytenpopulation eine signifikant erhöhte Anzahl von NK-Zellen (CD16-positive Lymphozyten). Demgegenüber ist die Zahl der CD4+T-Zellen (CD4-positive Lymphozyten) sowie der CD25-positiven T-Zellen signifikant reduziert.

Ein tendenzieller Rückgang der NK-Zellzahl ist bereits 4 Stunden nach Rekanalisation zu beobachten. Die Anzahl der CD4+T-Zellen tendiert zu einem Minimum am 2. postinfarziellen Tag. Hier zeigt sich auch eine minimale Zahl CD25-positiver T-Zellen, ohne daß im weiteren Verlauf eine Tendenz zu erkennen ist.

6.3. HLA-DR-Expression auf Monozyten

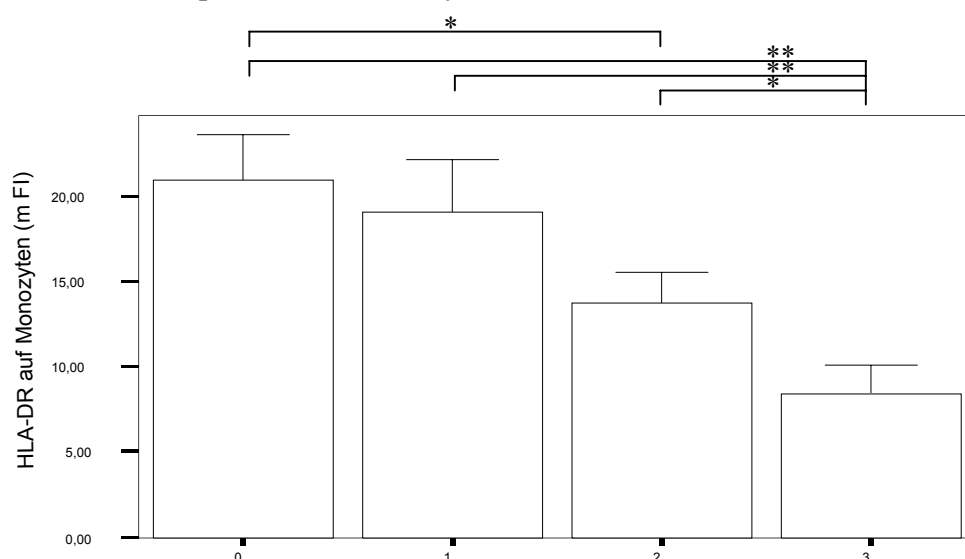


Abb. 19: HLA-DR auf Monozyten Diagnose

Gruppenvergleich

Die monozytäre HLA-DR-Expression ist bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt signifikant reduziert. Dies trifft auch auf Patienten mit instabiler Angina pectoris vs. Kontrollprobanden zu.

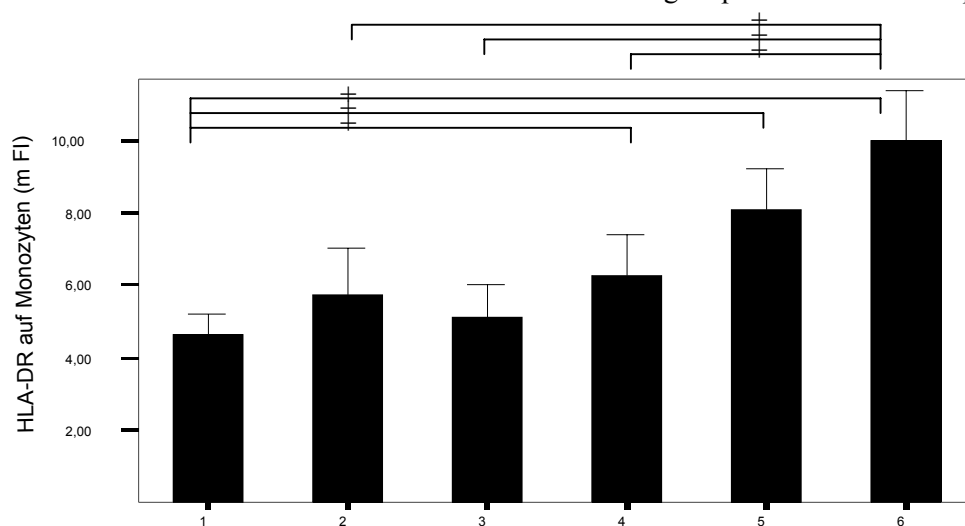


Abb. 20: HLA-DR auf Monozyten Zeit

Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Im Zeitverlauf ist bei Infarktpatienten ein sukzessiver, signifikanter Anstieg der HLA-DR-Expression auf Monozyten zu beobachten.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

+) $p < 0,05$, Wilcoxon-Paar-Rang-Test

**) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation

6.4. Plasmakonzentrationen von IL-10, TNF- α und IL-6

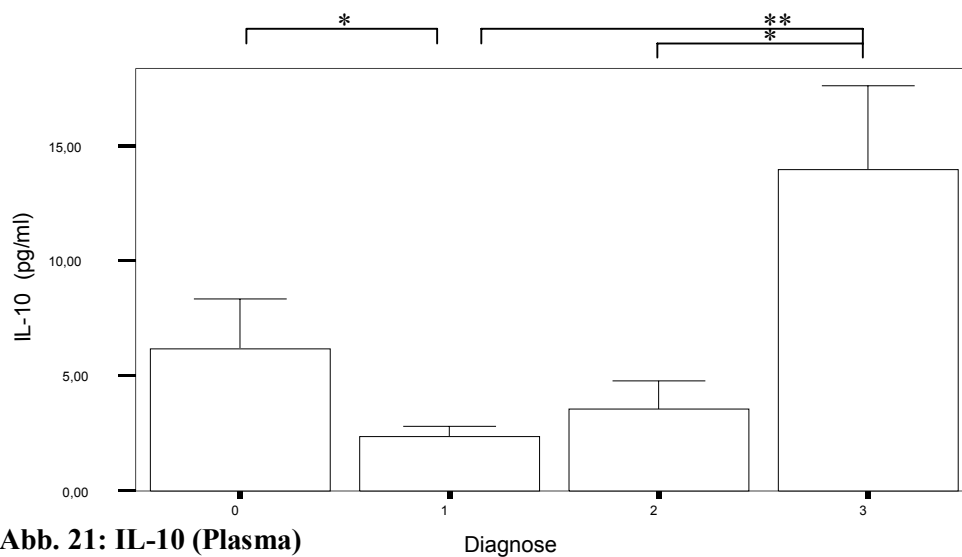


Abb. 21: IL-10 (Plasma)

Gruppenvergleich

Die Plasmakonzentration von IL-10 ist bei Infarktpatienten gegenüber den anderen Patientengruppen, nicht jedoch gegenüber den Kontrollprobanden signifikant erhöht.

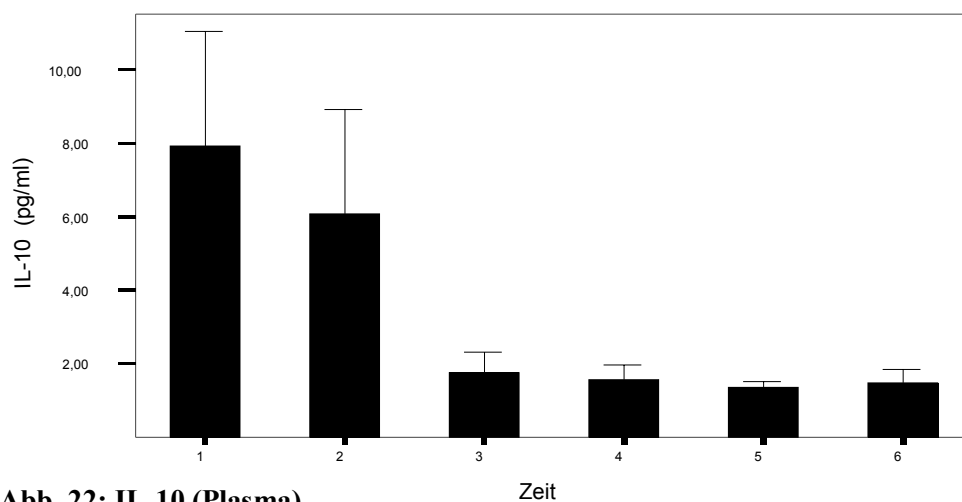


Abb. 22: IL-10 (Plasma)

Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Im Zeitverlauf zeigt sich ein tendenzieller Abfall von IL-10 ab dem 1. postinfarziellen Tag.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

**) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation

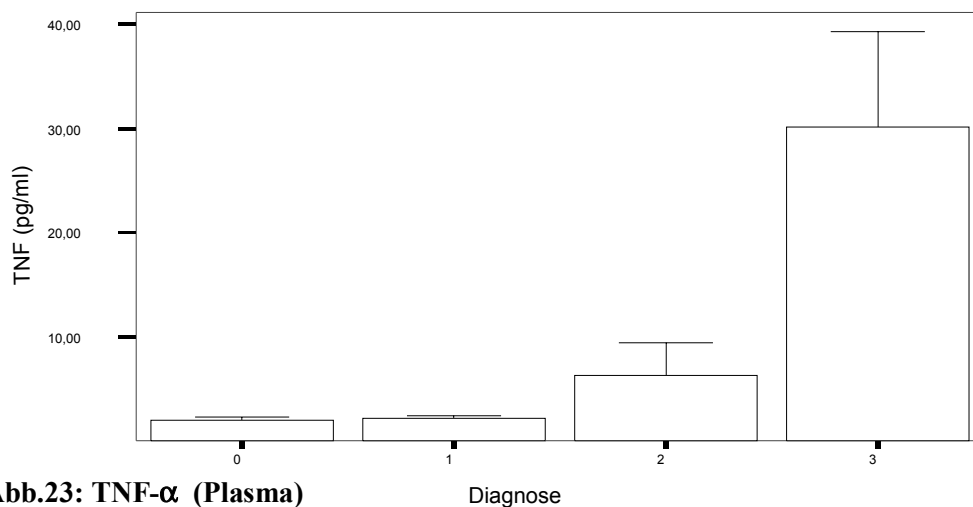


Abb.23: TNF- α (Plasma)

Gruppenvergleich

Patienten mit instabiler Angina pectoris, insbesondere jedoch Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigen tendenziell eine Erhöhung von TNF- α .

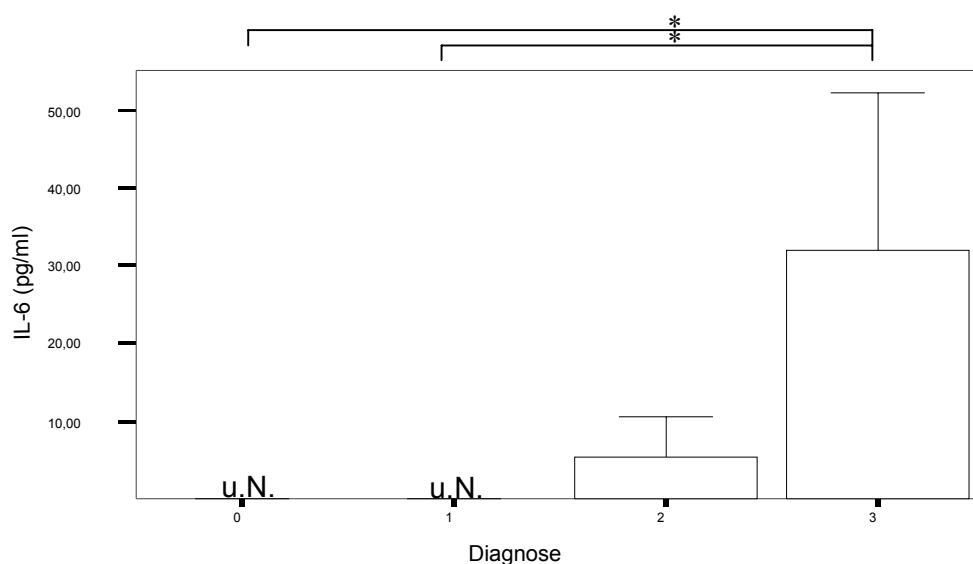


Abb.24: IL-6

(Plasma)

Gruppenvergleich

Der Messbereich des verwendeten IL-6-ELISA wurde vereinzelt bei Patienten mit instabiler Angina pectoris, jedoch durchgängig bei Infarktpatienten erreicht. Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigen damit eine signifikante IL-6-Erhöhung gegenüber Kontrollprobanden und Patienten mit stabiler Angina pectoris.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt

6.5. LPS-induzierte TNF- α -Produktion in vitro

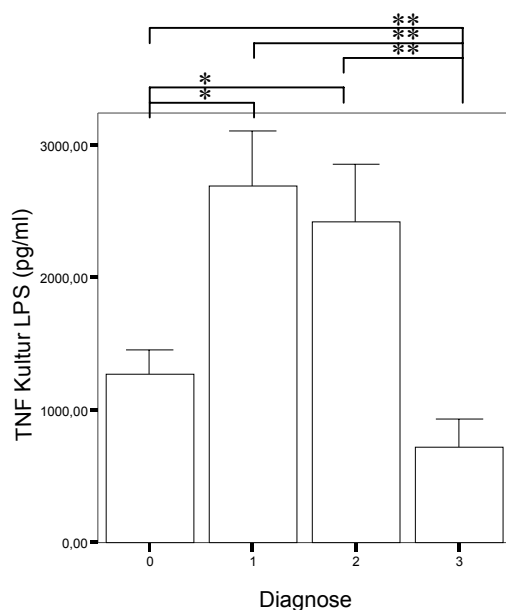


Abb. 25: LPS-induzierte TNF- α -Produktion, Gruppenvergleich

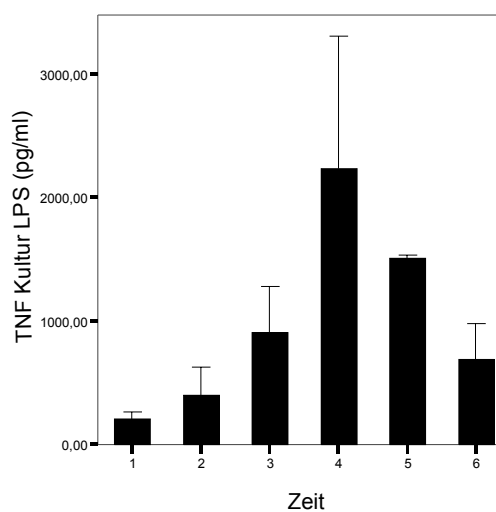


Abb. 26: LPS-induzierte TNF- α -Produktion, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Tab. 16: TNF- α -Produktion im LPS-freien Kulturmedium (Kontrolle) Gruppenvergleich (Mittelwert \pm SEM)

	Gruppe 0	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
TNF- α [pg/ml]	40,2 \pm 0,19	62,1 \pm 14,6	39,8 \pm 0,12	40,3 \pm 0,27

Im LPS-freien Kulturmedium zeigten sich keine signifikanten Gruppenunterschiede in Bezug auf die nur geringfügige TNF- α -Produktion. Die LPS-induzierte TNF- α -Produktion von Monozyten ist bei Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris gegenüber Kontrollprobanden signifikant erhöht. Im weiteren findet sich ein signifikanter Abfall zwischen diesen Patientengruppen und Patienten mit akutem Myokardinfarkt. Der Zeitverlauf zeigt bei Infarktpatienten einen tendenziellen Anstieg der LPS-induzierten TNF- α -Produktion mit Maximum am 2. postinfarziellen Tag.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

**) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation

6.6. Aktivierungsmarker auf CD4+T-Zellen

Tab. 17: Relativ- und Absolutzahl CD11a-positiver CD4+T-Zellen
Gruppenvergleich (Mittelwert \pm SEM)

	Gruppe 0	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
CD11a-high CD4+T-Zellen relativ [% CD4+T-Zellen]	25,4 \pm 3,5	29,6 \pm 2,7	27,4 \pm 3,1	29,4 \pm 3,8
CD11a-high CD4+T-Zellen absolut [10^9 Pt/l]	0,35 \pm 0,08	0,34 \pm 0,04	0,30 \pm 0,04	0,27 \pm 0,04

In Bezug auf den Anteil bzw. die Absolutzahl stark CD11a-exprimierender CD4+T-Zellen sind zwischen den Gruppen keine signifikanten Unterschiede feststellbar. In Übereinstimmung mit der Gesamtzahl CD4+T-Zellen ist die Absolutzahl des stark CD11a-exprimierenden Anteils bei Infarktpatienten tendenziell erniedrigt.

6.7. Adhäsionsmoleküle auf Phagozyten

Tab. 18: β 2-Integrine auf Phagozyten
Gruppenvergleich (Mittelwert \pm SEM)

	Gruppe 0	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
CD18, Granulozyten [m FI]	6,5 \pm 0,4	5,6 \pm 0,2	5,4 \pm 0,4	5,6 \pm 0,5
CD18, Monozyten [m FI]	13,6 \pm 0,9	12,4 \pm 0,8	12,3 \pm 1,1	12,7 \pm 1,2
CD11a, Granulozyten [m FI]	16,0 \pm 1,0	14,5 \pm 0,7	15,6 \pm 1,1	16,6 \pm 0,9
CD11a, Monozyten [m FI]	35,3 \pm 1,8	35,9 \pm 1,2	33,9 \pm 2,2	32,5 \pm 1,8
CD11b (OKM1), Granulozyten [m FI]	54,5 \pm 6,7	65,2 \pm 8,6	78,9 \pm 23,6	58,9 \pm 7,7
CD11b (OKM1), Monozyten [m FI]	62,1 \pm 6,9	65,3 \pm 5,3	63,0 \pm 5,3	61,6 \pm 6,0
CD11c, Granulozyten [m FI]	17,4 \pm 2,8	16,3 \pm 1,7	16,6 \pm 3,2	15,9 \pm 1,7
CD11c, Monozyten [m FI]	41,4 \pm 5,1	44,6 \pm 5,9	45,3 \pm 7,8	40,8 \pm 4,9

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris,
3=akuter Myokardinfarkt

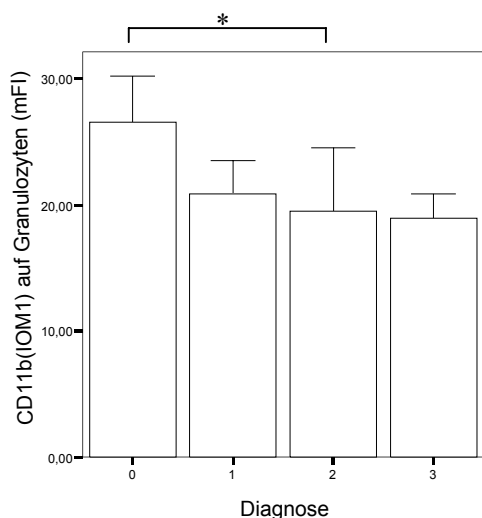


Abb. 27: CD11b (IOM1) auf Granulozyten, Gruppenvergleich

Lediglich das von IOM1 gebundene CD11b-Epitop zeigt eine reduzierte granulozytäre Expression bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und eine reduzierte monozytäre Expression bei Infarktpatienten. Im übrigen finden sich in Bezug auf die β 2-Integrin-Expression von Phagozyten keine signifikanten Gruppenunterschiede.

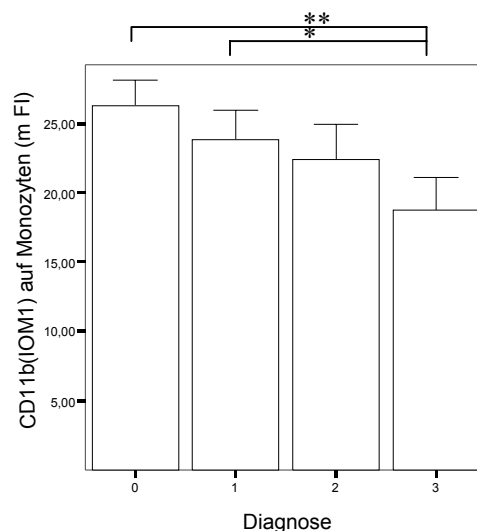


Abb. 28: CD11b (IOM1) auf Monozyten, Gruppenvergleich

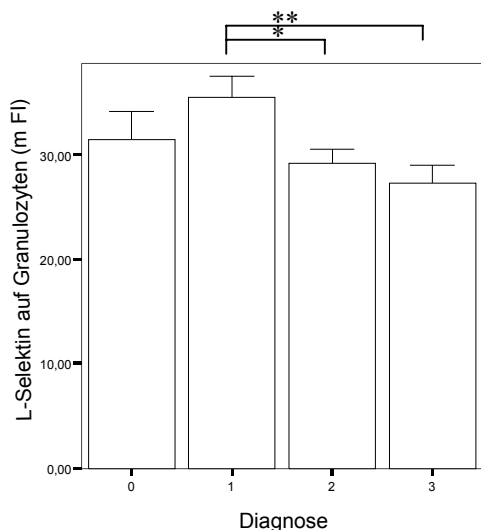


Abb. 29: L-Selektin auf Granulozyten, Gruppenvergleich

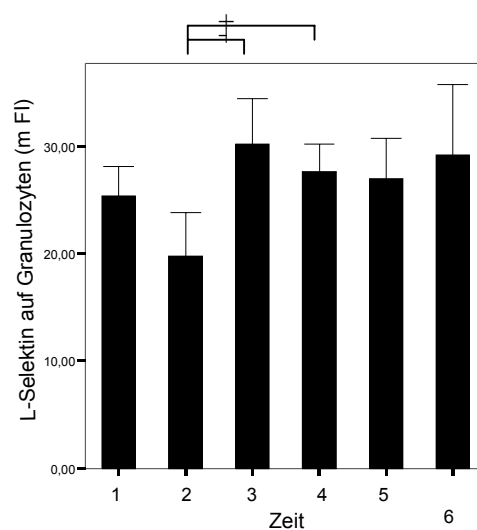


Abb. 30: L-Selektin auf Granulozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Tab. 19: L-Selektin auf Monozyten Gruppenvergleich (Mittelwert \pm SEM)

	Gruppe 0	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
L-Selektin, Monozyten [m FI]	9,0 \pm 1,1	9,9 \pm 1,0	7,9 \pm 1,0	10,2 \pm 1,0

Die granulozytäre L-Selektin-Expression ist bei Infarktpatienten und Patienten mit instabiler Angina pectoris gegenüber Patienten mit stabiler Angina pectoris signifikant reduziert. Bei Infarktpatienten deutet sich im Zeitverlauf ein Minimum der L-Selektin-Expression auf Granulozyten 4 Stunden nach Rekanalisation an.

Die monozytäre L-Selektin-Expression zeigt keine signifikanten Gruppenunterschiede.

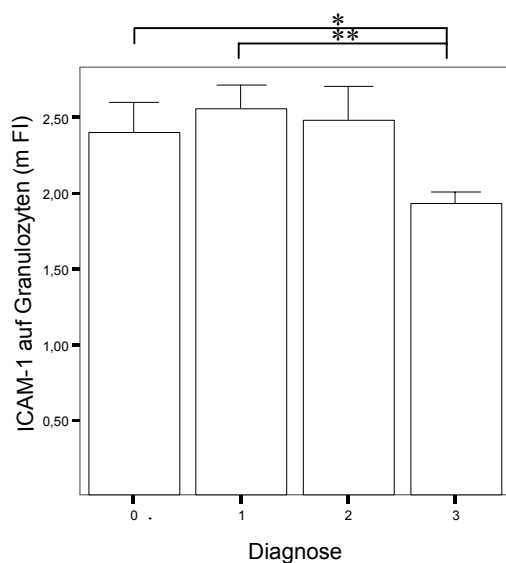


Abb. 31: ICAM-1 auf Granulozyten
Gruppenvergleich

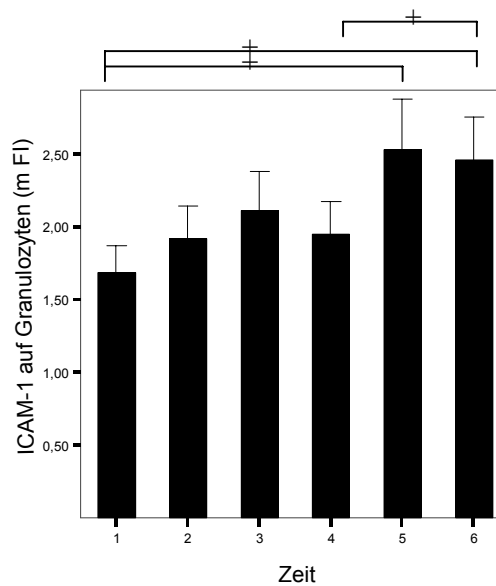


Abb. 32: ICAM-1 auf Granulozyten
Zeitverlauf Subgruppe 3-R

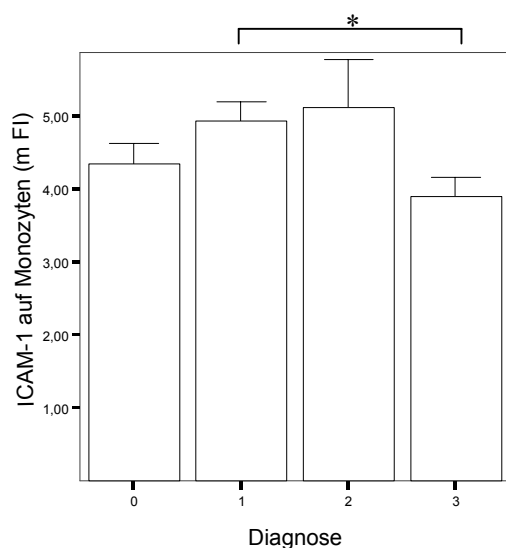


Abb. 33: ICAM-1 auf Monozyten
Gruppenvergleich

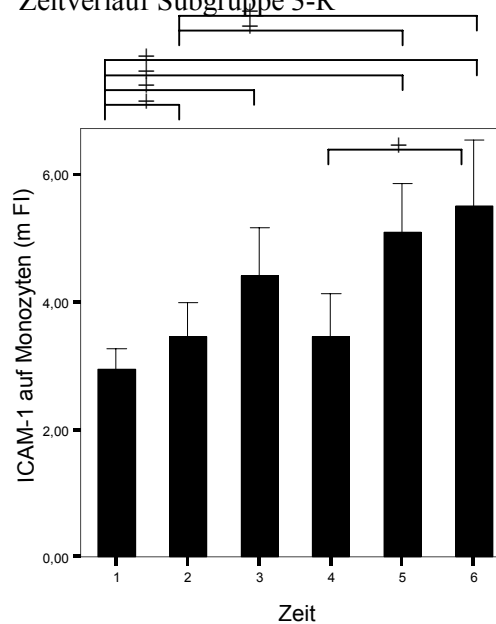


Abb. 34: ICAM-1 auf Monozyten
Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Die monozytäre und granulozytäre ICAM-1-Expression ist bei Infarktpatienten gegenüber Patienten mit stabiler Angina pectoris signifikant reduziert. Im Zeitverlauf kommt es zu einem sukzessiven, signifikanten Anstieg der ICAM-1-Expression auf Monozyten und Granulozyten.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

+) $p < 0,05$, Wilcoxon-Paar-Rang-Test

***) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation

6.8. LPS/LBP-Rezeptor auf Monozyten

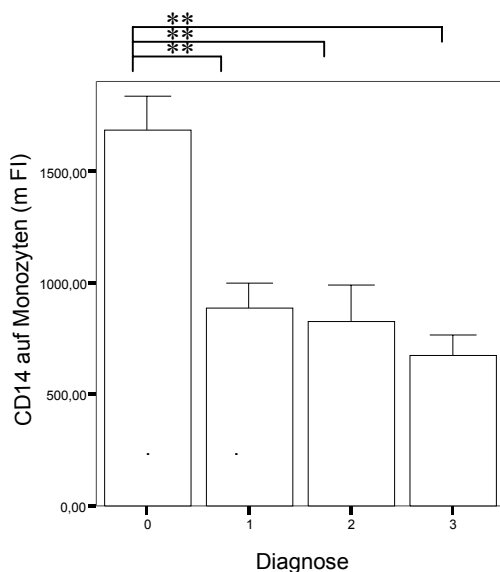


Abb. 35: CD 14 auf Monozyten, Gruppenvergleich

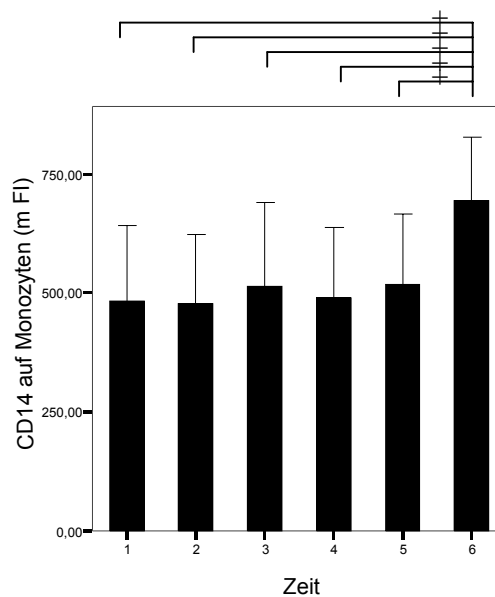


Abb. 36: CD 14 auf Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Die monozytäre CD14-Expression ist bei KHK-Patienten gegenüber Kontrollprobanden signifikant reduziert. Bei Infarktpatienten zeigt sich am 4. postinfarziellen Tag ein signifikanter Anstieg.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

+) $p < 0,05$, Wilcoxon-Paar-Rang-Test

**) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation

6.9. Fcγ-Rezeptoren auf Phagozyten

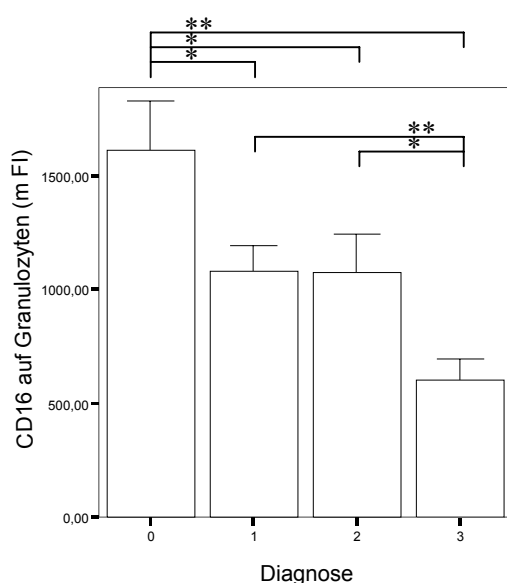


Abb. 37: CD16 auf Granulozyten, Gruppenvergleich

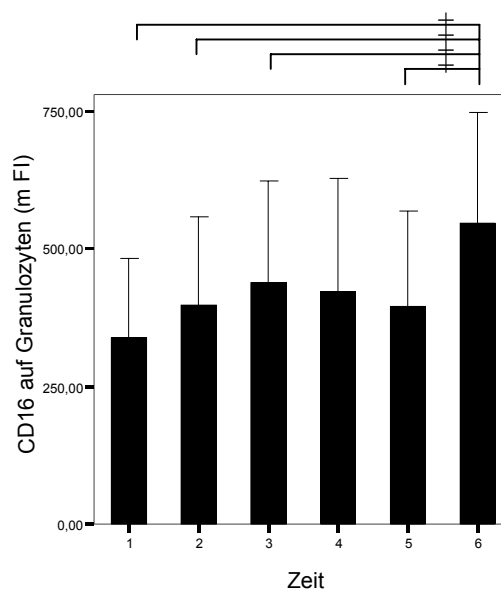


Abb. 38: CD16 auf Granulozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

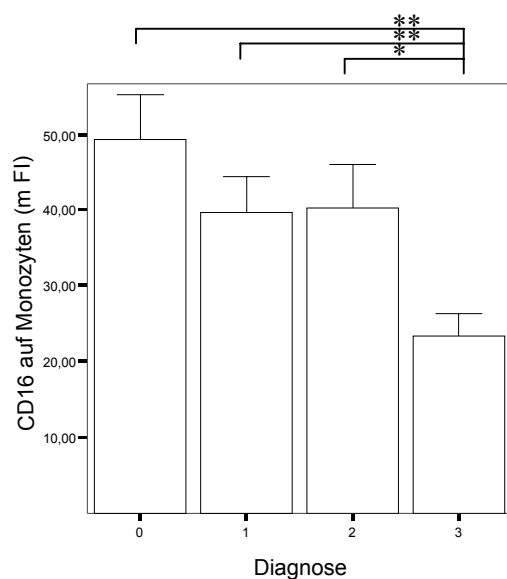


Abb. 39: CD16 auf Monozyten, Gruppenvergleich

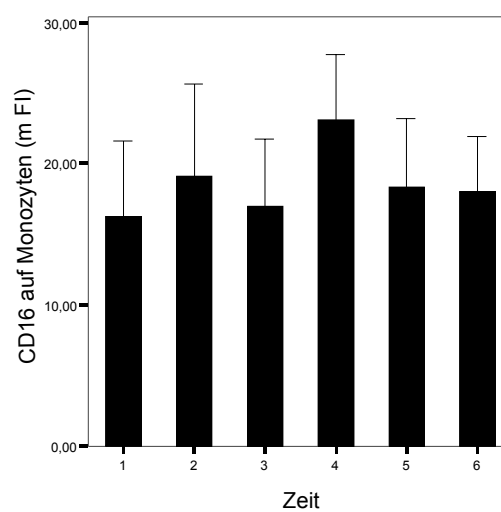


Abb. 40: CD16 auf Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Die granulozytäre CD16-Expression ist bei KHK-Patienten, insbesondere jedoch bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt signifikant erniedrigt und zeigt bis zum 4. postinfarziellen Tag einen signifikanten Anstieg. Ebenso ist die monozytäre CD16-Expression bei Infarktpatienten erniedrigt, der Zeitverlauf läßt hier jedoch keine Tendenz erkennen.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

+) $p < 0,05$, Wilcoxon-Paar-Rang-Test

***) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation

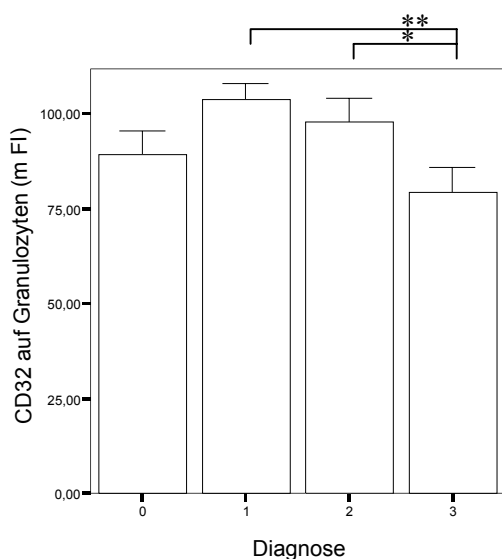


Abb. 41: CD32 auf Granulozyten, Gruppenvergleich

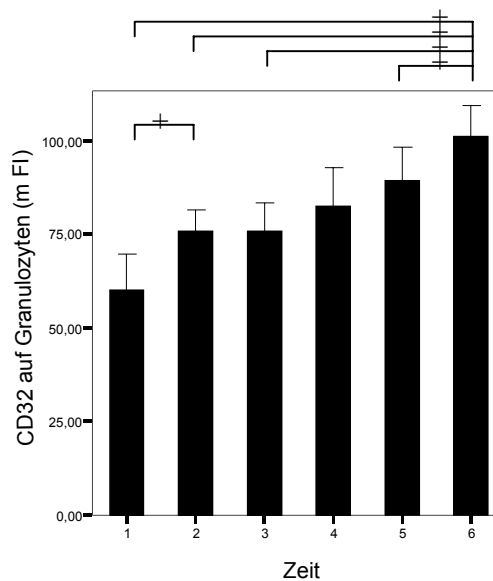


Abb. 42: CD32 auf Granulozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

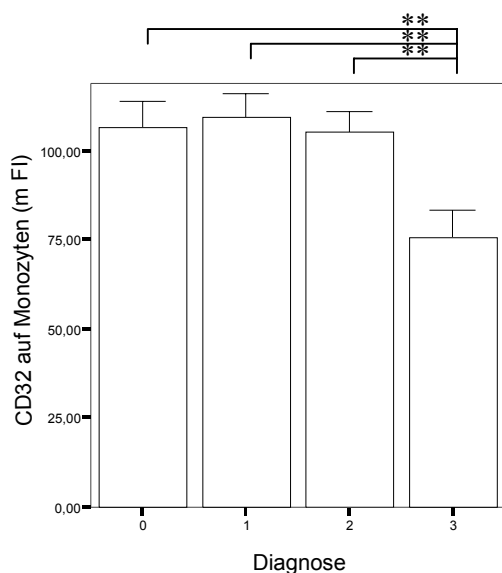


Abb. 43: CD32 auf Monozyten, Gruppenvergleich

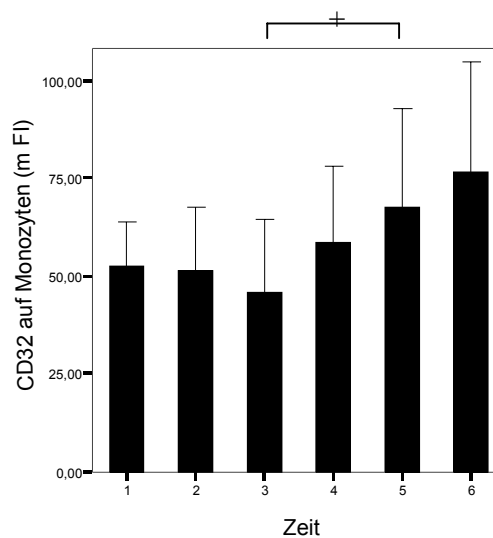


Abb. 44: CD32 auf Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Die granulozytäre CD32-Expression ist bei Infarktpatienten gegenüber Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris signifikant erniedrigt und zeigt einen sukzessiven, signifikanten Anstieg bis zum 4. postinfarziellen Tag. Ebenso ist die monozytäre CD32-Expression bei Infarktpatienten erniedrigt und zeigt im Zeitverlauf eine ansteigende Tendenz.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

+) $p < 0,05$, Wilcoxon-Paar-Rang-Test

***) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation

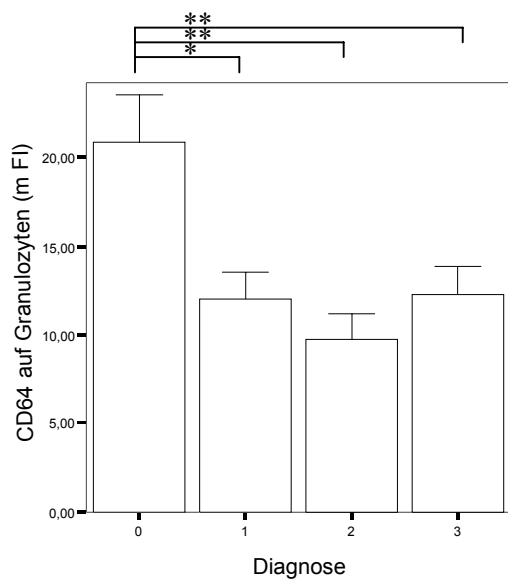


Abb. 45: CD64 auf Granulozyten, Gruppenvergleich

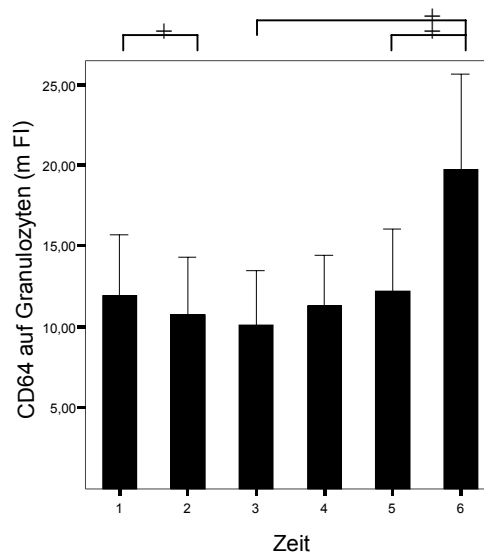


Abb. 46: CD64 auf Granulozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

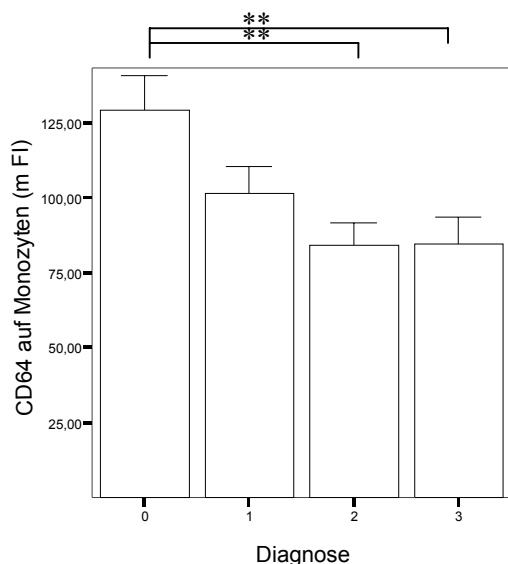


Abb. 47: CD64 auf Monozyten, Gruppenvergleich

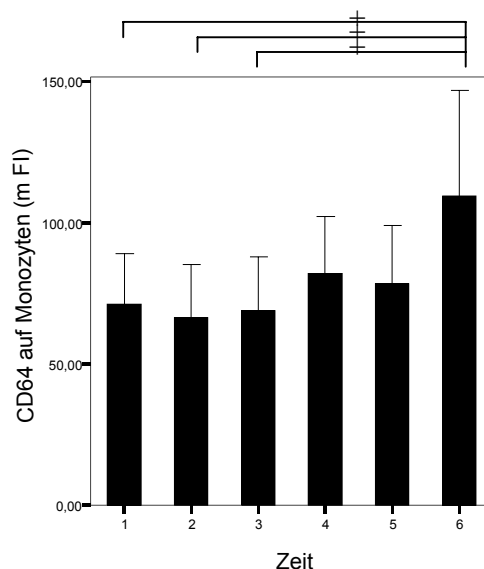


Abb. 48: CD64 auf Monozyten, Zeitverlauf Subgruppe 3-R

Die granulozytäre CD64-Expression ist bei KHK-Patienten gegenüber Kontrollprobanden signifikant erniedrigt. Bei Infarktpatienten zeigt sie zunächst einen weiteren Abfall nach 4 Stunden, im Verlauf dann einen Anstieg bis zum 4. postinfarziellen Tag. Ebenso ist die monozytäre CD64-Expression von Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt im Vergleich zu Kontrollprobanden signifikant erniedrigt. Auch hier zeigt sich bei Infarktpatienten ein signifikanter Anstieg am 4. postinfarziellen Tag.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

+) $p < 0,05$, Wilcoxon-Paar-Rang-Test

***) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt, 3-R=akuter Myokardinfarkt mit PTCA

Zeit: 1=initial, 2=4h nach Rekanalisation, 3=1d nach Rekanalisation, 4=2d nach Rekanalisation, 5=3d nach Rekanalisation, 6=4d nach Rekanalisation

6.10. Plasmakonzentrationen löslicher Adhäsionsmoleküle

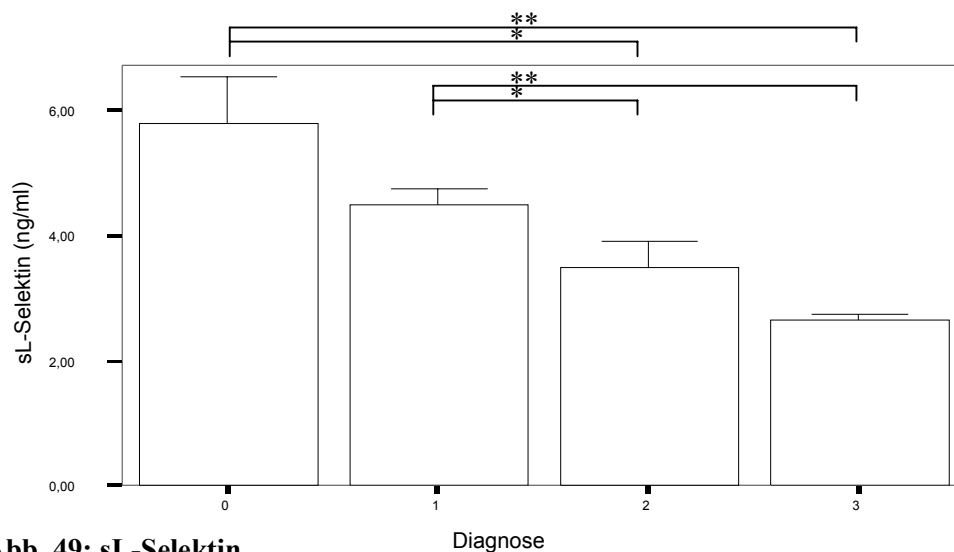


Abb. 49: sL-Selektin,
Gruppenvergleich

Ähnlich der granulozytären L-Selektinexpression ist die Plasmakonzentration von löslichem L-Selektin bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt im Vergleich zu Kontrollprobanden und Patienten mit stabiler Angina pectoris signifikant erniedrigt.

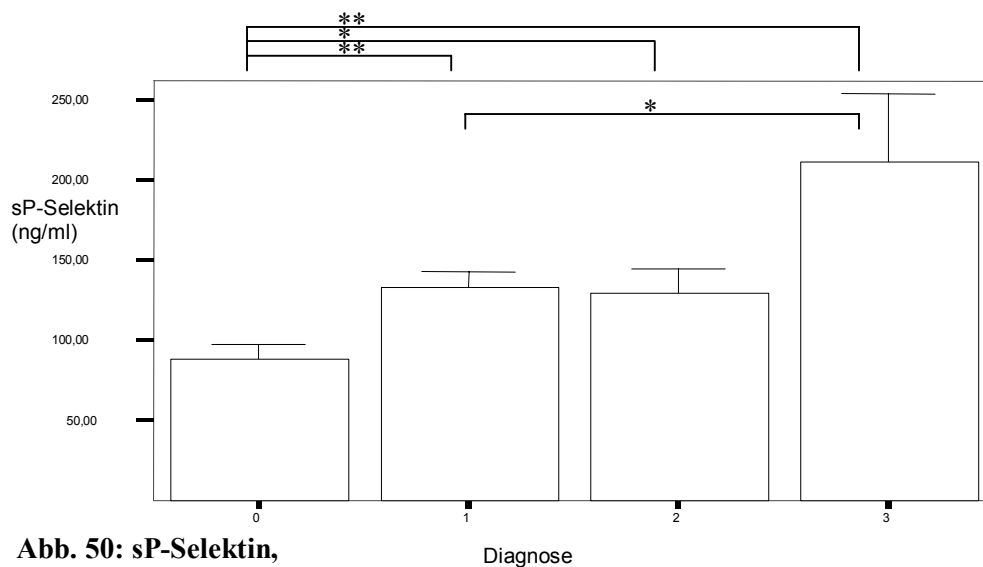


Abb. 50: sP-Selektin,
Gruppenvergleich

Demgegenüber zeigt sich eine sukzessiv und signifikant erhöhte Plasmakonzentration von löslichem P-Selektin von Kontrollprobanden über Patienten mit stabiler Angina pectoris zu Infarktpatienten.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

**) $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris,

3=akuter Myokardinfarkt

Tab. 20: Plasmakonzentration von löslichem E-Selektin
Gruppenvergleich (Mittelwert \pm SEM)

	Gruppe 0	Gruppe 1	Gruppe 2	Gruppe 3
sE-Selektin [ng/ml]	1,3 \pm 0,2	1,6 \pm 0,2	1,3 \pm 0,3	1,3 \pm 0,1

In Bezug auf lösliches E-Selektin finden sich keine signifikanten Gruppenunterschiede.

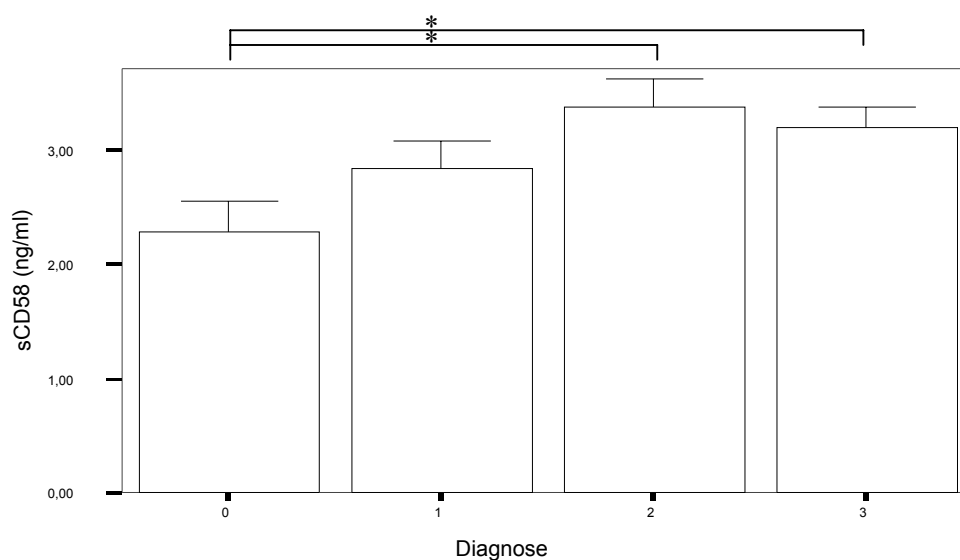


Abb. 51: sCD58,
Gruppenvergleich

Lösliches CD58 (LFA-3) zeigt bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt verglichen mit Kontrollprobanden eine signifikant erhöhte Plasmakonzentration.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

*) $p < 0,05$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris,
3=akuter Myokardinfarkt

6.11. Plasmakonzentrationen von Kortisol

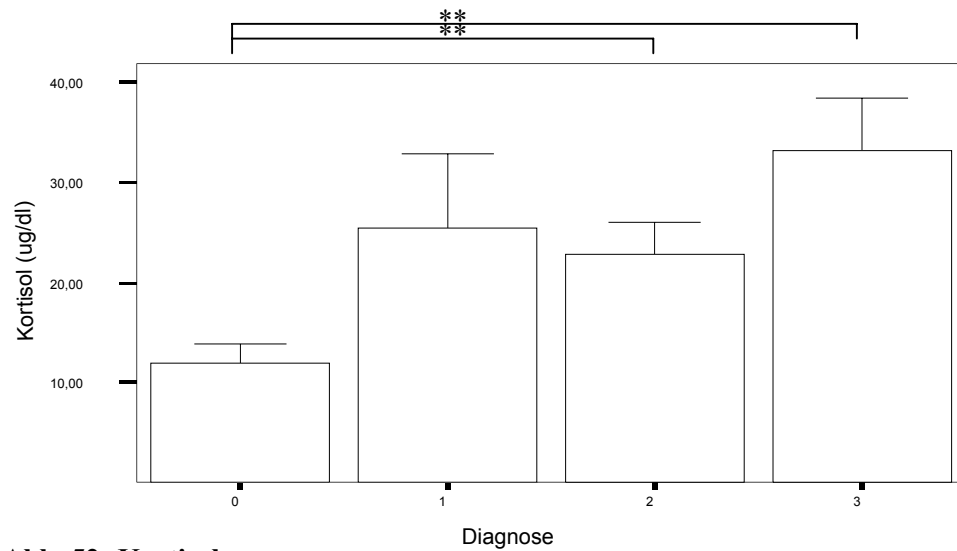


Abb. 52: Kortisol,
Gruppenvergleich

Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt zeigen gegenüber Kontrollprobanden einen signifikant erhöhten Kortisolspiegel.

Darstellungen als Mittelwerte mit SEM (Fehlerbalken).

** $p < 0,01$, Mann Whitney U-Test

Diagnose: 0=Kontrollprobanden, 1=stabile Angina pectoris, 2=instabile Angina pectoris, 3=akuter Myokardinfarkt

7. Diskussion

7.1. Rekrutierung und Umverteilung von Leukozytenpopulationen in den zirkulierenden Pool beim akuten Myokardinfarkt

Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigen eine deutliche Leukozytose. Im einzelnen sind die Absolutzahlen neutrophiler Granulozyten, Monozyten und NK-Zellen signifikant erhöht. Bei den Granulozyten zeigt sich eine relative und absolute Vermehrung unreifer Vorstufen ("Linksverschiebung"). Folgende Pathomechanismen einer Leukozytose werden diskutiert:

7.1.1. Streßbedingte, katecholaminvermittelte Umverteilung aus dem marginalen in den zirkulierenden Pool

In der vorliegenden Untersuchung wurden die Plasmakatecholamine nicht bestimmt. Auch hämodynamische Parameter ließen aufgrund der häufigen β -Blocker-Medikation keine Rückschlüsse auf den Sympathikotonus zu.

Eine Sympathikusaktivierung bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt ist jedoch in der Literatur vielfach belegt (111, 112, 116, 117). Vergleichbare Plasmakonzentrationen von Katecholaminen führen bei einer in-vivo-Gabe zu einer Demargination von PMN (ohne Linksverschiebung), Monozyten und NK-Zellen (54, 57, 83, 86-89).

Konsequenterweise wäre es für weitere Untersuchungen wünschenswert, Patienten unter β -Blocker- oder α -Blocker-Therapie separat zu betrachten.

7.1.2. Streßbedingte, glukokortikoidvermittelte Rekrutierung aus dem marginalen Pool sowie Freisetzung aus dem Knochenmark

Die hier untersuchten Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt zeigen gegenüber Kontrollprobanden signifikant erhöhte Plasmakortisolspiegel.

Glukokortikoide bewirken in vivo eine Granulozytose (mit Linksverschiebung) durch Mobilisation von Zellen aus dem marginalen Pool und aus dem Knochenmark (53, 60, 67, 68). Demgegenüber sinkt die Monozytenzahl (67-69).

Angesichts einer Korrelation des Plasmakortisolspiegels mit der Gesamtleukozytenzahl ($r=0,38$, $p=0,039$) und der Zahl stabkerniger PMN ($r=0,41$, $p=0,026$) ist ein glukokortikoidvermittelter Rekrutierungsmechanismus als Teilaspekt auch hier in Betracht zu ziehen.

7.1.3. Entzündungsbedingte, zytokinvermittelte Freisetzung aus dem Knochenmark

Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigen in der vorliegenden Untersuchung eine signifikante Erhöhung der Plasmakonzentration von IL-6 sowie eine tendenzielle Erhöhung des TNF- α -Spiegels. Proinflammatorische Zytokine, Chemokine und Entzündungsmediatoren bewirken in vivo zunächst eine passagere Leukopenie, nachfolgend eine rasche Freisetzung von neutrophilen Granulozyten aus dem Knochenmark; charakteristisch ist hierbei eine Linksverschiebung (52). So führt eine Gabe von TNF- α zu einer Freisetzung unstimulierter PMN (50, 51). Chemokine wie IL-6 und IL-8 bewirken neben einer Rekrutierung auch eine gleichzeitige Aktivierung von PMN (255).

Bei den hier untersuchten Patienten zeigte der TNF- α -Plasmaspiegel eine Korrelation zur Gesamtleukozytenzahl ($r=0,54$, $p<0,001$) sowie zur Absolutzahl segmentkerniger PMN ($r=0,51$, $p<0,001$), stabkerniger PMN ($r=0,44$, $p=0,001$), Monozyten ($r=0,42$, $p=0,002$) und NK-Zellen ($r=0,74$, $p<0,001$).

Ebenso war der IL-6-Plasmaspiegel mit der Gesamtleukozytenzahl ($r=0,49$, $p=0,003$), sowie den Absolutzahlen von PMN ($r=0,55$, $p=0,01$) und Monozyten ($r=0,54$, $p=0,001$) korreliert.

Zusammenfassend ist eine Beteiligung aller drei diskutierten Mechanismen an der Leukozytose bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt anzunehmen. Eine quantitative Abschätzung des jeweiligen Einflusses ist jedoch anhand der vorliegenden Daten nicht möglich.

Bei der folgenden Betrachtung funktioneller und phänotypischer Veränderungen von Leukozyten und gleichzeitig vorliegender Leukozytose müssen Rekrutierungs- und Umverteilungsphänomene berücksichtigt werden. So bestehen z.B. deutliche Unterschiede zwischen PMN im zirkulierenden vs. postmitotischen Knochenmarkspool in Bezug auf die Expression von Aktivierungsmarkern.

Angesichts der beobachteten Leukozytose mit Linksverschiebung muß daher auch bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt mit einer resultierenden Inhomogenität der Leukozytenpopulationen gerechnet werden.

7.2. Reduzierte Absolutzahlen von CD4+T-Zellen und CD25+T-Zellen bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt

Infarktpatienten zeigen hier eine signifikant reduzierte Absolutzahl CD4-positiver T-Lymphozyten. Über dieses Phänomen wurde bereits mehrfach berichtet (127-129). Aufgrund des akuten Auftretens der CD4+T-Zell-Depletion scheidet eine Bildungsstörung als Ursache aus, entsprechend muß eine Umverteilung aus dem zirkulierenden Pool in andere Kompartimente diskutiert werden. Das konkordante Verhalten von CD4 und CD25 kann hierbei als Ausdruck der Selektion aktivierter CD4+T-Zellen betrachtet werden.

Im Rahmen einer akuten Streßreaktion ist ein Abfall der T4/T8-Ratio bekannt (60). Eine Gabe von Glukokortikoiden führt in vivo zu einem akuten Abfall der CD4+T-Zellzahl, wahrscheinlich infolge einer Margination in lymphatischen Organen (65-68). Demgegenüber bewirken Katecholamine einen Abfall der T4/T8-Ratio lediglich über einen Anstieg der CD8+T-Zellen (87, 88). In der vorliegenden Untersuchung zeigte die CD4+T-Zellzahl eine inverse Korrelation zum Plasmakortisolspiegel ($r=-0,39$, $p=0,031$). Vorstellbar wäre demzufolge eine streßbedingte und glukokortikoidvermittelte Depletion zirkulierender CD4+T-Zellen beim akuten Myokardinfarkt. Alternativ muß eine entzündungsreaktive CD4+T-Zell-Depletion diskutiert werden. So wird ein Abfall der CD4+T-Zellzahl im Rahmen akuter Pankreatitiden beschrieben (12). Als ursächlich für eine entzündungsreaktive Lymphopenie wird eine gesteigerte Fas(CD95)-vermittelte Apoptose diskutiert (12).

Die klinische Bedeutung des hier beobachteten Phänomens ist unklar. Jedoch konnten das Ausmaß bzw. die Dauer der CD4+T-Zell-Depletion beim akuten Myokardinfarkt als Prognosemarker in Bezug auf das Reinfarktrisiko und die Infarktausdehnung identifiziert werden (129). In der Literatur finden sich keine Angaben über ein erhöhtes Risiko opportunistischer Infektionen bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt (abgesehen von der hypothetischen Exazerbation einer Chlamydia pneumoniae-Infektion). Im Vergleich zeigt sich z.B. im Verlauf einer klinisch manifesten HIV-Infektion allerdings ein deutlich stärkeres Ausmaß der CD4+T-Zell-Depletion als bei den hier betrachteten Infarktpatienten. Weiterhin handelt es sich hier eher um ein Umverteilungsphänomen als um einen Verlust funktionaler CD4+T-Zellen.

7.3. Reduzierte HLA-DR-Expression auf Monozyten bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt

Interessanterweise zeigen die hier untersuchten Patienten mit akutem Myokardinfarkt eine hochsignifikante, im Verlauf reversible Reduktion der monozytären HLA-DR-Expression, einem Marker der Immunkompetenz (16), insbesondere in Bezug auf T-Zell-abhängige Immunreaktionen.

Ähnliche Veränderungen wurden bei Patienten mit Polytrauma bzw. postoperativ nach abdominellen und neurochirurgischen Eingriffen sowie in der Spätphase der Sepsis beschrieben. Ein Wiederanstieg der monozytären HLA-DR-Expression auf das Niveau von gesunden Probanden war bei Polytrauma-Patienten mit einem geringeren Infektionsrisiko und einer günstigeren Gesamtprognose assoziiert (40-42). Ein ähnlicher Zusammenhang wurde auch für das postoperative Infektionsrisiko gezeigt (21, 40, 43-45). Auch für nichtchirurgische Infektionen bzw. Sepsis stellt die monozytäre HLA-DR-Expression einen Prognosemarker dar (16, 26, 31, 40). So wurden als charakteristische Merkmale einer "Immunparalyse" im Verlauf der Sepsis ein Abfall der HLA-DR-Expression auf Monozyten sowie eine Reduktion der monozytären TNF- α -Produktionskapazität identifiziert (16, 31). In vitro konnte eine solche antiinflammatorische Konversion von Monozyten durch IL-10 demonstriert werden (21, 23, 16). Ein ursächlicher Zusammenhang zwischen IL-10 und monozytärer HLA-DR-Depletion wird daher auch für die o.g. Zustände diskutiert. So findet sich ein IL-10-Anstieg in der "immunparalytischen" Phase der Sepsis (entzündungsinduziert, 16) wie auch im Rahmen neurochirurgischer Eingriffe am Hirnstamm (direkt katecholamininduziert, 26) und Laparatomien (a.e. katecholamininduziert, 21, 45).

Auch bei den hier untersuchten Infarktpatienten zeigten sich signifikant erhöhte IL-10-Plasmaspiegel als mögliche Ursache der beobachteten monozytären HLA-DR-Depletion. Entsprechend zeigte der IL-10-Plasmaspiegel eine inverse Korrelation zur monozytären HLA-DR-Expression. ($r=-0,32$, $p=0,015$).

Daneben ist eine gleichsinnige Glukokortikoidwirkung möglich. Eine monozytäre HLA-DR-Depletion wurde jedoch nur unter pharmakologischen Glukokortikoidkonzentrationen beobachtet (60, 65).

Alternativ muß auch ein Rekrutierungsphänomen im Rahmen der Monozytose diskutiert werden, d.h. ein Neuauftreten von Monozytenpopulationen mit primär geringerer HLA-DR-Expression. Diesbezüglich voneinander abgrenzbare Subpopulationen von Monozyten wurden in der durchflußzytometrischen Analyse nicht offensichtlich.

Allerdings zeigte die monozytäre HLA-DR-Expression eine inverse Korrelation zur Monozytenzahl ($r=-0,43$, $p=0,005$).

Schließlich muß in Hinblick auf die Altersverteilung der untersuchten Patienten berücksichtigt werden, daß die monozytäre HLA-DR-Expression möglicherweise im höheren Lebensalter abnimmt (256). Tatsächlich zeigte die vorliegende Untersuchung diesbezüglich eine inverse Korrelation ($r=-0,25$, $p=0,035$). Bei den im Zeitverlauf verfolgten Infarktpatienten zeigt sich jedoch bis zum 4. Tag ein Anstieg auf etwa das Doppelte des Ausgangsniveaus, so daß die initiale monozytäre HLA-DR-Depletion auf das Akutereignis bezogen werden muß.

Die klinische Bedeutung des beobachteten Phänomens beim akuten Myokardinfarkt ist unklar. Hierzu fehlen bisher Angaben zum begleitenden Infektionsrisiko (spontan oder z.B. perioperativ im Rahmen einer dringlichen kardiochirurgischen Revaskularisation) ebenso wie Untersuchungen zur Wertigkeit der monozytären HLA-DR-Expression als genereller Prognosemarker bei Infarktpatienten.

7.4. Erhöhte Plasmaspiegel von IL-10 und TNF- α bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt

Die Plasmakonzentration von IL-10 ist bei den hier untersuchten Infarktpatienten signifikant gegenüber den anderen Patientengruppen und tendenziell auch im Vergleich zu Kontrollprobanden erhöht. Im Zeitverlauf zeigt sich dann ein tendenzieller Abfall von IL-10 ab dem 1. postinfarziellen Tag.

Dieses Phänomen entspricht den Beobachtungen, die auch bei Sepsis und chirurgischen Eingriffen in Koinkidenz mit einer antiinflammatorischen Konversion von Monozyten einschließlich HLA-Depletion gemacht wurden (16, 26, 32, 45). IL-10 wird hierfür als kausaler Faktor diskutiert (16, 32). Das zeitlich inverse Verhalten von IL-10-Plasmakonzentration und monozytärer HLA-DR-Expression deutet auch bei den hier beobachteten Infarktpatienten auf einen möglichen ursächlichen Zusammenhang hin. Eine jüngst veröffentlichte Studie beschreibt ebenfalls eine IL-10-Erhöhung bei Infarktpatienten, die sich allerdings vom Aufnahmezeitpunkt über den 7. bis zum 30. postinfarziellen Tag unverändert darstellt, so daß auf eine persistierende Immunaktivierung geschlossen wurde (316).

Als Quelle der IL-10-Produktion kommen sowohl Monozyten/Makrophagen als auch T-Lymphozyten in Frage (32). Induzierend wirken zum einen proinflammatorische Zytokine wie TNF- α oder eine LPS-Stimulation. Ein Maximaleffekt wird hier nach ca. 8 Stunden beobachtet (16). Tierexperimentell wurde nach myokardialer Ischämie und Reperfusion eine lokale IL-10-Produktion durch infiltrierende T-Lymphozyten demonstriert (242).

Andererseits können Katecholamine β 2-Rezeptor-vermittelt auch unabhängig von einer Entzündungsreaktion eine frühe Freisetzung von IL-10 aus Monozyten bewirken. Ein Maximaleffekt zeigt sich hier bereits nach 1-2 Stunden (16, 28).

Das bei den Infarktpatienten *bereits zum Aufnahmezeitpunkt beobachtete Maximum der IL-10-Plasmakonzentration* ($4,4 \pm 0,5$ Stunden nach Beschwerdenbeginn) deutet daher auf die Beteiligung eines katecholaminbedingten Freisetzungsmechanismus hin. Erneut ergibt sich hieraus die Forderung, in weiteren Untersuchungen Patienten mit β -Blocker-Medikation separat zu betrachten, zumal am Tiermodell der Hirndrucksteigerung ein konsekutiver, offensichtlich katecholaminvermittelter IL-10-Anstieg durch Gabe eines nichtselektiven β -Blockers (Propranolol) supprimiert werden konnte (26). Zur Therapie der Angina pectoris bzw. des akuten Myokardinfarktes werden allerdings vorrangig β -Blocker mit relativer β 1-Selektivität verwandt.

Wie bereits mehrfach beschrieben (192, 193, 228, 229, 234), *findet sich bei den hier untersuchten Infarktpatienten zum Aufnahmezeitpunkt eine tendenziell erhöhte TNF- α -Plasmakonzentration als Ausdruck einer akuten Inflammation*. Ein demzufolge im Rahmen einer antinflammatorischen Gegenregulation auftretender IL-10-Anstieg ist daher vorstellbar, zumal zwischen beiden Parametern eine enge Korrelation besteht ($r=0,81$, $p<0,001$). Einschränkend muß jedoch das kurze Zeitintervall betrachtet werden.

Entgegen der bereits initial beobachteten monozytären HLA-DR-Depletion spricht der gleichzeitige TNF- α -Anstieg gegen eine funktionell relevante, antiinflammatorische Konversion des Monozyten/Makrophagen-Systems bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt (16). Hier wäre eine Verlaufsbeurteilung der TNF- α -Plasmakonzentration interessant. Wie im folgenden diskutiert, findet sich jedoch bereits eine signifikante Einschränkung der TNF- α -Produktionskapazität *in vitro*.

In Bezug auf das Signifikanzniveau im Gruppenvergleich der TNF- α -Plasmaspiegel muß erwähnt werden, daß aufgrund eines methodischen Problems nur eine reduzierte Zahl von Fällen auswertbar war (Gruppe 0: $n=11$, Gruppe 1: $n= 18$, Gruppe 2: $n= 13$, Gruppe 3: $n=9$).

7.5. Erhöhte in-vitro-Produktion von TNF- α bei Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris, demgegenüber Reduktion bei Infarktpatienten

Die LPS-induzierte TNF- α -Produktion in Vollblutkulturen ist bei den hier untersuchten Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris gegenüber Kontrollprobanden signifikant erhöht.

Dieses Phänomen kann als Ausdruck einer gesteigerten Aktivität von Monozyten im Rahmen einer Entzündungsreaktion interpretiert werden.

Demgegenüber findet sich bei Infarktpatienten ein signifikanter Abfall der TNF- α -Produktionskapazität mit im Verlauf tendenziellem Anstieg bis zum 2. postinfarziellen Tag. Diese Beobachtung unterstützt wiederum die Hypothese einer antiinflammatorischen Konversion von Monozyten im Rahmen des akuten Myokardinfarktes (16). Weiterhin besteht hier eine inverse Korrelation zwischen IL-10-Plasmaspiegel und TNF- α -Produktionskapazität in vitro ($r=-0,32$, $p=0,027$). Eine Berücksichtigung der Monozytenzahlen in den Vollblutkulturen würde, bezogen auf die Einzelzelle, den Unterschied zwischen Infarktpatienten und den übrigen Patientengruppen noch verstärken.

7.6. Erhöhte Plasmaspiegel von IL-6 beim akuten Myokardinfarkt

Wie bereits mehrfach berichtet (230-233), zeigen die hier untersuchten Patienten mit akutem Myokardinfarkt signifikant erhöhte IL-6-Plasmakonzentrationen gegenüber Kontrollprobanden und Patienten mit stabiler Angina pectoris (dort jeweils unterhalb der Sensitivitätsgrenze des ELISA).

Die beobachtete IL-6-Erhöhung ist Ausdruck einer akuten Inflammation und beteiligt an der Induktion der beim Myokardinfarkt bekannten Akutphasereaktion. Als Quelle der IL-6-Produktion kommen einerseits Monozyten/Makrophagen in Frage. Hierfür spricht der gleichzeitig beobachtete TNF- α -Anstieg. Andererseits sind auch nicht-Immunzellen wie Endothelzellen, Myozyten oder Fibroblasten in der Lage, z.B. im Rahmen einer Ischämie IL-6 zu produzieren (17, 18). Hohe IL-6- oder IL-8-Spiegel ohne TNF- α -Erhöhung sind Indikator einer hypoxischen Gewebsschädigung unabhängig von einer Aktivierung des Monozyten/Makrophagen-Systems (16). So zeigte eine Untersuchung an Patienten mit akutem Myokardinfarkt einen signifikanten Anstieg der IL-6-Konzentration zwischen Aorta und Sinus coronarius. Für TNF- α fand sich dagegen kein transkoronarer Gradient (230).

Ebenso fanden sich bei Patienten mit kardiogenem Schock erhöhte IL-6- und IL-8-Spiegel, jedoch kein Anstieg von TNF- α oder IL-1 (257).

Demzufolge sind für den bei Infarktpatienten beobachteten IL-6-Anstieg einerseits Monozyten/Makrophagen, daneben möglicherweise auch im Rahmen der koronaren Ischämie direkt aktivierte nicht-Immunzellen verantwortlich.

7.7. Expression von Adhäsionsmolekülen auf Phagozyten bei KHK-Patienten

7.7.1. L-Selektin

Die granulozytäre L-Selektin-Expression ist bei den hier untersuchten Infarktpatienten und Patienten mit instabiler Angina pectoris gegenüber Patienten mit stabiler Angina pectoris signifikant reduziert. Im Zeitverlauf deutet sich bei Infarktpatienten ein Minimum 4 Stunden nach Rekanalisation an.

Ähnliche Beobachtungen wurden bereits bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt beschrieben (258), dabei fand sich eine inverse Korrelation zwischen granulozytärer L-Selektin-Expression und dem Ausmaß der Leukozytose. In einer weiteren Untersuchung konnte ein Abfall der granulozytären L-Selektin-Expression zwischen Aorta und Sinus coronarius nach Rekanalisation des Infarktgefäßes gezeigt werden (230).

Als Ursache des hier beobachteten Phänomens ist demzufolge einerseits ein L-Selektin-“shedding” zirkulierender PMN nach Aktivierung, andererseits auch eine Neurekrutierung von PMN mit primär geringerer L-Selektin-Expression zu diskutieren.

Während der Granulopoese kommt es zum sukzessiven Anstieg der L-Selektin-Expression im postmitotischen Knochenmarkspool (259, 260). Die durch inflammatorische Stimuli (aktiviertes Komplement, LPS) hieraus freigesetzten PMN zeigen im Vergleich zu bereits zirkulierenden Zellen eine zunächst gesteigerte L-Selektin-Expression; im zirkulierenden Pool kommt es dann aktivierungsbedingt zu einem “shedding” (260, 261). Letztlich wird eine inverse Korrelation zwischen entzündungsinduzierter Leukozytose und granulozytärer L-Selektin-Expression beschrieben (48). Weiterhin werden durch eine (hochdosierte) Glukokortikoidgabe PMN mit primär niedriger L-Selektin-Expression aus dem Knochenmark freigesetzt (56). Ein Abfall von L-Selektin auf bereits zirkulierenden PMN ist dagegen erst etwa 8 Stunden nach Glukokortikoidgabe zu beobachten (262). Kurzzeitige körperliche Belastung, ein Modell für die Mobilisation des marginalen Pools durch Katecholamine, führt ebenfalls zu einer rekrutierungsbedingt reduzierten L-Selektin-Expression auf zirkulierenden PMN (59).

In der vorliegenden Untersuchung zeigte die granulozytäre L-Selektin-Expression eine jeweils inverse Korrelation zur Gesamtzahl von PMN ($r=-0,26$, $p=0,039$), zur Zahl stabkerniger PMN ($r=-0,28$, $p=0,02$), sowie zu den Plasmaspiegeln von TNF- α ($r=-0,31$, $p=0,036$) und IL-6 ($r=-0,43$, $p=0,018$). Zusammenfassend kann das hier beobachtete Phänomen einerseits als entzündungsbedingtes L-Selektin-“shedding”, alternativ auch als glukokortikoid- oder catecholaminbedingtes Rekrutierungsphänomen erklärt werden. Eine quantitative Abschätzung des jeweiligen Einflusses ist anhand der vorliegenden Daten nicht möglich. In Bezug auf ihre L-Selektin-Expression abgrenzbare Subpopulationen von PMN, die auf eine Neurekrutierung hindeuten würden, waren in der durchflußzytometrischen Analyse nicht offensichtlich. Ebenso wenig liefert das konkordante Verhalten von granulozytärer L-Selektin-Expression und Serumkonzentration löslichen L-Selektins bei KHK-Patienten ein Argument zur Unterstützung der “shedding”-Hypothese.

7.7.2. β 2-Integrine

Wiederholt wurde bei KHK-Patienten eine erhöhte phagozytäre Expression von CD11b/CD18 (MAC-1) beschrieben. So zeigten bereits Patienten mit stabiler Angina pectoris eine MAC-1-Erhöhung auf PMN (163). Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt zeigten einen weiteren Anstieg der granulozytären sowie auch eine Erhöhung der monozytären MAC-1-Expression, insbesondere im Bereich der Koronarzirkulation (181, 182, 230, 235). Diese Phänomene wurden als Ausdruck einer Inflammation interpretiert. *Demgegenüber zeigte in der vorliegenden Untersuchung lediglich das von IOM-1 gebundene CD11b-Epitop eine reduzierte granulozytäre Expression bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und eine reduzierte monozytäre Expression bei Infarktpatienten. Im übrigen fanden sich in Bezug auf die β 2-Integrin-Expression von Phagozyten keine signifikanten Gruppenunterschiede.* Eine Erklärung für diese, den oben genannten Literaturangaben entgegengesetzten Befunde bleibt zunächst offen, zumal für die durchflußzytometrische Analyse zum Teil dieselben monoklonalen Antikörper verwandt wurden.

IOM-1 und OKM-1 binden verschiedene Epitope von CD11b. Das abweichende Verhalten beider Antikörper in der vorliegenden Untersuchung deutet eher auf eine Konformationsänderung als auf eine reduzierte Expression des CD11b/CD18-Komplexes hin, zumal die CD18-Expression keine signifikanten Unterschiede zeigte. Während bestimmte, aktivierungsspezifische “Neoepitope” von CD11b identifiziert werden konnten (10), ist jedoch nicht bekannt, welchen Einfluß eine aktivierungsbedingte Konformationsänderung von CD11b auf die Bindung von IOM-1 bzw. OKM-1 hat.

7.3.3. ICAM-1

Die monozytäre und granulozytäre ICAM-1-Expression ist bei den hier untersuchten Infarktpatienten gegenüber Patienten mit stabiler Angina pectoris signifikant, gegenüber Kontrollprobanden tendenziell reduziert. Im Zeitverlauf kommt es zu einem sukzessiven, signifikanten Anstieg der ICAM-1-Expression auf Monozyten und Granulozyten.

Demgegenüber wurde in einer weiteren Studie an Infarktpatienten eine erhöhte monozytäre ICAM-1-Expression gegenüber Kontrollprobanden beschrieben (235), allerdings erst ab dem 4. postinfarziellen Tag und in Zusammenhang mit einer hier ebenfalls nicht beobachteten Expressionszunahme der β 2-Integrine LFA-1 und MAC-1 auf Monozyten.

Die funktionelle Bedeutung von ICAM-1 auf Leukozyten ist noch weitgehend unklar. Diskutiert wird eine Vermittlung der leukozytären Aggregatbildung nach Bindung an den Integrin-Liganden (235). Weiterhin scheint ICAM-1 für die antigenpräsentierende Funktion von Monozyten und für deren transendotheliale Migration von Bedeutung zu sein (259, 260). Die monozytäre und granulozytäre ICAM-1-Expression kann durch proinflammatorische Zytokine (z.B. IL-1, TNF- α , IFN- γ) induziert werden (263, 264). In vitro kommt es im Kulturmedium auch unter Ausschluß stimulierender Faktoren zu einem rasanten "Spontananstieg" von ICAM-1 auf Monozyten, ein Phänomen, das in der Vollblutkultur nicht beobachtet wird (265). Dementsprechend wird in vivo ein intravasaler, ICAM-1-suppressiver Faktor diskutiert. Eine solche Wirkung konnte in vitro für IL-10 gezeigt werden (266). Proinflammatorische Zytokine führen neben einer Induktion der ICAM-1-Expression auch zur Freisetzung einer löslichen Form (sICAM-1) (267, 268). Diese entsteht durch proteolytische Abspaltung von der Zellmembran, daneben wird auch ein alternatives mRNA-splicing diskutiert (269). Wiederholt wurde über einen Anstieg von sICAM-1 bei entzündlichen Prozessen (33), so auch beim akuten Myokardinfarkt berichtet (164, 236-238). Dieses Phänomen wurde jeweils als Ausdruck einer Endothelzellaktivierung interpretiert. Leukozyten können jedoch ebenfalls sICAM-1 freisetzen (267, 270). Eine hierdurch verminderte Oberflächenexpression des Moleküls wurde allerdings nicht beschrieben. Zusammenfassend ist die hier beobachtete monozytäre ICAM-1-Depletion beim akuten Myokardinfarkt am ehesten im Rahmen einer antiinflammatorischen Konversion von Monozyten zu interpretieren. Entsprechend findet sich eine Korrelation zwischen monozytärer ICAM-1- und HLA-DR-Expression ($r=0,32$, $p=0,006$). In vergleichbaren Zusammenhängen (Sepsis, Trauma, OP) wurde dieser Parameter bisher nicht untersucht. Alternativ muß auch hier ein Rekrutierungsphänomen im Rahmen der Granulo- und Monozytose diskutiert werden, zumal eine jeweils inverse Korrelation zwischen granulozytärer

ICAM-1-Expression und der Gesamtzahl von PMN ($r=-0,26$, $p=0,033$) bzw. der Zahl stabkerniger PMN ($r=-0,27$, $p=0,023$) besteht. Hierzu fehlen jedoch Angaben zur Verteilung der phagozytären ICAM-1-Expression in den intravasalen Kompartimenten bzw. im Knochenmarkspool.

7.8. Plasmakonzentrationen löslicher Adhäsionsmoleküle bei KHK-Patienten

7.8.1. sL-Selektin

Ähnlich der granulozytären L-Selektin-Expression ist die Plasmakonzentration von löslichem L-Selektin bei den hier untersuchten Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt gegenüber Kontrollprobanden und Patienten mit stabiler Angina pectoris signifikant erniedrigt.

Lösliches L-Selektin wird durch proteolytische Abspaltung (“shedding”) der membrangebundenen Form von PMN und Lymphozyten nach Stimulation (IL-8, GCSF, fMLP und LPS bzw. Mitogene) freigesetzt (33). Bei entzündlichen Prozessen wie Sepsis fanden sich erhöhte Plasmakonzentrationen von sL-Selektin (33). Demgegenüber zeigten KHK-Patienten im Vergleich zu Kontrollprobanden reduzierte sL-Selektin-Plasmaspiegel (166), signifikante Unterschiede zwischen Patienten mit stabiler bzw. instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt fanden sich hierbei nicht. Begleitend wurde bei KHK-Patienten eine gegenüber Kontrollprobanden reduzierte leukozytäre L-Selektin-Expression beobachtet (166). In einer weiteren Untersuchung zeigten Patienten mit akutem Myokardinfarkt einen sL-Selektin-Abfall nach Rekanalisation des Infarktgefäßes (271). Ebenso sank die sL-Selektin-Plasmakonzentration bei KHK-Patienten nach Induktion einer Myokardischämie (Dipyridamol-Belastung) (272).

Angesichts des hier bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt beobachteten sL-Selektin-Abfalls ist einerseits eine reduzierte Freisetzung, andererseits auch eine erhöhte Ligandenbindung zu diskutieren.

Die bei diesen Patientengruppen gleichzeitig reduzierte mittlere Expressiondichte von L-Selektin auf Granulozyten wurde als Ausdruck eines aktivierungsbedingten L-Selektin-“shedding”, alternativ als Rekrutierungsphänomen im Rahmen einer multifaktoriellen Leukozytose gewertet. Eine verminderte Freisetzung von sL-Selektin erscheint in diesem Zusammenhang weniger plausibel.

Lösliches L-Selektin bindet ebenso wie die membrangebundene Form an seinen Tetrasaccharidliganden sialyl Lewis(X) und dessen Analoga (273).

Die endotheliale und leukozytäre Expression dieser Liganden ist bei Entzündungsprozessen erhöht (274, 275). Ebenso zeigte sich in vitro wie auch in vivo ein hypoxisch bzw. ischämisch bedingter sialyl Lewis(X)-Anstieg auf Endothelzellen (276, 277). Weiterhin wurde eine vermehrte Produktion von löslichen Glykoproteinen mit sialyl Lewis(X)-Domänen im Rahmen der hepatischen Akutphasereaktion beschrieben (278, 279) und als Komponente der antiinflammatorischen Gegenregulation diskutiert.

In diesem Zusammenhang erscheint der hier beobachtete sL-Selektin-Abfall bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt durch eine möglicherweise verstärkte Ligandenbindung (endothelial, leukozytär, freie Glykoproteine) erklärlich. Unterstützt wird diese Annahme durch eine jeweils inverse Korrelation der sL-Selektin-Plasmakonzentration zur Gesamtleukozytenzahl ($r=-0,43$, $p=0,011$), sowie der Zahl von PMN ($r=-0,46$, $p=0,007$) und Monozyten ($r=-0,39$, $p=0,024$). Interessant wäre wiederum die Untersuchung eines transkoronaren Gradienten für sL-Selektin.

Bereits physiologische Plasmakonzentrationen von sL-Selektin sind in der Lage, in vitro L-Selektin-abhängige Adhäsionsvorgänge kompetitiv zu hemmen (273). Mit der Annahme einer Ligandenbindung des durch "shedding" freigesetzten L-Selektins wäre demzufolge ein antiinflammatorischer Mechanismus zu diskutieren.

7.8.2. sP-Selektin

In der vorliegenden Untersuchung zeigen bereits Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris gegenüber Kontroll-probanden signifikant erhöhte sP-Selektin-Plasmakonzentrationen. Bei Infarktpatienten ist demgegenüber ein weiterer, signifikanter sP-Selektin-Anstieg feststellbar.

Dieses Phänomen wurde bei Patienten mit instabiler Angina pectoris (188) bzw. akutem Myokardinfarkt (239-241, 280) bereits mehrfach beschrieben.

Lösliches P-Selektin kann nach alternativem mRNA-splicing von Endothelzellen und Megakaryozyten synthetisiert (33, 281) werden. Der größere Anteil von sP-Selektin wird jedoch durch proteolytische Abspaltung der membrangebundenen Form von Endothelzellen und Thrombozyten freigesetzt (282, 283). P-Selektin ist dort in den Membranen von Weibel-Palade-Körpern bzw. α -Granula intrazellulär gespeichert und wird nach Aktivierung in die Zellmembran integriert (282). Ein sP-Selektin-Anstieg kann dementsprechend sowohl auf eine Thrombozyten- als auch auf eine Endothelzellaktivierung hinweisen.

Eine Differenzierung wird durch thrombozyten- bzw. endothelspezifische Marker ermöglicht (β -Thromboglobulin bzw. E-Selektin, Fibronectin, von-Willebrand-Faktor und Thrombomodulin) (282, 284). So war die sP-Selektin-Erhöhung bei PAVK-Patienten von einem vorrangigen Anstieg thrombozytärer Aktivierungsmarker begleitet (284).

Angesichts eines *fehlenden sE-Selektin-Anstiegs bei den untersuchten Patienten* sind auch hier in erster Linie aktivierte Thrombozyten für die sP-Selektin-Freisetzung verantwortlich. Wie bereits für sL-Selektin diskutiert, ist eine gesteigerte Ligandenbildung im Rahmen von Inflammation bzw. Ischämie auch für sP-Selektin möglich. Die vermehrte Freisetzung überwiegt hier jedoch.

Auch lösliches P-Selektin hat möglicherweise eine antiinflammatorische Wirkung. So zeigte sich *in vitro* eine Suppression der MAC-1-Expressionszunahme und der Freisetzung reaktiver Sauerstoffspezies bei TNF- α -stimulierten PMN (33).

Daneben zeigten neuere Untersuchungen eine prokoagulatorische Wirkung von sP-Selektin *in vivo* (285) als Hinweis auf eine mögliche pathogenetische Bedeutung des sP-Selektin-Anstiegs bei akuten ischämischen Komplikationen arteriosklerotischer Erkrankungen.

7.8.3. sE-Selektin

Wie bereits in Zusammenhang mit sP-Selektin diskutiert, zeigten die sE-Selektin-Plasmakonzentrationen bei den hier untersuchten KHK-Patienten bzw. Kontrollprobanden keine signifikanten Gruppenunterschiede.

Demgegenüber wurde in der Literatur mehrfach ein sE-Selektin-Anstieg als spezifischer Marker einer Endothelzellaktivierung bei Patienten mit instabiler Angina pectoris (187, 189) und akutem Myokardinfarkt (164, 236-239) beschrieben. Ebenso fand sich eine sE-Selektin-Erhöhung bei Vaskulitiden, Kollagenosen und Sepsis (33).

E-Selektin wird nach Zytokinstimulation (TNF- α , IL-1) von Endothelzellen synthetisiert, ein Maximum der Oberflächenexpression wird hierbei nach 6-8 Stunden beobachtet (6, 8, 4). Lösliches E-Selektin entsteht ausschließlich durch proteolytische Abspaltung der membrangebundenen Form (33).

So zeigten in einer der zitierten Studien Patienten mit akutem Myokardinfarkt 6 Stunden nach Aufnahme, nicht jedoch zum Aufnahmezeitpunkt eine erhöhte sE-Selektin-Plasmakonzentration (236).

Möglicherweise erfaßt daher der hier gewählte Beobachtungszeitpunkt einen eventuellen sE-Sektin-Anstieg bei Infarktpatienten nicht. Folglich wäre eine Verlaufsbeurteilung interessant.

7.8.4. sCD58

In der vorliegenden Untersuchung zeigen Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt gegenüber Kontrollprobanden eine signifikant erhöhte Plasmakonzentration von löslichem CD58.

CD58 (LFA-3), ein Adhäsionsmolekül der Immunglobulin-Superfamilie, wird von einer Vielzahl von Zelltypen (u.a. hämatopoetische Stammzellen, Monozyten/Makrophagen, Endothelzellen, Fibroblasten, Myozyten sowie Hepatozyten und weiteren epithelialen Zellen) exprimiert (11, 286). Die Interaktion mit seinem lymphozytären Liganden CD2 ist als Kofaktor an der antigenspezifischen T-Zell-Aktivierung sowie an der Aktivierung von NK-Zellen beteiligt (11, 287). Nach Stimulation mit proinflammatorischen Zytokinen wird ein Anstieg der zellulären CD58-Expression beobachtet (11, 288). Lösliches CD58 wird durch Abspaltung des extrazellulären Anteils der membrangebundenen Form freigesetzt, möglich ist auch ein alternatives mRNA-splicing (11).

Erhöhte Plasmakonzentrationen von sCD58 wurden bei Patienten mit Virushepatitis, posthepatitischer Leberzirrhose und hepatozellulärem Karzinom gefunden (287). Eine sCD58-Erhöhung wurde daher als Ausdruck zellulärer Aktivierung bei bestimmten Formen der Inflammation gewertet. Dagegen zeigten Patienten mit Rheumatoidarthritis, Vaskulitiden und chronisch entzündlichen Darmerkrankungen gegenüber Kontrollprobanden reduzierte sCD58-Plasmaspiegel (289).

Nachdem gezeigt werden konnte, daß lösliches bzw. rekombinantes CD58 die Interaktionen der membrangebundenen Form mit seinem Liganden CD2 kompetitiv hemmt, wird eine sCD58-Erhöhung auch als Mechanismus einer antiinflammatorischen Gegenregulation angesehen (11, 287, 290).

Entsprechend kann auch der hier bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt beobachtete sCD58-Anstieg interpretiert werden. Dessen zelluläre Quelle bleibt jedoch ebenso wie der Ort der Freisetzung unklar. Hier wäre die Untersuchung eines transkoronaren Gradienten interessant.

7.9. Verringerte phagozytäre Expression von Fc γ -Rezeptoren bei KHK-Patienten, insbesondere bei akutem Myokardinfarkt

Die bei Granulozyten und Monozyten vorkommenden Fc-Rezeptoren für IgG (Fc γ RI-III) stellen ein Verbindungsglied zwischen antigenspezifischen, humoralen Immunreaktionen und den zellulären Effektorfunktionen dieser Leukozyten dar.

Hierzu gehören Phagozytose, Degranulation, Produktion reaktiver Sauerstoffspezies, Entzündungsmediatoren und Zytokine sowie die antigenpräsentierende Funktion (34). Neben der membrangebundenen Form werden durch deren proteolytische Abspaltung bzw. alternatives mRNA-splicing lösliche Formen von Fc γ RI-III gebildet (291).

Die Rezeptordichte auf Granulozyten und Monozyten wird in vitro u.a. durch Zytokine, Chemotaxine, Immunkomplexe und opsonierte Partikel beeinflusst.

In vivo müssen zusätzlich Rekrutierungs- und Umverteilungsvorgänge berücksichtigt werden.

7.9.1. CD16 (Fc γ RIII)

Die granulozytäre CD16-Expression ist bei den hier untersuchten KHK-Patienten, insbesondere jedoch bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt signifikant erniedrigt und zeigt bis zum 4. postinfarziellen Tag einen signifikanten Anstieg. Ebenso ist die monozytäre CD16-Expression bei Infarktpatienten signifikant erniedrigt, der Zeitverlauf läßt hier jedoch keine Tendenz erkennen.

CD16 wird von Makrophagen und Granulozyten konstitutionell exprimiert (34). Bei Entzündungsreaktionen tritt verstärkt eine CD16-positive Monozytenpopulation auf, die morphologisch und funktionell Makrophagen ähnelt ("Prämakrophagen", u.a. erhöhte HLA-DR-, reduzierte CD14- und CD64-Expression) (35). Ebenso führt kurzzeitige körperliche Belastung, ein Modell für die katecholaminvermittelte Mobilisation des marginalen Pools, zur Rekrutierung dieser CD16-positiven Monozytenpopulation (38, 39). Dieses Phänomen hätte beim akuten Myokardinfarkt also eher einen Anstieg der monozytären CD16-Expression erwarten lassen.

Nach Inkubation mit Chemotaxinen oder opsonierten Partikeln wurde eine Abnahme der granulozytären CD16-Expression als Folge von "shedding" bzw. Internalisation beschrieben, gleichzeitig kam es jedoch zu einer Zunahme des Aktivierungsmarkers CD11b/CD18 (291). Als Hinweis auf eine reifungsbedingte Zunahme der Rezeptordichte findet sich bei zirkulierenden PMN eine deutlich höhere Fc γ -Rezeptorenexpression als bei PMN des postmitotischen Knochenmarkpools (292). Inwieweit dies im Falle einer Entzündungs- oder

Streßreaktion zu einer rekrutierungsbedingten Abnahme der mittleren granulozytären CD16-Expression führt, wurde bisher nicht beschrieben. Die im Rahmen entzündlicher Erkrankungen beobachtete Granulozytose mit "Linksverschiebung" wird jedoch von der überproportionalen Expansion einer CD16-negativen PMN-Population begleitet (293, 294). Eine Gabe von G-CSF führte bei gesunden Probanden infolge von CD16-Translokation aus einem intrazellulären Pool zunächst zu einem leichten Expressionsanstieg auf zirkulierenden PMN. Die hierbei mit geringer Latenz aus dem Knochenmarkspool rekrutierte PMN-Population zeigte dagegen eine deutlich reduzierte CD16-Expression (295). Das als weitgehend aktivierungsunabhängiger Marker der PMN-Reifung identifizierte 31D8-Antigen (296) stellt möglicherweise ein CD-16-Epitop dar (297).

Zusammenfassend sind die hier bei KHK-Patienten beobachteten CD16-Phänomene mit den bekannten Reaktionsmustern nicht vollständig zu erklären. Bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt kann eine verringerte granulozytäre CD16-Expression auf die Rekrutierung unreifer Zellen aus dem Knochenmarkspool bezogen werden, zumal eine inverse Korrelation zur Gesamtleukozytenzahl ($r=-0,31$, $p=0,011$), zur PMN-Zahl ($r=-0,33$, $p=0,006$) und zum TNF- α -Plasmaspiegel ($r=-0,36$, $p=0,011$) neben einer positiven Korrelation zur granulozytären L-Selektin-Expression ($r=0,33$, $p=0,005$) bestehen. Die auch bei Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris reduzierte granulozytäre Rezeptordichte bleibt hierdurch jedoch unerklärt.

7.9.2. CD32 (Fc γ RII)

Die granulozytäre CD32-Expression ist bei den hier untersuchten Infarktpatienten gegenüber Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris signifikant erniedrigt und zeigt einen signifikanten Anstieg bis zum 4. postinfarziellen Tag. Ebenso ist die monozytäre CD32-Expression bei Infarktpatienten signifikant erniedrigt und zeigt im Zeitverlauf eine ansteigende Tendenz.

CD32 wird von Monozyten und Granulozyten konstitutionell exprimiert (34), zusätzlich induzieren proinflammatorische Zytokine (z.B. IFN- γ , GM-CSF) eine geringgradige Zunahme der Rezeptordichte (291). Über eine veränderte granulozytäre oder monozytäre CD32-Expression bei experimenteller Mobilisation des postmitotischen Knochenmarkpools oder des marginalen Pools wurde bisher nicht berichtet (295).

Patienten mit bakteriellen oder viralen Infektionen zeigten eine erhöhte granulozytäre CD32-Expression (298).

Die hier bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt beobachtete phagozytäre CD32-Depletion ist daher mit den bekannten Reaktionsmustern nicht zu erklären. Möglicherweise handelt es sich auch hier um ein Rekrutierungsphänomen.

7.9.3. CD64 (FcγRI)

In der vorliegenden Untersuchung ist die granulozytäre CD64-Expression bei KHK-Patienten gegenüber Kontrollprobanden signifikant erniedrigt. Bei Infarktpatienten zeigt sie zunächst einen weiteren Abfall nach 4 Stunden, im Verlauf dann einen Anstieg bis zum 4. postinfarziellen Tag. Ebenso ist die monozytäre CD64-Expression bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt gegenüber Kontrollprobanden signifikant erniedrigt. Auch hier zeigt sich bei Infarktpatienten ein signifikanter Anstieg am 4. postinfarziellen Tag. CD64 wird von Monozyten konstitutionell exprimiert, daneben bewirken Zytokine (z.B. IFN- γ , G-CSF, IL-10) eine Zunahme der Rezeptordichte auf Granulozyten und Monozyten (34, 291).

Wie bereits erwähnt, kommt es im Rahmen von Entzündungs- und Streßreaktionen zur Rekrutierung einer CD16-positiven Monozytenpopulation ("Prämakrophagen") mit reduzierter CD64-Expression (35). Bei Patienten mit bakteriellen Infektionen wurde jedoch eine insgesamt erhöhte granulozytäre und monozytäre CD64-Expression beobachtet (299). Eine aktuelle Untersuchung an Patienten mit instabiler Angina pectoris zeigte eine ebenfalls erhöhte monozytäre CD64-Expression, verbunden mit weiteren Zeichen einer IFN γ -vermittelten Aktivierung von Monozyten (300).

Im Rahmen der Atherogenese scheint CD64 als Rezeptor für LDL-Immunkomplexe bei der Umwandlung von Makrophagen in Schaumzellen zu wirken (301). In vitro erhöhen LDL und VLDL die monozytäre CD64-Expression (302). Ob umgekehrt die Gabe eines CSE-Hemmers die phagozytäre CD64-Expression beeinflusst, ist nicht bekannt.

Zusammenfassend ist die hier bei KHK-Patienten beobachtete phagozytäre CD64-Depletion mit den beschriebenen inflammatorischen Reaktionsmustern nicht zu erklären. Für relevante Umverteilungsphänomene findet sich bei Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris kein Anhalt.

7.10. Verringerte phagozytäre Expression des LPS/LBP-Rezeptors bei KHK-Patienten

Parallel zu CD64 ist die granulozytäre und monozytäre CD14-Expression bei den hier untersuchten KHK-Patienten gegenüber Kontrollprobanden signifikant erniedrigt. PMN von Infarktpatienten zeigen eine zusätzliche CD14-Reduktion gegenüber Patienten mit stabiler Angina pectoris. Der Zeitverlauf läßt hier einen weiteren tendenziellen Abfall bis zum 2., danach einen Wiederanstieg bis zum 4. postinfarziellen Tag erkennen. Ebenso zeigt die monozytäre CD14-Expression einen signifikanten Anstieg am 4. postinfarziellen Tag.

CD14 wird als Rezeptor für LPS bzw. LPS/LBP-Komplexe von Monozyten/Makrophagen sowie in geringerem Ausmaße auch von Granulozyten exprimiert. Die Rezeptorbindung führt unter Vermittlung eines transmembranalen Korezeptors (toll-like receptor, TLR) zur Zellaktivierung (303). In vitro führen u.a. IFN- γ , TGF- β und IL-4 zu einer Abnahme der monozytären CD14-Expression. LPS bewirkt dagegen einen biphasischen Anstieg der Rezeptordichte (303). Bei Entzündungs- und Streßreaktionen kommt es zur Rekrutierung einer CD16-positiven Monozytenpopulation ("Prämakrophagen") mit reduzierter CD14-Expression (35), ein Phänomen, das auch bei Patienten mit arteriosklerotischen Erkrankungen und Hyperlipoproteinämie zu beobachten ist (304). TNF- α , G-CSF und LPS führen zu einem CD14-Anstieg auf PMN (303).

Lösliches CD14 (sCD14) wird durch proteolytische Abspaltung der membrangebundenen Form oder direkt aus intrazellulären Speichern freigesetzt (303). Eine erhöhte Plasmakonzentration wurde bei einer Vielzahl von entzündlichen bzw. infektiösen Erkrankungen beschrieben. sCD14 hemmt u.a. kompetitiv die Bindung von LPS an die membrangebundene Form (303).

Patienten mit Sepsis, Polytrauma oder schweren Verbrennungen zeigten eine reduzierte monozytäre CD14-Expression bei gleichzeitig erhöhter sCD14-Plasmakonzentration (303). Ebenso kam es nach aortokoronaren Bypassoperationen zum deutlichen Abfall der mittleren monozytären CD14-Expression, verbunden mit einem Anstieg von sCD14 (305). Auch bei Laparatomien wurde ein postoperativer Abfall der monozytären CD14-Expression beobachtet, hier in Koinkidenz mit einem frühen IL-10-Anstieg sowie einem Abfall der monozytären HLA-DR-Expression und der LPS-induzierten TNF- α -Produktion in vitro (45). Parallel zur reduzierten HLA-DR-Expression wurde eine reduzierte monozytäre CD14-Expression als Prognosemarker bei Polytraumapatienten identifiziert (306). Die bei ARDS-Patienten reduzierte granulozytäre CD14-Expression wurde mit einer pulmonalen Sequestration aktivierter, CD14-positiver PMN sowie einem gleichzeitigen CD14-"shedding" erklärt (303).

In Bezug auf eine hypothetische Infektion mit einem gramnegativen Erreger (Chlamydia pneum.) kann bei KHK-Patienten das Phänomen der LPS-Toleranz diskutiert werden. Niedrige LPS-Konzentrationen führen zu einer funktionellen Konversion von Monozyten/Makrophagen mit reduzierter inflammatorischer Reaktion auf einen folgenden LPS-Stimulus (307). In vitro zeigen Monozyten hierbei zeitweise eine reduzierte CD14-Expression (308). Vorrangige Bedeutung bei der Entwicklung einer LPS-Toleranz hat jedoch eine veränderte intrazelluläre Signaltransduktion (303).

Eine kürzlich durchgeführte Studie zeigte eine deutlich erhöhte monozytäre CD14-Expression bei Patienten mit instabiler Angina pectoris, verglichen mit Kontrollprobanden und Patienten mit instabiler Angina pectoris (309). Ebenso wurde ein monozytärer CD14-Anstieg bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt beschrieben (235).

Als genetischer Risikomarker für arteriosklerotische Erkrankungen bzw. den Myokardinfarkt wird anhand retrospektiver Untersuchungen eine bestimmte Allelkonstellation des CD14-Promotors (C [-260]→T Polymorphismus, T/T-Homozygotie) diskutiert (310, 311), eine Variante, die allerdings mit einer erhöhten monozytären CD14-Expression assoziiert ist (311). Eine weitere, prospektive Untersuchung zeigte jedoch diesbezüglich keinen Zusammenhang zwischen CD14-Genotyp und Infarkttrisiko (312).

Zusammenfassend steht die hier bei KHK-Patienten beobachtete, reduzierte monozytäre CD14-Expression vorliegenden klinischen Untersuchungen an Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt entgegen (235, 309). Die Erklärung hierfür bleibt zunächst offen. Das hier beobachtete Phänomen folgt bei Infarktpatienten am ehesten dem Reaktionsmuster bei schweren, akut-entzündlichen Erkrankungen (antiinflammatorische Konversion von Monozyten, Sequestration aktivierter PMN), für das sich jedoch insbesondere bei Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris kein weiterer Anhalt findet. Interessant wäre die Bestimmung der Plasmakonzentration von sCD14 zur Differenzierung eines shedding-Phänomens.

Gegen eine LPS-Toleranz spricht die bei Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris in vitro erhöhte TNF- α -Produktion nach LPS-Stimulation.

Ein Rekrutierungsphänomen ist beim akuten Myokardinfarkt denkbar, bei stabiler und instabiler Angina pectoris findet sich hierfür jedoch kein weiterer Anhalt.

8. Zusammenfassung

Der überwiegende Teil der hier bei KHK-Patienten beobachteten immunologischen Phänomene ist als Resultat einer Inflammation zu erklären. Im Falle des akuten Myokardinfarktes kommt es zur Überlagerung mit Phänomenen einer verstärkten antiinflammatorischen Gegenregulation sowie einer streßbedingten Immunmodulation. Bei der Beurteilung des leukozytären Phänotyps sind hierbei neben einer direkten Beeinflussung zirkulierender Zellen auch Rekrutierungsphänomene zu berücksichtigen. Eine Einschätzung der kausalen Gewichtung der einzelnen Einflußgrößen ist anhand der vorliegenden Parameter nur begrenzt möglich.

8.1. Zeichen einer Streßreaktion bei Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt

Patienten mit instabiler Angina pectoris und akutem Myokardinfarkt zeigen gegenüber Kontrollprobanden signifikant erhöhte Plasmakortisolspiegel. Eine auch bei Patienten mit stabiler Angina pectoris tendenziell sichtbare Kortisolerhöhung ist als Ausdruck einer Streßreaktion bei bevorstehender Koronarangiographie zu diskutieren.

Die beim akuten Myokardinfarkt beobachteten Leukozytose (Granulozyten, Monozyten, NK-Zellen) entspricht weitgehend dem Muster einer katecholaminbedingten Mobilisation des marginalen Pools. Ebenso ist die gleichzeitig auftretende CD4+T-Zell-Depletion als Phänomen einer Streßreaktion bekannt. Schließlich deutet der bei Infarktpatienten frühe IL-10-Anstieg auf die Beteiligung einer katecholaminvermittelten Freisetzung hin.

8.2. Zeichen einer Entzündungsreaktion beim akuten Myokardinfarkt

Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigen eine signifikante Erhöhung der Plasmakonzentration von IL-6 sowie eine tendenzielle Erhöhung des TNF- α -Spiegels als Hinweis auf eine akute Inflammation.

Die Linksverschiebung der beim Myokardinfarkt beobachteten Granulozytose mit reduzierter CD-16-Expression kann als Zeichen einer entzündungsbedingten Mobilisation des Knochenmarkpools gewertet werden.

Gegenüber Patienten mit stabiler Angina pectoris zeigen Infarktpatienten als Hinweis auf eine Inflammation eine reduzierte granulozytäre L-Selektin-Expression.

Daneben ist hier ein streßbedingtes Rekrutierungsphänomen möglich. Die gleichzeitig reduzierte Plasmakonzentration von löslichem L-Selektin wird als Folge einer entzündungsbedingt gesteigerten Ligandenbindung diskutiert.

8.3. Zeichen einer verstärkten antiinflammatorischen Gegenregulation bzw. streßbedingten Immunmodulation beim akuten Myokardinfarkt

Patienten mit akutem Myokardinfarkt zeigen eine deutliche, im Verlauf reversible Reduktion der monozytären HLA-DR-Expression, ein Phänomen der antiinflammatorischen Konversion von Monozyten ("Immunparalyse"), das hier erstmalig in diesem Zusammenhang beschrieben wird. Entsprechend ist die in-vitro-Produktion von TNF- α bei Infarktpatienten gegenüber Patienten mit stabiler und instabiler Angina pectoris reduziert. Die bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt jedoch tendenziell erhöhte TNF- α -Plasmakonzentration zeigt eine (zumindest initial) noch fehlende systemische Wirksamkeit der antiinflammatorischen Konversion zirkulierender Monozyten. Eine gleichzeitige IL-10-Erhöhung mit zeitlich inversem Verhalten zur monozytären HLA-DR-Expression kann als Bindeglied zwischen Inflammation bzw. Streßreaktion und dem beobachteten antiinflammatorischen Phänomen angesehen werden. Der beim akuten Myokardinfarkt frühe IL-10-Anstieg deutet auf die Beteiligung eines katecholaminvermittelten Freisetzungsmechanismus hin, daneben muß jedoch auch eine entzündungsreaktive IL-10-Produktion angenommen werden.

8.4. Hinweise auf eine chronische Entzündungsreaktion bei KHK-Patienten

Die LPS-induzierte TNF- α -Produktion in Vollblutkulturen ist bei stabiler und instabiler Angina pectoris gegenüber Kontrollprobanden erhöht. Dieses Phänomen kann als Ausdruck einer gesteigerten Aktivität von Monozyten im Rahmen einer Inflammation gewertet werden. Die demgegenüber bei Infarktpatienten reduzierte TNF- α -Produktionskapazität in vitro wird als funktioneller Aspekt einer antiinflammatorischen Konversion von Monozyten angesehen. Patienten mit stabiler Angina pectoris zeigen gegenüber Kontrollprobanden erhöhte Plasmakonzentrationen von löslichem P-Selektin, bei Patienten mit instabiler Angina pectoris findet sich eine ähnliche Tendenz. Bei fehlendem Anstieg von löslichem E-Selektin wird dieses Phänomen vorrangig als Ausdruck einer Thrombozytenaktivierung gewertet.

8.5. Hinweise auf eine Akzelleration der Entzündungsreaktion bei Patienten mit instabiler Angina pectoris

Gegenüber Patienten mit stabiler Angina pectoris zeigen Patienten mit instabiler Angina pectoris eine reduzierte granulozytäre L-Selektin-Expression als Hinweis für eine entzündungsbedingte Aktivierung. Die gleichzeitig reduzierte Plasmakonzentration von löslichem L-Selektin wird als Folge einer ebenfalls entzündungsbedingt gesteigerten Ligandenbindung diskutiert.

8.6. Schlußfolgerungen und weiterführende Untersuchungen

Die vorliegende Untersuchung beschreibt ein breites Spektrum inflammatorischer und antiinflammatorischer Phänomene bei KHK-Patienten.

Als interessantester Aspekt erscheint hierbei eine antiinflammatorische Konversion von Monozyten sowie ein IL-10-Anstieg bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt. Für die immunpathologische Einordnung dieses Phänomens im Sinne einer "Immunparalyse" wäre zusätzlich der Nachweis einer im Zeitverlauf unter das Niveau von Kontrollprobanden reduzierten TNF- α -Plasmakonzentration erforderlich.

Untersuchungen zum assoziierten Infektionsrisiko (einschließlich serologischen Zeichen der Exazerbation einer Chlamydia pneumoniae-Infektion) würden eine klinische Bewertung ermöglichen. Weiterhin wäre interessant, ob ein Zusammenhang zwischen dem Ausmaß der antiinflammatorischen Reaktion und der Schwere bzw. Prognose eines Myokardinfarktes besteht. Bemerkenswert in diesem Zusammenhang sind zwei aktuell veröffentlichte Untersuchungen an Patienten mit instabiler Angina pectoris, die einen erhöhten IL-10-Plasmaspiegel bzw. eine höhere IL-10/IL-8-Ratio als Marker einer günstigeren Prognose in Bezug auf Mortalität und Infarktrisiko identifizieren (317, 318). Antiinflammatorische bzw. antiadhäsive Therapieansätze, ein Gegenstand intensiver Forschung in Zusammenhang mit Ischämie und Reperfusion beim akuten Myokardinfarkt erfordern zur Patientenauswahl sowie zur Steuerung der jeweiligen Intervention eine Charakterisierung des vorliegenden inflammatorisch-antiinflammatorischen Gleichgewichts. Nachdem die Gabe von IL-10 tierexperimentell einen myokardprotektiven Effekt bei Ischämie und Reperfusion zeigte (244), wäre etwa die Hinzunahme von IL-10- und TNF- α -Plasmaspiegel sowie monozytärer HLA-DR-Expression als Steuerungsparameter für eine weitere Versuchsplanung interessant.

Wiederholt wurden in der vorliegenden Untersuchung Veränderungen des leukozytären Phänotyps einerseits als Aktivierungsmarker zirkulierender Zellen, alternativ als Umverteilungsphänomen von Leukozyten mit primär abweichendem Phänotyp diskutiert. Der zur Differenzierung dieser beiden Einflußgrößen weiterführende Nachweis einer Inhomogenität der Leukozytenpopulation bezüglich eines Oberflächenmarkers sollte bei der statistischen Analyse der durchflußzytometrischen Primärdaten erfolgen. Weiterhin kann der Einsatz zusätzlicher Differenzierungsmarker, z.B. das 31D8-Antigen für reife PMN, eine Abgrenzung neurekrutierter Leukozytenpopulationen ermöglichen.

Die Interpretation möglicherweise katecholaminvermittelter Phänomene (z.B. Rekrutierung des marginalen Pools, IL-10-Freisetzung) erfordert eine Messung der Plasmakatecholamine sowie ggf. die Berücksichtigung einer antiadrenergen Medikation (z.B. β -Blocker). Zur Bewertung der phagozytären Expression von Fc γ I-III, CD14 sowie ICAM-1 würde eine Messung der jeweils löslichen Form beitragen.

Insbesondere für sL-Selektin wäre die Untersuchung eines transkoronaren Gradienten interessant.

9. Literatur

1. Repo H, Harlan JM (1999). Mechanisms and consequences of phagocyte adhesion to endothelium. *Ann Med.* 31(3): 156-65
2. Imhof BA, Dunon D (1997). Basic mechanism of leukocyte migration. *Horm Metab Res.* 29(12): 614-21
3. Butcher EC (1993). Specificity of leukocyte-endothelial interactions and diapedesis: physiologic and therapeutic implications of an active decision process. *Res Immunol.* 144(9): 695-8
4. Springer TA (1990). Adhesion receptors of the immune system. *Nature.* 346(6283): 425-34
5. Vestweber D, Blanks JE (1999). Mechanisms that regulate the function of the selectins and their ligands. *Physiol Rev.* 79(1): 181-213
6. Elangbam CS, Qualls CW, Dahlgren RR (1997). Cell adhesion molecules – update. *Vet Pathol.* 34(1): 61-73
7. Meager A (1999). Cytokine regulation of cellular adhesion molecule expression in inflammation. *Cytokine Growth Factor Rev.* 10(1): 27-39
8. Zimmerman GA, Prescott SM, McIntyre TM (1992). Endothelial cell interactions with granulocytes: tethering and signaling molecules. *Immunol Today.* 13(3): 93-100
9. Balkwill F (1998). The molecular and cellular biology of the chemokines. *J Viral Hepat.* 5(1): 1-14
10. Diamond MS, Springer TA (1993). A subpopulation of Mac-1 (CD11b/CD18) molecules mediates neutrophil adhesion to ICAM-1 and fibrinogen. *J Cell Biol.* 120(2): 545-56
11. Hoffmann JC, Dengler TJ, Knolle PA, Roux M, Meuer SC (1993). A soluble form of the adhesion receptor CD58 (LFA-3) is present in human body fluids. *Eur J Immunol.* 23(11): 3003-10
12. Viedma Contreras JA (1999). Leucocyte activation markers in clinical practice. *Clin Chem Lab Med.* 37(6): 607-22
13. Jaeschke H, Smith CW (1997). Mechanisms of neutrophil-induced parenchymal injury. *J Leukoc Biol.* 61(6): 647-53
14. Baumann H, Gauldie J (1994). The acute phase response. *Immunol Today.* 15(2): 74-80
15. Gemsa D, Resch K (1997). Entzündung. In: Gemsa D, Kalden JR, Resch K, Vorlaender KO (eds) "Immunologie". Thieme Stuttgart New York 1997, pp 135-58

16. Volk HD, Reinke P, Krausch D, Zuckermann H, Asadullah K, Muller JM, Docke WD, Kox WJ (1996). Monocyte deactivation – rationale for a new therapeutic strategy in sepsis. *Intensive Care Med.* 22 Suppl. 4: S474-81
17. Krishnaswamy G, Kelley J, Yerra L, Chi DS (1999). Human endothelium as a source of multifunctional cytokines: molecular regulation and possible role in human disease. *J Interferon Cytokine Res.* 19(2): 91-104
18. Yamauchi-Takahara K, Ihara Y, Ogata A, Kishimoto T (1995). Hypoxic stress induces cardiac myocyte-derived IL-6. *Circulation.* 91(5): 1520-4
19. Röllinghoff M, Wagner H (1997). Zelluläre Immunreaktionen. In: Gemsa D, Kalden JR, Resch K, Vorlaender KO (eds) "Immunologie". Stuttgart New York, Thieme 1997, pp 29-44
20. Platzer C, Meisel C, Vogt K, Platzer M, Volk HD (1995). Up-regulation of monocytic IL-10 by tumor necrosis factor-alpha and cAMP elevating drugs. *Int Immunol.* 7(4): 517-23
21. Docke WD, Jacobi C, Eberhardt B, Sabat R, Stosslein R, Volk HD (1997). Rapid systemic IL-10 release after major trauma and stress may contribute to post-injury immunodepression. Monduzzi Editore, reprinted from 4th international congress on the immune consequences of trauma, shock and sepsis: 177-82
22. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A (1991). IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol.* 147(11): 3815-22
23. Koppelman B, Neefjes JJ, de Vries JE, de Waal Malefyt R (1997). Interleukin-10 down-regulates MHC class II alphabeta peptide complexes at the plasma membrane of monocytes by affecting arrival and recycling. *Immunity.* 7(6): 861-71
24. Casatella MA (1998). The neutrophil: one of the cellular targets of interleukin-10. *Int J Clin Lab Res.* 28(3): 148-61
25. Elenkov IJ, Papanicolaou DA, Wilder RL, Chrousos GP (1996). Modulatory effects of glucocorticoids and catecholamins on human interleukin-12 and interleukin-10 production: clinical implications. *Proc Assoc Am Physicians.* 108(5): 374-81
26. Woiciechowsky C, Asadullah K, Nestler D, Eberhardt B, Platzer C, Schonig B, Glockner F, Volk HD, Docke WD (1998). Sympathetic activation triggers systemic interleukin-10 release in immunodepression induced by brain injury. *Nat Med.* 4(7): 808-13
27. Woiciechowsky C, Schonig B, Lanksch WR, Volk HD, Docke WD (1999). Mechanisms of brain-mediated systemic anti-inflammatory syndrome causing immunodepression. *J Mol Med.* 77(11): 769-80
28. Platzer C, Docke WD, Volk HD, Prosch S (2000). Catecholamines trigger IL-10-release in acute systemic stress reaction by direct stimulation of its promoter/enhancer activity in monocytic cells. *J Neuroimmunol.* 105(1): 31-8

29. Bone RC (1996). Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS. *Crit Care Med.* 24(7): 1125-8
30. Docke WD, Randow F, Syrbe U, Krausch D, Asadullah K, Reinke P, Volk HD, Kox W (1997). Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. *Nat Med.* 3(6): 678-81
31. Volk HD, Thieme M, Heym S, Docke WD, et al (1991). Alterations in function and phenotype of monocytes from patients with septic disease – predictive value and new therapeutic strategies. *Behring Inst Mitt.* 88: 208-15
32. Klava A, Windsor AC, Farmery SM, Woodhouse LF, Guillou PJ (1997). IL-10: a role in the development of postoperative immunosuppression. *Arch Surg.* 132: 425-9
33. Gearing AJ, Newmann W (1993). Circulating adhesion molecules in disease. *Immunol Today.* 14(10): 506-12
34. Gessner JE, Heiken H, Tamm A, Schmidt RE (1998). The IgG Fc receptor family. *Ann Hematol.* 76(6): 231-48
35. Scherberich JE, Nockher WA (1999). CD14⁺⁺ monocytes, CD14⁺/CD16⁺ subset and soluble CD 14 as biological markers of inflammatory systemic disease. *Clin Chem Lab Med.* 37(3): 209-13
36. Gabriel HH, Kindermann W (1998). Adhesion molecules during immune response to exercise. *Can J Physiol Pharmacol.* 76(5): 512-23
37. Grage-Griebenow E, Flad HD, Ernst M (2001). Heterogeneity of human peripheral blood monocyte subsets. *J Leukoc Biol.* 69(1): 11-20
38. Steppich B, Dayyani F, Lorenz R, Mack M, Ziegler-Heitbrock HW (2000). Selective mobilisation of CD14(+)CD16(+) monocytes by exercise. *Am J Physiol Cell Physiol.* 279(3): C578-86
39. Gabriel H, Urhausen A, Brechtel L, Muller HJ, Kindermann W (1994). Alterations of regular and mature monocytes are distinct, and dependent of intensity and duration of exercise. *Eur J Appl Occup Physiol.* 69(2): 179-81
40. Cheadle WG (1993). The human leukocyte antigens and their relationship to infection. *Am J Surg.* 165(2A Suppl): 75S-81S
41. Livingston DH, Appel SH, Wellhausen SR, Sonnenfeld G, Polk HC (1988). Depressed interferon gamma production and monocyte HLA-DR expression after severe injury. *Arch Surg.* 123(11): 1309-12
42. Hershman MJ, Cheadle WG, Wellhausen SR, Polk HC (1990). Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the trauma patient. *Br J Surg.* 77(2): 204-7.

43. Kono K, Sekikawa T, Matsumoto Y (1995). Influence of surgical stress on monocytes and complications of infection in patients with oesophagus cancer – monocyte HLA-DR antigen expression and respiratory burst capacity. *J Surg Res.* 58(3): 275-80
44. Wakefield CH, Carey PD, Foulds S, Monson JR, Guillou PJ (1993). Changes in major histocompatibility complex class II expression in monocytes and T-cells of patients developing infection after surgery. *Br J Surg.* 80(2): 205-9
45. Kawasaki T, Ogata M, Kawasaki C, Tomihisa T, Shigematsu A (2001). Surgical stress induces endotoxin hyporesponsiveness and an early decrease of monocyte mCD14 and HLA-DR expression during surgery. *Anest Analg.* 92(5): 1322-6
46. Dancey JT, Deubelbeiss KA, Harker LA, Finch CA (1976). Neutrophil kinetics in man. *J Clin Invest.* 58(3): 705-15
47. Klonz A, Wonigeit K, Pabst R, Westermann J (1996). The marginal blood pool of the rat contains not only granulocytes, but also lymphocytes, NK-cells and monocytes: a second intravascular compartment, its cellular composition, adhesion molecule expression and interaction with the peripheral blood pool. *Scand J Immunol.* 44(5): 461-9
48. Rogowski O, Kassirer M, Zeltser D, Sasson Y, Berliner S (1998). Down-regulation of the CD62L antigen as a possible mechanism for neutrophilia during inflammation. *Br J Haematol.* 101(4): 666-9
49. Kuebler WM, Kuhnle GE, Groh J, Goetz AE (1997). Contribution of selectins to leukocyte sequestration in pulmonary microvessels by intravital microscopy in rabbits. *J Physiol.* 501(Pt 2): 375-86
50. Jagels MA, Hugli TE (1994). Mechanisms and mediators of neutrophilic leukocytosis. *Immunopharmacology.* 28(1): 1-18
51. Jagels MA, Chambers JD, Arfors KE, Hugli TE (1995). C5a- and tumor necrosis factor-alpha-induced leukocytosis occurs independently of beta 2 integrins and L-selectin: differential effects on neutrophil adhesion molecule expression in vivo. *Blood.* 85(19): 2900-9
52. Jagels MA, Hugli TE (1992). Neutrophil chemotactic factors promote leukocytosis. A common mechanism for cellular recruitment from bone marrow. *J Immunol.* 148(4): 1119-28
53. Davis JM, Albert JD, Tracy KJ, Yurt RW (1991). Increased neutrophil mobilisation and decreased chemotaxis during cortisol and epinephrine infusions. *J Trauma.* 31(6): 725-31
54. Toft P, Helbo-Hansen HS, Tonnesen E, Christensen NJ (1994). Redistribution of granulocytes during adrenaline infusion and following administration of cortisol in healthy volunteers. *Acta Anaesthesiol Scand.* 38(3): 254-8
55. Nakagawa M, Terashima T, Bondy GP, Van Eeden SF (1998). Glucocorticoid-induced granulocytosis. *Circulation.* 98(21): 2307-13

56. Nakagawa M, Bondy GP, Waisman D, Van Eeden SF (1999). The effect of glucocorticoids on the expression of L-selectin on polymorphonuclear leukocytes. *Blood*. 93(8): 2730-7
57. Hoffmann-Goetz L, Pedersen BK (1994). Exercise and the immune system: a model of the stress response? *Immunol Today*. 15(8): 382-7
58. Berkow RL, Dodson RW (1987). Functional analysis of the marginating pool of human polymorphonuclear leukocytes. *Am J Hematol*. 24(1): 47-54
59. Van Eeden SF, Granton J, Hards JM, Moore B, Hogg JC (1999). Expression of the cell adhesion molecules on leukocytes that demarginate during acute maximal exercise. *J Appl Physiol*. 86(3): 970-6
60. McEwen BS, Biron CA, Brunson KW, Bulloch K, Weiss JM (1997). The role of adrenocorticoids as modulators of immune function in health and disease: neural, endocrine, and immune interactions. *Brain Res Rev*. 23: 79-133
61. Glaser R, Rice J, Speicher CE, Kiecot-Glaser JK (1986). Stress depresses interferon production by leukocytes concomitant with a decrease in natural killer cell activity. *Behav Neurosci*. 100(5): 675-8
62. Berczi I (1997). The stress concept: a historical perspective of Hans Selye's contributions. In: Buckingham JL, Gillies GE, Cowell AM (eds) "Stress, stress hormones and the immune system." John Wiley & Sons Ltd. 1997, pp 1-9
63. Buckingham JC, Cowell AM, Gillies GE, Herbison AE, Steel JH (1997). The neuroendocrine system: anatomy, physiology and responses to stress. In: Buckingham JL, Gillies GE, Cowell AM (eds) "Stress, stress hormones and the immune system." John Wiley & Sons Ltd. 1997, pp 9-49
64. Munck A, Guyre P, Holbrook NJ (1984). Physiological function of glucocorticoids in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocr Rev*. 5(1): 25-44
65. Goulding NJ, Flower RJ (1997). Glucocorticoids and the immune system. In: Buckingham JL, Gillies GE, Cowell AM (eds) "Stress, stress hormones and the immune system." John Wiley & Sons Ltd. 1997, pp 199-225
66. Goldstein RA, Bowen DL, Fauci AS (1992). Adrenal corticosteroids, inflammation. In: Gallin JI, Goldstein IM, Snyderman R (eds) "Basic principles and clinical correlates". New York, Raven Press, 1992, pp 1061-80
67. Dhabhar FS, Miller AH, McEwen BS, Spencer RL (1995). Effects of stress on immune cell distribution. Dynamics and hormonal mechanisms. *J Immunol*. 154(10): 5511-27
68. Dhabhar FS, Miller AH, McEwen BS, Spencer RL (1996). Stress-induced changes in blood leukocyte distribution. Role of adrenal steroid hormones. *J Immunol*. 157(4): 1638-44
69. Dhabhar FS (1998). Stress-induced enhancement of cell mediated immunity. *Am NY Acad Sci*. 840: 359-72

70. Paliogianni F, Raptis A, Ahuja S, Boumpas DT (1993). Negative transcriptional regulation of human interleukin 2 (IL-2) gene by glucocorticoids through interference with nuclear transcription factors AP-1 and NF-AT. *J Clin Invest.* 91(4): 1481-9
71. Munck A, Guyre PM (1991). Glucocorticoids and immune function. In: Ade R, Felton DL, Cohen N (eds) "Psychoneuroimmunology" New York, Academic Press Inc 1991, pp 447-74
72. Schleimer RP, Freeland HS, Peters SP, Derse CP (1989). An assessment of the effects of glucocorticoids on degranulation, chemotaxis, binding to vascular endothelium and formation of leukotriene B₄ by purified human neutrophils. *J Pharmac Exp Ther.* 250(2): 598-605
73. Cronstein BN, Kimmel SC, Levin RI, Weissman G (1992). A mechanism for the antiinflammatory effects of corticosteroids: the glucocorticoid receptor regulates leukocyte adhesion to endothelial cells and expression of endothelial-leukocyte adhesion molecule 1 and intercellular adhesion molecule 1. *Proc Natl Acad Sci USA.* 89(21): 9991-5
74. Sternberg EM (1995). Neuroendocrine factors in susceptibility to inflammatory disease: focus on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis. *Horm Res.* 43(4): 159-61
75. Hammond GL (1990). Molecular properties of corticosteroid binding globulin and the sex-steroid binding proteins. *Endocr Rev.* 11(1): 65-79
76. Kapcala LP, Chautard T, Eskay RL (1995). The protective role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis against lethality produced by immune, infectious, and inflammatory stress. *Am NY Acad Sci.* 771: 419-37
77. Derjik R, Sternberg EM (1994). Corticosteroid action and neuroendocrine-immune interactions. *Ann N Y Acad Sci.* 746: 33-41
78. McEwen BS (1998). Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med.* 338(3): 171-9
79. Vellucci SV (1997). The autonomic and behavioural responses to stress. In: Buckingham JL, Gillies GE, Cowell AM (eds) "Stress, stress hormones and the immune system." John Wiley & Sons Ltd. 1997, pp 49-71
80. Downing JE, Kendall MD (1997). Autonomic regulation of immune function: anatomical, biochemical and functional studies. In: Buckingham JL, Gillies GE, Cowell AM (eds) "Stress, stress hormones and the immune system." John Wiley & Sons Ltd. 1997, pp 309-37
81. Landmann R (1992). Beta-adrenergic receptors in human leukocyte populations. *Eur J Clin Invest.* 22(Suppl. 1): 30-6
82. Maisel AS, Knowlton KU, Fowler P, Michel MC (1990). Adrenergic control of circulating lymphocyte subpopulations. Effects of congestive heart failure, dynamic exercise, and terbutaline treatment. *J Clin Invest.* 85(2): 462-7

83. Malec P, Tchorzewski H, Markiewicz K, Pokoca L (1989). Some mechanisms of immunosuppressive action of epinephrine in humans. *Allergol Immunopathol.* 17(2): 81-4
84. Nomoto Y, Karasawa S, Uehara K (1994). Effects of hydrocortisone and adrenaline on natural killer cell activity. *Br J Anaesth.* 73(3): 318-21
85. Tvede N, Kappel M, Klarlund K, Pedersen BK (1994): Evidence that the effect of bicycle exercise on blood mononuclear cell proliferative responses and subsets is mediated by epinephrine. *Int J Sports Med.* 15(2): 100-4
86. Hetherington SV, Quie PG (1985). Human polymorphonuclear leukocytes of the bone marrow, circulation, and marginated pool: function and granule protein content. *Am J Haematol.* 20(3): 235-46
87. Schedlowski M, Falk A, Rohne A, Schmidt RE (1993). Catecholamines induce alterations of distribution and activity of human natural killer (NK) cells. *J Clin Immunol.* 13(5): 344-51
88. Mills PJ, Ziegler MG, Rehman J, Maisel AS (1998). Catecholamines, catecholamine receptors, cell adhesion molecules, and acute stressor-related changes in cellular immunity. *Adv Pharmacol.* 42: 587-90
89. Benschop RJ, Rodriguez-Feuerhahn M, Schedlowski M (1996). Catecholamine-induced leukocytosis: early observations, current research, and future directions. *Brain Behav Immun.* 10(2): 77-91
90. Weisdorf D, Jacob H (1987). Beta-adrenergic blockade: augmentation of neutrophil-mediated inflammation. *J Lab Clin Med.* 109(2): 120-6
91. Van der Poll T, Coyle SM, Barbosa K, Braxton CC, Lowry SF (1996). Epinephrine inhibits tumor necrosis factor-alpha and potentiates interleukin 10 production during human endotoxemia. *J Clin Invest.* 97(3): 713-9
92. Van der Poll T, Lowry SF (1997). Epinephrine inhibits endotoxin-induced IL-1 beta production: roles of tumor necrosis factor-alpha and IL-10. *Am J Physiol.* 273(6 Pt 2): 1885-90
93. Sekut L, Champion BR, Page K, Menius JA, Connolly KM (1995). Anti-inflammatory activity of salmeterol: down-regulation of cytokine production. *Clin Exp Immunol.* 99(3): 461-6
94. Monastra G, Secchi EF (1993). Beta-adrenergic receptors mediate in vivo the adrenaline inhibition of lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor release. *Immunol Lett.* 38(2): 127-30
95. Takamoto T, Hori Y, Koga Y, Yokoyama MM (1991). Norepinephrine inhibits human natural killer cell activity in vitro. *Int J Neurosci.* 58(1-2): 127-31

96. Vredevoe DL, Moser DK, Gan XH, Bonavida B (1995). Natural killer cell anergy to cytokine stimulants in a subgroup of patients with heart failure: relationship to norepinephrine. *Neuroimmunomodulation*. 2(1): 16-24
97. Kim FJ, Moore EE, Koike K, Banerjee a (1994). Disparate signal transduction in neutrophil CD18 adhesion receptor expression versus superoxide generation. *Surgery*. 116(2): 262-6
98. Nagata S, Klebo DK, Kunkel S, Glovsky MM (1992): Effect of adenylate cyclase activators on C5a-induced human neutrophil aggregation, enzyme release and superoxide production. *Int Arch Allergy Immunol*. 97(3): 194-9
99. Parantainen J, Alanko J, Moilanen E, Vapaatalo H (1990). Catecholamines inhibit leukotriene formation and decrease leukotriene/prostaglandin ratio. *Biochem Pharmacol*. 40(5): 961-6
100. Bazzoni G, Dejana E, Del Maschio A (1991). Adrenergic modulation of human polymorphonuclear leukocyte activation. Potentiating effect of adenosine. *Blood*. 77(9): 2042-8
101. Van der Poll T, Jansen J, Endert E, Sauerwein HP, Van Deventer SJ (1994). Noradrenaline inhibits lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor and interleukin-6 production in human whole blood. *Infect Immun*. 62(5): 2046-50
102. Hu XX, Goldmuntz EA, Brosnan CF (1991). The effect of norepinephrine on endotoxin-mediated macrophage activation. *J Neuroimmunol*. 31(1): 35-42
103. Severn A, Rapson NT, Hunter CA, Liew FY (1992). Regulation of tumor necrosis factor production by adrenaline and beta-adrenergic agonists. *J Immunol*. 148(11): 3441-5
104. Koff WC, Fann AV, Dunegan MA, Lachman LB (1986). Catecholamine-induced suppression of interleukin-1 production. *Lymphokine Res*. 5(4): 239-47
105. Suberville S, Bellocq A, Fouqueray B, Baud L (1996). Regulation of interleukin-10 production by beta-adrenergic agonists. *Eur J Immunol*. 26(11): 2601-5
106. Van Oosterhout AJ, Stam WB, Vanderschueren RG, Nijkamp FP (1992). Effects of cytokines on beta-adrenoreceptor function of human peripheral blood mononuclear cells and guinea pig trachea. *L Allergy Clin Immunol*. 90(3 Pt.1): 340-8
107. Sanders VM (1995). The role of adrenoceptor-mediated signals in the modulation of lymphocyte function. *Adv Neuroimmunol*. 5(3): 283-98
108. Krause D, Deutsch C (1991). Cyclic AMP directly inhibits IL-2 receptor expression in human T cells. *J Immunol*. 146(7): 2285-94
109. Cook-Mills JM, Cohen RL, Perlmann RL, Chambers DA (1995). Inhibition of lymphocyte activation by catecholamines: evidence for a non-classical mechanism of catecholamine action. *Immunology*. 85(4): 544-9

110. Levine TB (1990). Neuroendocrine activation in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 65(19): 32I-34I
111. Cleland JG, Cowburn PJ, Morgan K (1996). Neuroendocrine activation after myocardial infarction: causes and consequences. *Heart.* 76(3 Suppl 3): 53-9
112. McAlpine HM, Cobbe SM (1988). Neuroendocrine changes in acute myocardial infarction. *Am J Med.* 84(3A): 61-6
113. Ray SG, Morton JJ, Dargie HJ (1993). Neuroendocrine activation and markers of early reperfusion in the acute phase of myocardial infarction. *Eur Heart J.* 14(12): 1615-21
114. Remes J (1994). Neuroendocrine activation after myocardial infarction. *Br Heart J.* 72(3 Suppl): S65-S9
115. Richards AM, Nicholls MG, Yandle TG, Smyth DW (1999). Neuroendocrine prediction of left ventricular function and heart failure after acute myocardial infarction. *Heart.* 81(2): 114-20
116. Karlsberg RP, Cryer PE, Roberts R (1981). Serial plasma catecholamine response early in the course of clinical acute myocardial infarction: relationship to infarct extent and mortality. *Am Heart J.* 102(1): 24-9
117. Riese U, Brenner S, Docke WD, Prosch S, Reinke P, Oppert M, Volk HD, Platzer C (2000). Catecholamines induce IL-10-release in patients suffering from acute myocardial infarction by transactivating its promotor in monocytic but not in T-cells. *Mol Cell Biochem.* 212(1-2): 45-50
118. Yusuf S, Peto R, Lewis J, Collins R, Sleight P (1985). Beta blockade during and after myocardial infarction: an overview of the randomized trials. *Prog Cardiovasc Dis.* 27(5): 335-71
119. Donald RA, Crozier IG, Foy SG, Richards AM, Ikram H (1994). Plasma corticotropin releasing hormone, vasopressin, ACTH, and cortisol responses to acute myocardial infarction. *Clin Endocrinol.* 40(4): 499-504
120. Bain RJ, Fox JP, Jagger J, MurrayRG (1992). Serum cortisol levels predict infarct size and patient mortality. *Int J Cardiol.* 37(2): 145-50
121. Rudniki C, Komlos L, Notmann J, Bass S, Canetti M, Hart J, Zahavi I (1991). The effect of serum from patients with acute myocardial infarction on in vitro lymphocyte reactivity. Inhibition of mitogen stimulation. Inhibition of IL-2 production. *Asian Pac J Allergy Immunol.* 9(1): 9-19
122. Adair R, Kasahara M (1980). Serum cortisol response to acute myocardial infarction in the aged. *J Am Ger Soc.* 28(10): 472-4
123. Vetter NJ, Strange RC, Adams W, Oliver MF (1974). Initial metabolic and hormonal response to acute myocardial infarction. *Lancet.* 1(7852): 284-8

124. Bell D, Jackson M, Nicoll J, Muir AL (1990). Inflammatory response, neutrophil activation, and free radical production after acute myocardial infarction: effect of thrombolytic treatment. *Br Heart J.* 63(2): 82-7
125. Obel N, Andersen PL, Andersen HR (1993). Preserved oxidative activity and chemotaxis of circulating neutrophils in patients with acute myocardial infarction. *Eur Heart J.* 14(6): 790-4
126. Meisel SR, Pauzner H, Shechter M, David D (1998). Peripheral monocytosis following acute myocardial infarction: incidence and its possible role as a bedside marker of the extent of the cardiac injury. *Cardiology.* 90(1): 52-7
127. Kuroki SK, Miyahara K, Uematso T (1993). Immunological aspects in patients with acute myocardial infarction. *Jpn Circ J.* 57(1): 37-46
128. Syrjala H, Surcel HM, Ilonen J (1991). Low CD4/CD8 T lymphocyte ratio in acute myocardial infarction. *Clin Exp Immunol.* 83(2): 326-8
129. Blum A, Sclarovsky S, Rehavia E, Shohat B (1994). Levels of T-lymphocyte subpopulations, interleukin-1 beta, and soluble interleukin-2 receptor in acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 127(5): 1226-30
130. Kaufman HS, Kvitash VI (1989). Immunologic abnormalities associated with acute ischemic heart disease (a pilot study). *Ann Allergy.* 63(4): 287-90
131. Maisel AS, Waltman TJ, Harris TJ (1994). Cell mediated immunity in acute myocardial infarction: association with infarct size and subsequent mortality (abstract). *Circulation.* 90(4 Pt. 2): I-501
132. Klarlund K, Pedersen BK, Theander TG, Andersen V (1987). Depressed natural killer cell activity in acute myocardial infarction. *Clin Exp Immunol.* 70(1): 209-16
133. Shibata M, Endo S, Inada K, Hiramori K (1997). Elevated plasma levels of interleukin-1 receptor antagonist and interleukin-10 in patients with acute myocardial infarction. *J Interferon Cytokine Res.* 17(3): 145-50
134. Lusis AJ (2000). Atherosclerosis. *Nature.* 407(6801): 233-41
135. Ross R (1999). Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 340: 115-26
136. Sullivan GW, Sarembock IJ, Linden J (2000). The role of inflammation in vascular disease. *J Leukoc Biol.* 67(5): 591-602
137. Watanabe T, Fan J (1998). Atherosclerosis and inflammation mononuclear cell recruitment and adhesion molecules with reference to the implication of ICAM-1/LFA-1 pathway in atherogenesis. *Int J Cardiol.* 66 Suppl 1: S45-S53
138. Wick G, Schett G, Amberger A, Kleindienst R, Xu Q (1995). Is atherosclerosis an immunologically mediated disease? *Immunol Today.* 16(1): 27-33

139. Jang Y, Lincoff M, Plow E, Topol EJ (1994). Cell adhesion molecules in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 24(7): 1591-601
140. Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, Pigott R, Kyriakopoulos A (1993). The expression of the adhesion molecules ICA-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol.* 171(3): 223-9
141. O'Brien KD, Allen MD, McDonald TO, Harlan JM, Benjamin CD (1993). Vascular cell adhesion molecule-1 is expressed in human coronary atherosclerotic plaques. Implications for the mode of progression of advanced coronary atherosclerosis. *J Clin Invest.* 92(2): 945-51
142. Barath P, Fishbein MC, Cao J, Forrester JS (1990). Detection and localisation of tumor necrosis factor in human atheroma. *Am J Cardiol.* 65: 297-302
143. Libby P, Sukhova G, Lee RT, Liao JK (1997). Molecular biology of atherosclerosis. *Int J Cardiol.* 62(Suppl 2): S23-S29
144. Hansson GK (1993). Immune and inflammatory mechanisms in the development of atherosclerosis. *Br Heart J.* 69(Suppl 1): S38-S41
145. Nicoletti A, Caligiuri G, Hansson GK (2000). Immunomodulation of atherosclerosis: myth and reality. *J Intern Med.* 247(3): 397-405
146. Dzau VJ, Gibbons GH, Mann M, Braun-Dullaeus R (1997). Future horizons in cardiovascular molecular therapeutics. *Am J Cardiol.* 80(9A): 331-91
147. Kinlay S, Ganz P (1997). Role of endothelial dysfunction in coronary artery disease and implications for therapy. *Am J Cardiol.* 80(9A): 11I-16I
148. Salonen JT, Yla-Hertuala S, Yamamoto R, Witztum JL (1992). Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet.* 339(8798): 883-7
149. Mattila KJ, Valtonen VV, Nieminen MS, Asikeinen S (1998). Role of infection as a risk factor for atherosclerosis, myocardial infarction, and stroke. *Clin Infect Dis.* 26(3): 719-34
150. Gupta S, Camm AJ (1997). Chronic infection in the etiology of atherosclerosis – the case for Chlamydia pneumoniae. *Clin Cardiol.* 20(10): 829-36
151. Danesh J, Collins R, Peto R (1997). Chronic infections and coronary heart disease: is there a link? *Lancet.* 350: 430-36
152. Halme S, Syrjala H, Bloigu A, Saikku P, Surcel HM (1997). Lymphocyte responses to Chlamydia antigens in patients with coronary heart disease. *Eur Heart J.* 18(7): 1095-101
153. Miettinen H, Lehto S, Saikku P, Laakso M (1996). Association of Chlamydia pneumoniae and acute coronary heart disease events in non-insulin dependent diabetic and non-diabetic subjects in Finland. *Eur Heart J.* 17(5): 682-8

154. Mazzoli S, Tofani N, Fantini A, Vergassola R (1998). Chlamydia pneumoniae antibody response in patients with acute myocardial infarction and their follow-up. *Am Heart J.* 135(1): 15-20
155. Jackson LA, Campbell LA, Schmidt RA, Grayston JT (1997). Specificity of detection of Chlamydia pneumoniae in cardiovascular atheroma: evaluation of the innocent bystander hypothesis. *Am J Pathol.* 150(5): 1785-90
156. Muhlestein JB, Hammond EH, Carlquist JF, Radicke E, Anderson JL (1996). Increased incidence of Chlamydia species within the coronary arteries of patients with symptomatic atherosclerotic versus other forms of cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol.* 27(7): 1555-61
157. Becker AE, de Boer OJ, van der Wal AC (2001). The role of inflammation in coronary artery disease. *Annu Rev Med.* 52: 289-97
158. Gurfinkel E, Bozovich G, Beck E, Testa E, Mautner B (1999). Treatment with the antibiotic roxithromycin in patients with acute non-Q-wave coronary syndromes. The final report of the ROXIS study. *Eur Heart J.* 20(2): 121-7
159. Gupta S, Leatham EW, Carrington D, Mendall MA, Camm AJ (1997). Elevated Chlamydia pneumoniae antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. *Circulation.* 96(2): 404-7
160. Kalayoglu MV, Byrne GI (1998). A Chlamydia pneumoniae component that induces macrophage foam cell formation is chlamydial lipopolysaccharide. *Infect Immun.* 66(11): 5067-72
161. Heinemann M, Susa M, Simnacher U, Marre R, Essig A (1996). Growth of Chlamydia pneumoniae induces cytokine production and expression of CD14 in a human monocytic cell line. *Infect Immun.* 64(11): 4872-5
162. Bachmair K, Neu N, de la Maza LM, Penninger JM (1999). Chlamydia infections and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science.* 283(5406): 1238-9
163. Mazzone A, De Servi S, Mazzuchelli I, Ricevuti G (1997). Increased expression of CD11b/CD18 on phagocytes in ischemic disease: a bridge between inflammation and coagulation. *Eur J Clin Invest.* 27(8): 648-52
164. Zeitler H, Ko Y, Zimmermann C, Vetter H (1997). Elevated serum concentrations of soluble adhesion molecules in coronary artery disease and acute myocardial infarction. *Eur J Med.* 2(9): 389-94
165. Hwang SJ, Ballantyne CM, Sharrett AR, Boerwinkle E (1997). Circulating adhesion molecules VCAM-1, ICAM-1, and E-selectin in carotid atherosclerosis and incident coronary heart disease cases: the Artherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Circulation.* 96(12): 4219-25
166. Haught WH, Mansour M, Rothlein R, Kishimoto TK, Metha JL (1996). Alterations in circulating intercellular adhesion molecule-1 and L-selectin: further evidence for chronic inflammation in ischemic heart disease. *Am Heart J.* 132(1Pt1): 1-8

167. Abdelmouttaleb I, Danchin N, Ilardo C, Gueant JL (1999). C-reactive protein and coronary artery disease: additional evidence of the implication of an inflammatory process in acute coronary syndromes. *Am Heart J.* 137(2):346-51
168. Anderson JL, Carlquist JF, Muhlestein JB, Elmer SP (1998). Evaluation of C-reactive protein, an inflammatory marker, and infectious serology as risk factors for coronary artery disease and myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 32(1):35-41
169. Fyfe AI, Rothenberg LS, DeBeer FC, Lusis AJ (1997). Association between serum amyloid A proteins and coronary artery disease: evidence from two distinct arteriosclerotic processes. *Circulation.* 96(9): 2914-9
170. Arbustini E, Grasso M, Diegoli M, De Servi S, Mussini A (1991). Coronary atherosclerotic plaques with and without thrombus in ischemic heart syndromes: a morphologic, immunohistochemical, and biochemical study. *Am J Cardiol.* 68(7): 36B-50B
171. Van der Wal AC, Becker AE, van der Loos CM, Das PK (1994). Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaque is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation.* 89(1): 36-44
172. Leatham EW, Bath PM, Tooze JA, Camm AJ (1995). Increased monocyte tissue factor expression in coronary disease. *Br Heart J.* 73(1): 10-3
173. Schroeder AP, Falk E (1996). Pathophysiology and inflammatory aspects of plaque rupture. *Cardiol Clin.* 14(2): 211-20
174. Kaartinen M, Penttila A, Kovanen PT (1996). Mast cells in rupture-prone areas of human coronary atheromas produce and store TNF-alpha. *Circulation.* 94(11): 2787-92
175. Boyle JJ (1997). Association of coronary plaque rupture and atherosclerotic inflammation. *J Pathol.* 181(1): 93-9
176. Tenaglia AN, Buda AJ, Wilkins RG, Lefer DJ (1997). Levels of expression of P-selectin, E-selectin, and intercellular adhesion molecule-1 in coronary atherectomy specimens from patients with stable and unstable angina pectoris. *Am J Cardiol.* 79(6): 742-7
177. Gurfinkel E, Bozovich G (1998). Chlamydia pneumoniae: inflammation and instability of the atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis.* 140(Suppl 1): S31-S5
178. Gurfinkel EP, Rozlosnik J, Bozovich G, Mautner B (1997). IgG antibodies to chlamydial and mycoplasma infection plus C-reactive protein related to poor outcome in unstable angina. *Arch Inst Cardiol Mex.* 67(6): 462-8
179. Shah PK (2000). Plaque disruption and thrombosis: potential role of inflammation and infection. *Cardiol Rev.* 8(1): 31-9
180. Azar RH, Waters DD (1996). The inflammatory etiology of unstable angina. *Am Heart J.* 132: 1101-6

181. Mazzone A, De Servi S, Ricevuti G, Specchia G (1993). Increased expression of neutrophil and monocyte adhesion molecules in unstable coronary artery disease. *Circulation*. 88(2): 358-63
182. De Servi S, Mazzone A, Ricevuti G, Mazzuchelli I, Specchia G (1996). Expression of neutrophil and monocyte CD11b/CD18 adhesion molecules at different sites of the coronary tree in unstable angina pectoris. *Am J Cardiol*. 78(5): 564-8
183. Dinerman JL, Metha JL, Saldeen TG, Davidson A (1990). Increased neutrophil elastase release in unstable angina pectoris and acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 15(7): 1559-63
184. Kaikita K, Ogawa H, Yasue H, Kamijikkoku S (1997). Increased plasma intercellular adhesion molecule-1 levels in patients with acute myocardial infarction. *Jpn Circ J*. 61(9): 741-8
185. Kaikita K, Ogawa H, Yasue H, Okumura K (1995). Soluble P-selectin is released into the coronary circulation after coronary spasm. *Circulation*. 92(7): 1726-30
186. Shyu KG, Chang H, Lin CC, Kuan P (1996). Circulating intercellular adhesion molecule-1 and E-selectin in patients with acute coronary syndrome. *Chest*. 109(6): 1627-30
187. Ghaisas NK, Shahi CN, Foley B, Walsh M (1997). Elevated levels of circulating soluble adhesion molecules in peripheral blood of patients with unstable angina. *Am J Cardiol*. 80(5): 617-9
188. Ikeda H, Takajo Y, Ichiki K, Ueno T, Imaizumi T (1995). Increased soluble form of P-selectin in patients with unstable angina. *Circulation*. 92(7): 1693-6
189. Miwa K, Igawa A, Inoue H (1997). Soluble E-selectin, ICAM-1 and VCAM-1 levels in systemic and coronary circulation in patients with variant angina. *Cardiovasc Res*. 36(1): 37-44
190. Serneri GG, Abbate R, Gori AM, Gensini GF (1992). Transient intermittent lymphocyte activation is responsible for the instability of angina. *Circulation*. 86(3):790-7
191. Jude B, Aragou B, McFadden EP, Lepelley P, Asseman P (1994). Evidence for time-dependent activation of monocytes in the systemic circulation in unstable angina, but not in acute myocardial infarction or in stable angina. *Circulation* 90(4): 1662-8
192. Biasucci LM, Ciliberto G, Liuzzo G, Quaranta G (1995). Elevated serum concentrations of interleukin-6 in unstable angina (abstract). *Circulation*. 92(Suppl I): I-664
193. Basaran Y, Babacan KF, Ener B, Ozdemir M (1993). Serum tumor necrosis factor levels in acute myocardial infarction and unstable angina pectoris. *Angiology*. 44(4): 332-7
194. Yasuda M, Takeuchi K, Hiruma M, Tamerius JD (1990). The complement system in ischemic heart disease. *Circulation*. 81: 156-63

195. Biasucci LM, Liuzzo G, Grillo RL, Caligiuri G, Maseri AD (1999). Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. *Circulation*. 99(7): 855-60
196. Berk BC, Weintraub WS, Alexander RW (1990). Elevation of C-reactive protein in "active" coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 65: 168-72
197. Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Maseri AD (1994). The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid a protein in severe unstable angina. *N Engl J Med*. 331(7): 417-24
198. Haverkate F, Thompson SG, Pyke SD, Gallimore JR, Pepys MB (1997). Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet*. 349(9050): 462-6
199. Jennings RB, Yellon DM (1992). Reperfusion injury – definitions and historical background. Raven Press, New York: Myocardial protection - the pathophysiology of reperfusion and reperfusion injury. (1): 1-11
200. Kloner RA, Przyklenk K (1992). Consequences of ischemia-reperfusion on the coronary microvasculature. Raven Press, New York: Myocardial protection - the pathophysiology of reperfusion and reperfusion injury. (5): 85-103
201. Carden DL, Granger DN (2000). Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury. *J Pathol*. 190(3): 255-66
202. Entmann ML, Smith CW (1994). Postreperfusion inflammation: a model for reaction to injury in cardiovascular disease. *Cardiovasc Res*. 28(9): 1301-11
203. Gumina RJ, Newman PJ, Kenny D, Gross GJ (1997). The leukocyte cell adhesion cascade and its role in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Basic Res Cardiol*. 92(4): 201-13
204. Hawkins HK, Entmann ML, Zu JY, Smith CW (1996). Acute inflammatory reaction after myocardial ischemic injury and reperfusion. Development and use of a neutrophil-specific antibody. *Am J Pathol*. 148(6): 1957-69
205. Thiagarajan RR, Winn RK, Harlan JM (1997). The role of leukocyte and endothelial adhesion molecules in ischemia-reperfusion injury. *Thromb Haemost*. 78(1): 310-4
206. Williams FM (1996). Neutrophils and myocardial reperfusion injury. *Pharmacol Ther*. 72(1): 1-12
207. Roberts R, DeMello V, Sobel BE (1976). Deleterious effects of methylprednisolone in patients with myocardial infarction. *Circulation*. 53(Suppl 3): I204-6
208. Cornejo CJ, Winn RK, Harlan JM (1997). Anti-adhesion therapy. *Adv Pharmacol*. 39: 99-142

209. Ma XL, Tsao PS, Lefer AM (1991). Antibody to CD18 exerts endothelial and cardiac protective effects in myocardial ischemia and reperfusion. *J Clin Invest.* 88(4): 1237-43
210. Ma XL, Weyrich AS, Lefer DJ, Buerke M, Lefer AM (1993). Monoclonal Antibody to L-selectin attenuates neutrophil accumulation and protects ischemic reperfused cat myocardium. *Circulation.* 88: 649-58
211. Ma XL, Lefer DJ, Lefer AM, Rothlein R (1992). Coronary endothelial and cardiac protective effects of a monoclonal antibody to intercellular adhesion molecule-1 in myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation.* 86: 937-46
212. Simpson PJ, Todd RF, Fantone JC, Lucchesi BR (1988). Reduction of experimental canine reperfusion injury by a monoklonal antibody (anti-CD11b) that inhibits leukocyte adhesion. *J Clin Invest.* 81(2): 624-9
213. Tanaka M, Brooks SE, Richard VJ, Reimer KA (1993). Effect of anti-CD18 antibody on myocardial neutrophil accumulation and infarct size after ischemia and reperfusion in dogs. *Circulation.* 87: 526-35
214. Weyrich AS, Ma XL, Lefer DJ, Albertine KH, Lefer AM (1993). In vivo neutralization of P-selectin protects feline heart and endothelium in myocardial ischemia and reperfusion injury. *J Clin Invest.* 91(6): 2620-9
215. Byrne JG, Appleyard RF, Lee CC, Couper GS, Cohn LH (1992). Controlled reperfusion of the regionally ischemic myocardium with leukocyte-depleted blood reduces stunning, the no-reflow phenomenon, and infarct size. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 103: 66-72
216. Zhao ZQ, Lefer DJ, Sato H, Vinten-Johansen J (1997). Monoclonal antibody to ICAM-1 preserves postischemic blood flow and reduces infarct size after ischemia and reperfusion in rabbit. *J Leukoc Biol.* 62(3): 292-300
217. Horwitz LD, Kaufman D, Kong Y (1997). An antibody to leukocyte integrins attenuates coronary vascular injury due to ischemia and reperfusion in dogs. *Am J Physiol.* 272(2 Pt 2): H618-24
218. Arai M, Lefer DJ, So T, Becker LC (1996). An anti-CD16 antibody limits infarct size and preserves left ventricular function in dogs with ischemia and 48-hour reperfusion. *J Am Coll Cardiol.* 27(5): 1278-85
219. Buerke M, Weyrich AS, Murohara T, Lefer AM (1994). Humanized monoclonal antibody DREG-200 directed against L-selectin protects in feline myocardial reperfusion injury. *J Pharmacol Exp Ther.* 271(1): 134-42
220. Ioculano M, Squadrito F, Altavilla D, Caputi AP (1994). Antibodies against intercellular adhesion molecule 1 protect against myocardial ischemia-reperfusion injury in rat. *Eur J Pharmacol.* 264(2): 143-9
221. Lucchesi BR (1990). Myocardial ischemia, reperfusion, and free radical injury. *Am J Cardiol.* 65: 14I-23I

222. Lefer AM, Weyrich AS, Buerke M (1994). Role of selectins, a new family of adhesion molecules, in ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res.* 28(3): 289-94
223. Nose PS (1993). Cytokines and reperfusion injury. *J Card Surg.* 8(Suppl 1): 305-8
224. Weyrich AS, Buerke M, Albertine KH, Lefer AM (1995). Time course of coronary vascular endothelial adhesion molecule expression during reperfusion of the ischemic feline myocardium. *J Leucoc Biol.* 57(1): 45-55
225. Shen I, Verrier ED (1994). Expression of E-selectin on coronary endothelium after myocardial ischemia and reperfusion. *J Card Surg.* 9(3 Suppl): 437-41
226. Kukielka GL, Hawkins HK, Michael L, Entmann ML, Anderson DC (1993). Regulation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in ischemic and reperfused canine myocardium. *J Clin Invest.* 92(3): 1504-16
227. Youker K, Smth CW, Anderson DC, Entmann ML (1992). Neutrophil adherence to isolated adult cardiac myocytes. Induction by cardiac lymph collected during ischemia and reperfusion. *J Clin Invest.* 89(2): 602-9
228. Pudil R, Pidrman V, Krejsek J, Drahosova M (1996). The effect of reperfusion on plasma tumor necrosis factor-alpha and C-reactive protein levels in the course of acute myocardial infarction. *Acta Medica Hradec Kralove.* 39(4): 149-53
229. Latini R, Bianchi M, Correale E, Shapiro L (1994). Cytokines in acute myocardial infarction: selective increase in circulating tumor necrosis factor, its soluble receptor, and interleukin-1 receptor antagonist. *J Cardiovasc Pharmacol.* 23(1): 1-6
230. Neumann FJ, Ott I, Gawaz M, Schomig A (1995). Cardiac release of cytokines and inflammatory responses in acute myocardial infarction. *Circulation.* 92(4): 748-55
231. Miyao Y, Yasue H, Ogawa H, Morita E (1993). Elevated plasma interleukin-6 levels in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 126(6): 1299-304
232. Ikeda U, Ohkawa F, Seino Y, Shimeda K (1992). Serum interleukin-6 levels become elevated in acute myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol.* 24(6): 579-84
233. Tashiro H, Shimokawa H, Yamamoto K, Takeshita A (1995). Monocyte-related cytokines in acute myocardial infarction. *Am Heart J.* 130(3 Pt 1): 446-52
234. Maury CP, Teppo AM (1989). Circulating tumor necrosis factor-alpha in myocardial infarction. *J Intern Med.* 225(5): 333-6
235. Meisel SR, Shapiro H, Radnay J, Neumann Y, David D (1998). Increased expression of neutrophil and monocyte adhesion molecules LFA-1 and Mac-1 and their ligand ICAM-1 and VLA-4 throughout the acute phase of myocardial infarction: possible implications for leukocyte aggregation and microvascular plugging. *J Am Coll Cardiol.* 31(1): 120-5
236. Siminiak T, Dye JF, Egdell RM, Sheridan DJ (1997). The release of soluble adhesion molecules ICAM-1 and E-selectin after acute myocardial infarction and following coronary angioplasty. *Int J Cardiol.* 61(2): 113-8

237. Pellegatta F, Pizzetti I, Radaelli A, Chierchia SL (1997). Soluble E-selectin and intercellular adhesion molecule-1 plasma levels increase during acute myocardial infarction. *J Cardiovasc Pharmacol.* 30(4): 455-60
238. Li YH, Teng JK, Tsai WC, Chen JH (1997). Elevation of soluble adhesion molecules is associated with the severity of myocardial damage in acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 80(9): 1218-21
239. Sakurai S, Inoue A, Koh CS, Yanagisawa N (1997). Soluble forms of selectins in blood of patients with acute myocardial infarction and coronary intervention. *Vasc Med.* 2(3): 163-8
240. Shimomura H, Nishiyama K, Yasue H (1998). Serial changes in plasma levels of soluble P-selectin in patients with acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 81(4): 397-400
241. Ikeda H, Nakayama H, Oda T, Toshima H (1994). Soluble form of P-selectin in patients with acute myocardial infarction. *Coron Artery Dis.* 5(6): 515-8
242. Frangogiannis NG, Mendoza LH, Lindsey ML, Entmann ML (2000). IL-10 is induced in the reperfused myocardium and may modulate the reaction to injury. *J Immunol.* 165(5): 2798-808
243. Yang Z, Zingarelli B, Szabo C (2000). Crucial role of endogenous interleukin-10 production in myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation.* 101(9): 1019-26
244. Hayward R, Nossuli TO, Scalia R, Lefer AM (1997). Cardioprotective effects of interleukin-10 in murine myocardial ischemia-reperfusion. *Eur J Pharmacol.* 334(2-3): 157-63
245. Zaaks SM, Liebson PR, Calvin JE, Klein LW (1999). Unstable angina and non-Q-wave myocardial infarction: does the clinical diagnosis have therapeutic implications? *J Am Coll Cardiol.* 33(1):107-18
246. Rentrop KP (2000). Thrombi in acute coronary syndromes: revisited and revised. *Circulation* 101(13): 1619-26
247. Fuster V, Chesebro JH (1986). Mechanisms of unstable angina. *N Engl J Med.* 315(16): 1023-5
248. Poole-Wilson PA, Warnes CA (1985). Thrombosis in myocardial infarction. *Lancet.* 1(8431): 749-50
249. Davies MJ, Thomas AC (1985). Plaque fissuring – the cause of acute myocardial infarction, sudden ischemic death, and crescendo angina. *Br Heart J.* 53(4): 363-73
250. Braunwald E, Jones RH, Mark DB, Fuster V (1994). Diagnosing and managing unstable angina. Agency for Health Care Policy and Research. *Circulation.* 90(1): 613-22

251. Stibenz D, Buhner C (1994). Down-regulation of L-selectin surface expression by various leukocyte isolation procedures. *Scand J Immunol.* 39(4): 59-63
252. Fearon DT, Collins LA (1983). Increased expression of C3b receptors on polymorphonuclear leukocytes induced by chemotactic factors and by purification procedures. *J Immunol.* 130(1): 370-5
253. Forsyth KD, Levinsky RJ (1990). Preparative procedures of cooling and re-warming increase leukocyte integrin expression and function on neutrophils. *J Immunol Methods.* 128(2): 159-63
254. Macey MG, Jiang XP, Veys P, McCarthy D, Newland AC (1992). Expression of functional antigens on neutrophils. Effects of preparation. *J Immunol Methods.* 149(1): 37-42
255. Terashima T, English D, Hogg JC, Van Eeden SF (1998). Release of polymorphonuclear leukocytes from the bone marrow by interleukin-8. *Blood.* 92(3): 1062-9
256. Villanueva JL, Solana R, Alonso MC, Pena J (1990). Changes in the expression of HLA-class II antigens on peripheral blood monocytes from aged humans. *Dis Markers.* 8(2): 85-91
257. Hasper D, Hummel M, Kleber FX, Reindl I, Volk HD (1998). Systemic inflammation in patients with heart failure. *Eur Heart J.* 19(5): 761-5
258. Kassirer M, Zeltser D, Gluzmann B, Berliner AS (1999). The appearance of L-selectin (low) polymorphonuclear leukocytes in the circulating pool of peripheral blood during myocardial infarction correlates with neutrophilia and with the size of the infarct. *Clin Cardiol.* 22(11): 721-6
259. Lund-Johansen F, Terstappen LW (1993). Differential surface expression of cell adhesion molecules during granulocyte maturation. *J Leukoc Biol.* 54(1): 47-55
260. Van Eden S, Miyagashima R, Haley L, Hogg JC (1995). L-selectin expression increases on peripheral blood polymorphonuclear leukocytes during active marrow release. *Am J Respir Crit Care Med.* 151(2 Pt 1): 500-7
261. Lawrence E, Van Eden S, English D, Hogg JC (1996). Polymorphonuclear leukocyte (PMN) migration in streptokokkal pneumonia: comparison of older PMN with those recently released from the marrow. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 14(3): 217-24
262. Jilma B, Voltmann J, Albinni S, Wagner OF (1997). Dexamethasone down-regulates the expression of L-selectin on the surface of neutrophils and lymphocytes in humans. *Clin Pharmacol Ther.* 62(5): 562-8
263. Hubbard AK, Rothlein R (2000). Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression and cell signaling cascades. *Free Radic Biol Med.* 28(9): 1379-86

264. Mandi Y, Nagy Z, Ocsovski I, Farkas G (1997). Effects of tumor necrosis factor and pentoxifylline on ICAM-1-expression on polymorphonuclear granulocytes. *Int Arch Allergy Immunol.* 114(4): 329-35
265. Most J, Schwaeble W, Drach J, Sommerauer A, Dierich MP (1992). Regulation of the expression of ICAM-1 on human monocytes and monocytic tumor cell lines. *J Immunol.* 148(6): 1635-42
266. Song S, Ling-Hu H, Roebuck KA, Finnegan A (1997). Interleukin-10 inhibits interferon-gamma-induced intercellular adhesion molecule-1 gene transcription in human monocytes. *Blood.* 89(12): 4461-9
267. Rothlein R, Mainolfi EA, Czajkowski M, Marlin SD (1991). A form of circulating ICAM-1 in human serum. *J Immunol.* 147(11): 3788-93
268. Sano Y, Hirai S, Katayama M, Kato I (1994). Immunoenzymometric analysis for expression and shedding of intercellular adhesion molecule-1 on human endothelial cells stimulated with cytokines or lipopolysaccharide. *Mol Cell Biochem.* 139(2): 123-30
269. Wakatsuki T, Kimura K, Shinomiya N, Yamamoto M (1995). A distinct mRNA encoding a soluble form of ICAM-1 molecule expressed in human tissues. *Cell Adhes Commun.* 3(4): 283-92
270. Kawabata K, Nagake Y, Shikata K, Makino H, Ota Z (1995). Changes in soluble ICAM-1 level during hemodialysis. *Nippon Jinzo Gakkai Shi.* 37(11): 632-8
271. Sakurai S, Inoue A, Koh CS, Owa M, Yanagisawa N (1997). Soluble form of selectins in blood of patients with acute myocardial infarction and coronary intervention. *Vasc Med.* 2(3): 163-8
272. Siminiak T, Smielecki J, Rzezniczak J, Wysocki H (1999). The effects of dipyridamole stress test on plasma levels of soluble adhesion molecules intracellular adhesion molecule-1, vascular cell adhesion molecule-1, E-selectin and L-selectin in patients with ischemic heart disease and patients with syndrome X. *Coron Artery Dis.* 10(4): 235-40
273. Schleiffenbaum B, Spertini O, Tedder TF (1992). Soluble L-selectin is present in human plasma at high levels and retains functional activity. *J Cell Biol.* 119(1): 229-38
274. Munro JM, Lo SK, Corless C, Robertson MJ, Bevilacqua MP (1992). Expression of sialyl-Lewis X, an E-selectin ligand, in inflammation, immune processes, and lymphoid tissues. *Am J Pathol.* 141(6): 1397-408
275. Kirveskari J, Paavonen T, Hayry P, Renkonen R (2000). De novo induction of endothelial L-selectin ligands during kidney allograft rejection. *J Am Soc Nephrol.* 11(12): 2358-65
276. Seko Y, Enokawa Y, Tamatani T, Kannagi R, Yazaki Y (1996). Expression of sialyl Lewis (X) in rat heart with ischemia/reperfusion and reduction of reperfusion injury by a monoclonal antibody against sialyl Lewis. *J Pathol.* 180(3): 305-10

277. Seko Y, Enokawa Y, Tamatani T, Kannagi R, Yazaki Y (1996). Induction of sialyl Lewis(X) on the surface of cultured rat vascular endothelial cells and cardiac myocytes by hypoxia/reoxygenation in vitro. *J Pathol.* 180(3): 300-4
278. De Graaf TW, Van der Stelt ME, Anbergen MG, Van Dijk W (1993). Inflammation-induced expression of sialyl Lewis X-containing glycan structures on alpha 1-acid glycoprotein (orosomucoid) in human sera. *J Exp Med.* 177(3): 657-66
279. Van Dijk W, Brinkmann – van der Linden EC, Havenaar EC (1998). Occurrence and possible function of inflammation –induced expression of sialyl Lewis-x on acute-phase proteins. *Adv Exp Med Biol.* 435: 145-50
280. Gurbel PA, Serebruany-VL (1997). Myths and realities of P-selectin plasma levels in patients with acute myocardial infarction. *Thromb Res.* 88(3): 343-44
281. Dunlop LC, Skinner MP, Bendall LJ, Favalaro EJ, Berndt MC (1992). Characterisation of GMP-140 (P-selectin) as a circulating plasma protein. *J Exp Med.* 175(4): 1147-50
282. Fijnheer R, Frijns CJ, Korteweg J, Rommes H, Nieuwenhuis HK (1997). The origin of P-selectin as a circulating plasma protein. *Thromb Haemostas* 77(6): 1081-5
283. Semenov AV, Romanov YA, Mazurov AV (1999). Production of soluble P-selectin by platelets and endothelial cells. *Biochemistry.* 64(11): 1326-35
284. Blann AD, Lip GY, Beevers DG, McCollum CN (1997). Soluble P-selectin in atherosclerosis: a comparison with endothelial cell and platelet markers. *Thromb Haemost.* 77(6): 1077-80
285. Andre P, Hartwell D, Hrachovinova I, Saffaripour S, Wagner DD (2000). Pro-coagulant state resulting from high levels of soluble P-selectin in blood. *Proc Natl Acad Sci USA.* 97(25): 13835-40
286. Smith ME, Thomas JA (1990). Cellular expression of lymphocyte function associated antigens and the intercellular adhesion molecule-1 in normal tissue. *J Clin Pathol.* 43(11): 893-900
287. Hoffmann JC, Bahr MJ, Tietge UJ, Manns MP (1996). Detection of a soluble form of LFA-3 in patients with chronic liver disease. *J Hepatol.* 25(4): 465-73
288. Kirby AC, Cahen P, Porter SR, Olsen I (2000). Soluble and cell-associated forms of the adhesion molecule LFA-3 (CD58) are differentially regulated by inflammatory cytokines. *Cell Adhes Commun.* 7(6): 453-64
289. Hoffmann JC, Goke MN, Evers J, Manns MP (1996). Reduced serum levels of a soluble form of the human adhesion receptor CD58 (LFA-3) in patients with inflammatory bowel disease. *Z Gastroenterol.* 34(9): 522-7
290. Albert-Wolf M, Meuer SC, Wallich R (1992). Immunomodulatory properties of soluble recombinant human CD58 (LFA-3) molecules. *Dev Biol Stand.* 77: 87-92

291. McKenzie SE, Schreiber AD (1994). Biological advances and clinical applications of Fc receptors for IgG. *Curr Opin Hematol.* 1(1): 45-52
292. Scott CS (1979). Maturation-linked expression of the Fc (IgG) receptor on developing human bone marrow and peripheral blood granulocytes. *Clin Exp Immunol.* 38(2): 300-5
293. Hubl W, Andert S, Thum G, Ortner S, Bayer PM (1997). Value of neutrophil CD16 expression for detection of left shift and acute-phase response. *Am J Clin Pathol.* 107(2): 187-96
294. Fujimoto H, Sakata T, Hamaguchi Y, Houwen B (2000). Flow cytometric method for enumeration and classification of reactive immature granulocyte populations. *Cytometry.* 42(6): 371-8
295. Kerst JM, de Haas M, van der Schoot CE, van Oers RH (1993). Recombinant granulocyte colony-stimulating factor administration to healthy volunteers: induction of immunophenotypically and functionally altered neutrophils via an effect on myeloid progenitor cells. *Blood.* 82(11): 3265-72
296. Krause PJ, Todd MB, Hancock WW, Pastuszak WT, Kosciol CM (1990). The role of cellular maturation in neutrophil heterogeneity. *Blood.* 76(8): 1639-46
297. Spiekermann K, Roesler J, Elsner J, Emmendoerffer A (1996). Identification of the antigen recognized by the monoclonal antibody 31D8. *Exp Haematol.* 24(3): 453-8
298. Nakatani K, Takeshita S, Tsujimoto H, Sekine I (1999). Regulation of the expression of Fc gamma receptor on circulating neutrophils and monocytes in Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol.* 117(2): 418-22
299. Herra CM, Keane CT, Whelan A (1996). Increased expression of Fc gamma receptors on neutrophils and monocytes may reflect ongoing bacterial infection. *J Med Microbiol.* 44(2): 135-40
300. Liuzzo G, Vallejo AN, Kopecky SL, Frye RL, Holmes DR, Goronzy JJ, Weyand CM (2001). Molecular fingerprint of interferon-gamma signaling in unstable angina. *Circulation.* 103(11): 1509-14
301. Lopes-Virella MF, Binzafar N, Rackley S, Virella G (1997). The uptake of LDL-IC by human macrophages: predominant involvement of the Fc gamma RI receptor. *Atherosclerosis.* 135(2): 161-70
302. Esfahani M, Bigler RD, Alfieri JL, Gressen E, Scerbo L (1993). Lipoproteins upregulate high affinity Fc receptors in human monocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 191(2): 610-6
303. Antal-Szalmas P (2000). Evaluation of CD14 in host defence. *Eur J Clin Invest.* 30(2): 167-79

304. Schmitz G, Herr AS, Rothe G (1998). T-lymphocytes and monocytes in atherogenesis. *Herz*. 23(3): 168-77
305. Fingerle-Rowson G, Auers J, Kreuzer E, Labeta M, Blumenstein M (1998). Down-regulation of surface monocyte lipopolysaccharide-receptor CD14 in patients on cardiopulmonary bypass undergoing aorta-coronary bypass operation. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 115(5): 1172-8
306. Heinzelmann M, Mencer-Jones M, Cheadle WG, Polk HC (1996). CD14 expression in injured patients correlates with outcome. *Ann Surg*. 224(1): 91-6
307. Zeisberger E, Roth J (1998). Tolerance to pyrogens. *Ann N Y Acad Sci*. 856: 116-31
308. Labeta MO, Durieux JJ, Fernandez N, Wijdenes J, Herrmann R (1993). CD14 and tolerance to lipopolysaccharide: biochemical and functional analysis. *Immunology*. 80(3): 415-23
309. Choi YH, Lee WH, Lee Y, Kim JH, Lee SY, Park JE (2000). Correlation between monocyte and T-lymphocyte activation markers in patients with acute coronary syndrome. *Jpn Heart J*. 41(5): 605-15
310. Shimada K, Watanabe Y, Mokuno H, Yamaguchi H (2000). Common polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene is associated with acute myocardial infarction in Japanese men. *Am J Cardiol*. 86(6): 682-4
311. Hubacek JA, Rothe G, Skodova Z, Schmitz G (1999). C(-260)T polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene as a risk factor for myocardial infarction. *Circulation*. 99(25): 3218-20
312. Zee RY, Lindpainter K, Struk B, Hennekens CH, Ridker PM (2001). A prospective evaluation of the CD14 C(-260)T gene polymorphism and the risk of myocardial infarction. *Atherosclerosis*. 154(3): 699-702
313. Pasqui AL, Di Renzo M, Bova G, Auteri A (2003). T cell activation and enhanced apoptosis in non-ST elevation myocardial infarction. *Clin Exp Med*. 3(1): 37-44
314. Spagnoli LG, Bonanno E, Mauriello A, Palmieri G, Crea F (2002). Multicentric inflammation in epicardial coronary arteries of patients dying of acute myocardial infarction. *J Am Coll Card*. 40(9): 1579-88
315. Ren G, Dewald O, Frangogiannis NG (2003). Inflammatory mechanisms in myocardial infarction. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 2(3): 242-56
316. Mizia-Stec K, Gasior Z, Janowska J, Kobielski-Gembala I (2003). Serum tumor necrosis factor-alpha and interleukin-10 activation in stable angine and acute coronary syndromes. *Coron Artery Dis*. 14(6): 431-8
317. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, Zeiher AM; CAPTURE Study investigators (2003). Serum level of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 107(16): 2109-14

318. Anguera I, Miranda-Guardiola F, Bosch X, Sanz G (2002). Elevation of serum levels of the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 and decreased risk of coronary events in patients with unstable angina. *Am Heart J.* 144(5): 8811-7
319. Frangiannis NG, Smith CW, Entmann ML (2002). The inflammatory response in myocardial infarction (2002). *Cardiovasc Res.* 53(1): 31-47

Eidesstattliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, daß ich die vorliegende Dissertation selbständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt habe.

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

Ich erkläre, daß ich bisher kein Promotionsverfahren erfolglos beendet habe und dass eine Aberkennung eines bereits erworbenen Doktorgrades nicht vorliegt.

01.10. 2005

Hilmar Kleinau

Lebenslauf

Hilmar Kleinau, geb. 28.02.1968 in Berlin.

Schulbildung:

1974-1982 Polytechnische Oberschule, Berlin
 1982-1986 Mathematik-Spezialschule, Berlin
 1986 Abitur

1986-1989 Armee

Hochschulbildung:

1989 Beginn des Medizinstudiums, HU Berlin
 1991 Physikum
 1992 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 1995 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
 1996 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

Weiterbildung:

1996-1998 Arzt im Praktikum, I. Innere Abteilung (Prof. Wagner), KH Neukölln, Berlin
 1998-1999 Assistenzarzt, Medizinische Klinik I (Prof. Hanrath), RWTH Aachen
 seit 1999 Assistenzarzt, I. Innere Abteilung (Prof. Darius), KH Neukölln, Berlin
 2005 Facharzt für Innere Medizin, Zusatzbezeichnung Rettungsmedizin

01.10.2005 Hilmar Kleinau

Danksagung

Mein herzlicher Dank gilt allen, die mich bei der Durchführung dieser Arbeit unterstützt haben. Insbesondere danke ich

allen Patienten und Probanden, die sich zu einer Blutentnahme im Rahmen dieser Studie bereiterklärt haben,

Herrn Prof. Dr. Felix für die Überlassung des interessanten Themas, die Bereitstellung eines Forschungsstipendiums sowie die kontinuierliche Betreuung der gesamten Arbeit, begonnen bei der Patientenauswahl bis schließlich zur kritischen Diskussion der Ergebnisse,

Herrn PD Dr. Döcke für sein didaktisches Geschick bei meiner Einarbeitung in immunologische Arbeitstechniken, insbesondere in die Durchflußzytometrie, und deren fortlaufende Supervision,

den Kolleginnen und Kollegen des klinischen Labors des Instituts für Medizinische Immunologie für ihre freundliche Beratung und Unterstützung der experimentellen Arbeit, insbesondere Frau Neuhaus für die Erstellung der Differentialblutbilder und Frau Liebental für die Kortisol-Messung,

allen, die mich motivieren konnten, diese Arbeit zum Abschluß zu bringen.