

DISSERTATION

Optische Kohärenztomographie-basierte Evaluation kalzifizierter Plaques und deren Einfluss auf die inflammatorische Aktivität im akuten Koronarsyndrom

Optical coherence tomography-based assessment of coronary plaque calcium and its implications on inflammatory activity in acute coronary syndrome

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Gregor Nelles

Erstbetreuung: Prof. Dr. David M. Leistner

Datum der Promotion: 28.02.2025

## Inhaltsverzeichnis

Tabellenverzeichnis .....	iii
Abbildungsverzeichnis .....	iv
Abkürzungsverzeichnis .....	v
Zusammenfassung.....	1
1 Einleitung .....	4
1.1 Optische Kohärenztomographie (Funktionsweise und klinische Einsatzmöglichkeiten).....	4
1.2 Einsatz der OCT zur Charakterisierung vulnerabler Plaques - SCD als Hochrisiko-Merkmal.....	4
1.3 KHK und ACS als Folge eines chronischen Inflammationsprozesses.....	6
1.4 Translationale Fragestellung der vorliegenden Arbeit – SCD als mögliche Verbindung zwischen Inflammation und Plaqueinstabilität?.....	7
2 Methodik .....	8
2.1 Patient:innen.....	8
2.2 Probengewinn und Bilderfassung .....	10
2.3 Bildanalyse .....	10
2.4 Untersuchung des gewonnenen Biomaterials .....	14
2.4.1 Durchflusszytometrie .....	14
2.4.2 Zytokinmessung .....	15
2.4.3 Culprit ratio .....	16
2.5 Klinisches Follow-Up .....	16
2.6 Statistische Analyse.....	16
3 Ergebnisse .....	18
3.1 Studienpopulation .....	18
3.2 Basischarakteristika der Studienpopulation.....	18
3.2 OCT-Charakteristika .....	20

---

3.3	Immun-Profilng.....	21
3.4	Follow-Up.....	24
4	Diskussion.....	26
4.1	Zentrale Erkenntnisse .....	26
4.2	Studiendesign .....	26
4.3	SCD als prognostisch relevante Plaquestruktur .....	27
4.4	SCD und lokale Entzündungsaktivität.....	28
4.5	Inflammation und Biomechanik im Kontext der Plaquedestabilisierung – das OPTICO-ACS Studienregister .....	29
4.6	Translationale Perspektive – die OCT zur Optimierung der Risikostratifizierung und Sekundärprophylaxe.....	31
4.7	Stärken und Schwächen der Studie .....	33
5	Schlussfolgerungen .....	34
	Literaturverzeichnis .....	35
	Eidesstattliche Versicherung .....	42
	Anteilerklärung an der erfolgten Publikation.....	43
	Druckexemplar der Publikation .....	46
	Lebenslauf.....	54
	Komplette Publikationsliste .....	57
	Danksagung .....	59

## Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Ein- und Ausschlusskriterien der OPTICO-ACS Studie.....	9
Tabelle 2:	Definitionen der wichtigsten Plaquestrukturen.....	12
Tabelle 3:	Antikörper zur Herstellung des Übersichts-Panels.....	15
Tabelle 4:	Antikörper zur Herstellung des Monozyten-Panels.....	15
Tabelle 5:	Basischarakteristika der Studienpopulation.....	19
Tabelle 6:	OCT-Charakteristika der Studienpopulation.....	20
Tabelle 7:	Culprit ratios gemessener Zytokine und Zellen in der Studienpopulation.....	22
Tabelle 8:	Oberflächenexpression verschiedener Rezeptoren auf intermediären Monozyten in der Studienpopulation.....	24

## Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Exemplarischer OCT-Querschnitt einer SCD und einer Makrokalzifizierung.....	6
Abbildung 2:	Typischer OCT-Längsschnitt einer ACS-auslösenden CL.....	13
Abbildung 3:	Übersicht der wichtigsten Plaquestrukturen im Querschnitt.....	13
Abbildung 4:	Flussdiagramm der Studienpopulation.....	18
Abbildung 5:	Culprit ratios gemessener Zytokine und Zellen in der Studienpopulation.....	21
Abbildung 6:	Culprit ratios der Monozyten-Subklassen in der Studienpopulation.....	23
Abbildung 7:	Oberflächen-Expression von CD49d auf intermediären Monozyten in der Studienpopulation.....	23
Abbildung 8:	Kaplan-Meier Analyse des kombinierten Endpunktes in Patient:innen mit und ohne SCD.....	24

## Abkürzungsverzeichnis

KHK = Koronare Herzerkrankung

ACS = Akutes Koronarsyndrom

OCT = Optische Kohärenztomographie

SCD = spotty calcium deposit

LOK = lokal

SYS = systemisch

CL = culprit lesion

CR = culprit ratio

UE = unerwünschtes Ereignis

IL = Interleukin

TNF = Tumor Nekrose Faktor

IVUS = intravaskulärer Ultraschall

PCI = perkutane Koronarintervention

TCFA = thin cap fibroatheroma

AHA = American heart association

ECM = extrakollagene Matrix

MMP = metalloproteinase

CVC = Kardiovaskuläre kalzifizierende Zelle

OPTICO-ACS = OPTIcal-COherence Tomography in Acute Coronary Syndrome

eGFR = geschätzte glomeruläre Filtrationsrate

LV-EF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion

TIMI = Thrombolyse im Myokardinfarkt Fluss

CD = cluster of differentiation

MFI = mittlere Fluoreszenzintensität

MCP = macrophage chemoattractant protein

BFGF = basic fibroblastic growth factor

HR = hazard ratio

## Zusammenfassung

**Hintergrund:** Die koronare Herzerkrankung (KHK) und deren verheerendste Manifestation, das akute Koronarsyndrom (ACS) tragen einen großen Teil zur weltweiten Mortalität und Morbidität bei. Die optische Kohärenztomographie (OCT) ermöglicht eine hochauflösende Darstellung intravaskulärer Plaquestrukturen im ACS in vivo. Die OPTICO-ACS Studie ist eine OCT-basierte Beobachtungsstudie, in der Zusammenhänge zwischen bildmorphologischen Plaquestrukturen, klinischen Patientencharakteristika und lokalen Entzündungsmechanismen im ACS untersucht wurden. Die vorliegende Arbeit untersucht diese Zusammenhänge mit besonderem Fokus auf kleine, fleckige Kalzifizierungen (spotty calcium deposit – SCD), die ein Merkmal vulnerabler Plaques sind.

**Methoden:** Im Rahmen der Herzkatheteruntersuchung erfolgte bei 155 ACS-Patient:innen eine intrakoronare Bilderfassung der ACS-auslösenden Läsion (culprit lesion – CL) mittels OCT. Simultan wurde lokales Blut aus der unmittelbaren Plaqueumgebung (LOK) und der systemischen Blutzirkulation (SYS) entnommen. Nach Probengewinn erfolgte die Immuncharakterisierung der Proben mittels Durchflusszytometrie und Zytokinanalyse. Alle CLs wurden auf das Vorkommen vordefinierter Plaquestrukturen untersucht (insbesondere ACS-auslösende Pathophysiologie, Lipid- und Kalkanteile). Die Studienkohorte wurde in Patient:innen mit - und ohne SCD unterteilt (SCD+ und SCD-). SCD waren definiert als Kalzifizierungen mit einer maximalen Länge von 4 mm und einem maximalen Querschnittswinkel von 90°, während alle anderen Kalzifizierungen als Makrokalzifizierungen definiert wurden.

**Ergebnisse:** In der Patientenkohorte hatten 78,1 % aller Patient:innen eine oder mehrere Kalzifizierungen an der CL. 45,2% aller Patient:innen hatten mindestens eine SCD an der CL. SCD+ Läsionen waren assoziiert mit anderen Hochrisikostrukturen, wie z.B. Fibroatheromata mit dünner Kappe (86,6 vs. 72,8%;  $p < 0,05$ ). Es zeigte sich außerdem ein größerer Myokardschaden während des ACS (CK max 1485,1 vs. 1273,2 U/l;  $p < 0,05$ ) in SCD+ Patient:innen im Vergleich zu SCD- Patient:innen. Die Immuncharakterisierung ergab vor allem eine Anreicherung von Interleukin (IL)-8 (2,04 vs. 1,37;  $p < 0,05$ ), Tumor Nekrose Faktor (TNF)- $\alpha$  (1,17 vs. 1,06;  $p < 0,05$ ) und Neutrophilen (0,96 vs. 0,91;  $p < 0,05$ ) an SCD+ Läsionen. In SCD+ Patient:innen zeigte sich zudem nach 12 Monaten Nachbeobachtung ein erhöhtes Vorkommen unerwünschter, kardialer Ereignisse (16,4% vs. 5,3%;  $p < 0,05$ ) im Vergleich zu SCD- Patient:innen.

**Schlussfolgerung:** Im Rahmen der OPTICO-ACS Studie konnten spezifische, inflammatorische Vorgänge an der CL mit klar abzugrenzenden Plaquestrukturen assoziiert werden. In



der vorliegenden Sub-Analyse zeigte sich vor allem eine vermehrte Anreicherung von Zellen und Zytokinen der angeborenen Immunantwort in SCD+ Patient:innen, sowie eine schlechtere kardiovaskuläre Gesamtprognose.

## Abstract

**Background:** Coronary heart disease (CAD) and its most detrimental manifestation, acute coronary syndrome (ACS) contribute largely to mortality and morbidity worldwide. Optical coherence tomography (OCT) allows for detailed, intracoronary assessment of plaque structures in vivo and has a superior resolution compared to conventional imaging modalities. Within the observational OPTICO-ACS study the relationship between morphological plaque features in patients with ACS, clinical characteristics and local inflammatory mechanisms were investigated via a translational approach. Within the present sub-analysis these mechanisms were compared between patients with – and without spotty calcium deposits (SCD), which represent a high risk plaque feature at ACS-causing culprit lesions (CLs).

**Methods:** During angiography, 155 patients underwent intracoronary imaging via OCT. Simultaneously, local blood (LOC) directly from the culprit lesion (CL) as well as systemic blood (SYS) from the periphery were collected. After blood collection, samples were immediately analyzed by fluorescence assorted cell sorting and cytokine bead array technique. CLs were also analyzed via OCT for pre-defined plaque structures (especially ACS-causing pathophysiology, lipid- and calcium content). SCD were defined as within 4mm length and within a maximum angle of 90°. All other calcifications were defined as macrocalcifications. The study cohort was divided into patients with- and without SCD (SCD+ and SCD-). Inflammatory cells and cytokines were compared between the two groups.

**Results:** Within the present cohort, 78.1% of all patients had at least one calcification at the CL. 45.2% of all CL contained one or more SCD. SCD+ CLs were associated with other high-risk plaque features, as for example thin cap fibroatheroma (86.6 vs. 72.8%;  $p<0.05$ ). Moreover, SCD+ patients had a larger myocardial injury during ACS (peak creatinkinase 1485.1 U/l vs. 1273.2 U/l vs.;  $p<0.05$ ) Furthermore, CLs containing SCD were characterized by increased levels of interleukin (IL)-8 (2.04 vs. 1.37;  $p<0.05$ ), tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$  (1.17 vs. 1.06;  $p<0.05$ ) and neutrophils (0.96 vs. 0.91;  $p<0.05$ ) as opposed to SCD- lesions. Further, rates of major adverse cardiac events within 12 months of follow-up were increased in SCD+ patients as compared to SCD- patients (16.4 vs. 5.3%;  $p<0.05$ ).

**Conclusion:** Within the OPTICO-ACS study, multiple distinct inflammatory mechanisms were associated with specific plaque structures. Within the present sub-analysis, SCD were associated with a pro-inflammatory milieu at SCD+ CL, dominated by cells and cytokines of the innate immune system. Further, SCD+ patients had a worse cardiovascular prognosis.

# 1 Einleitung

## 1.1 Optische Kohärenztomographie (Funktionsweise und klinische Einsatzmöglichkeiten)

Die optische Kohärenztomographie (OCT) ist ein intravaskuläres Bildgebungsverfahren, das eine hochauflösende Darstellung der koronaren Gefäßwand im Querschnitt ermöglicht. Die OCT beruht auf der Messung von Penetration und Reflektion von Infrarotstrahlen an unterschiedlichen Gewebsschichten. Mit einer axialen Auflösung von bis zu 10 µm ist die OCT dem konventionellen, intravaskulären Ultraschall (IVUS) überlegen und ermöglicht eine zuverlässige Darstellung von Mikrostrukturen im Koronargefäß (1, 2).

Im klinischen Alltag nimmt die OCT einen zunehmenden Stellenwert bei der Durchführung (komplexer) Koronarinterventionen ein. Komplexe Läsionen mit z.B. hoher Kalklast können identifiziert und entsprechend vor der Stentimplantation mittels Atherektomie oder modifizierten Ballons optimiert werden (3). Zudem kann nach erfolgter Intervention das Ergebnis mittels OCT geprüft werden. So können z.B. Stentunterexpansionen, sowie Malappositionen erkannt und behoben werden (4). Auch hilft die OCT bei der Auswahl von Stentstrategie, -länge und -diameter (5, 6). Der Nutzen der mittels intravaskulärer Bildgebung durchgeführten, perkutanen Koronarintervention (PCI) auf das klinische Outcome bei komplexen Koronarinterventionen wurde kürzlich in der RENOVATE-COMPLEX-PCI-Studie nachgewiesen. In der Gruppe, die mit Hilfe intravaskulärer Bildgebungs-Verfahren (IVUS oder OCT) interveniert wurde, zeigte sich eine signifikante Reduktion zuvor definierter, unerwünschter Ereignisse (UEs) im Beobachtungszeitraum (7). Doch die OCT bietet nicht nur Anwendungsgebiete zur Optimierung von PCI-Ergebnissen, sondern ermöglicht auch eine hochauflösende Plaquecharakterisierung *in vivo* (8), sodass diese auch in der Erforschung der Pathophysiologie der Atherosklerose und des akuten Koronarsyndroms einen wichtigen Stellenwert eingenommen hat.

## 1.2 Einsatz der OCT zur Charakterisierung vulnerabler Plaques - SCD als Hochrisiko-Merkmal

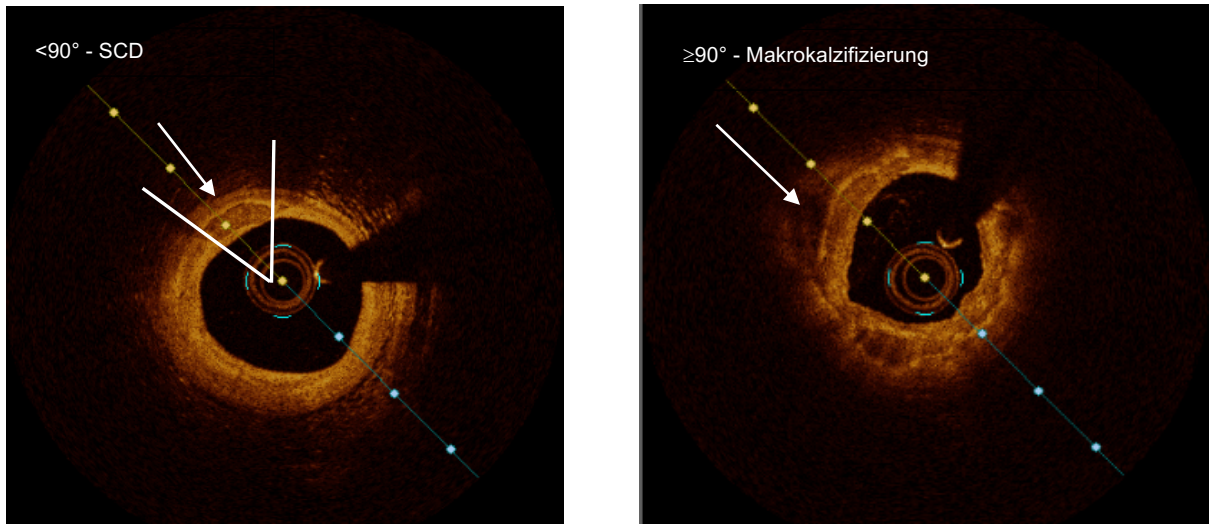
Intravaskuläre Bildgebungsverfahren haben zum ersten Mal die hochauflösende, morphologische Charakterisierung von Plaquestrukturen *in vivo* ermöglicht (1). Zuvor beruhten die Erkenntnisse im Hinblick auf vulnerable Plaques, d.h. instabile Plaques, die häufig

zu einem akuten Koronarsyndrom (ACS) führen, größtenteils auf histopathologischen Untersuchungen (9, 10). Die OCT konnte viele der auf histologischen Untersuchungen basierenden Erkenntnisse *in vivo* belegen (1).

Im histologischen Klassifizierungssystem der American Heart Association (AHA) wird die Plaqueruptur als Hauptursache für Myokardinfarkte und plötzliche Herztode aufgeführt. Die Plaqueprogression (von stabil zu instabil bzw. „vulnerabel“) ist in den meisten Fällen gekennzeichnet durch einen zunehmenden Lipidanteil, sowie eine sukzessive Abnahme der Dicke der Intima. Kommt es zu einer Diskontinuität in der Intima (Plaqueruptur) wird das thrombogene Material in der Plaque freigesetzt und kann zum thrombotischen Verschluss des Koronargefäßes führen. Als klassischer Vorläufer der Ruptur gilt die lipidreiche Plaque mit dünner Kappe (thin cap fibroatheroma – TCFA). (9-11). Sowohl der Lipidanteil als auch die Diskontinuität in der Intima können mittels OCT charakterisiert werden (1, 8). Somit gelingt eine ätiologische Einordnung des ACS mittels intravaskulärer Bildgebung. Dass Plaquerupturen die Hauptursache akuter Myokardinfarkte sind, konnte mittels OCT bestätigt werden (1). In einem kleineren Anteil der akuten Koronarsyndrome (ca. 30%) findet sich hingegen eine intakte Plaquekappe (6). In diesen Fällen führt eine oberflächliche Irregularität des Endothels zur Thrombose (10). Diese kann selbst mit der hohen, axialen Auflösung der OCT nicht erkannt werden, sodass die Diagnose dieser Entität (Plaqueeosion) eine Ausschlussdiagnose ist. Der Nachweis eines Thrombus an Stellen mit intakter Intima lässt auf eine Plaqueeosion schließen (1).

Auch weitere Plaquestrukturen können mit hoher Sensitivität und Spezifität mittels OCT identifiziert werden. Hierzu zählen auch die Plaquekalzifizierungen. Diese werden im OCT-Konsens Dokument als „heterogene Areale mit scharf abgrenzbaren Rändern“ definiert (1). In der vorhandenen Literatur haben sich im Hinblick auf kalzifizierte Areale in der Plaque zwei Gruppen gebildet: Die große, diffuse Kalzifizierung (Makrokalzifizierung) wird definiert als Areal mit  $\geq 4$  mm Länge und/oder einem maximal gemessenen Querschnittswinkel  $\geq 90^\circ$  (Abbildung 1, rechts). Kleine, fleckige Kalzifizierungen (spotty calcium deposits - SCD) werden hingegen definiert als  $< 4$  mm Länge und  $< 90^\circ$  maximaler Querschnittswinkel (Abbildung 1, links) (12). Diese Unterteilung ist von besonderer Bedeutung, da SCD vermehrt in vulnerablen Plaques in ACS-Patienten vorkommen und häufig in räumlicher Beziehung zur Rupturstelle in rupturierten Plaques stehen, wohingegen Makrokalzifizierungen in stabileren Formen der KHK vorkommen und keine Beziehung

zu Rupturstellen aufweisen (12-15). SCD gelten somit als Marker instabiler Plaques, während Makrokalzifizierungen mit stabileren Formen der KHK assoziiert sind. Diese Erkenntnis steht auch im Einklang mit CT- und histologisch basierten Studien (16, 17).



*Abbildung 1: Exemplarischer OCT-Querschnitt einer SCD mit einer eingezeichneten Querschnittswinkel-messung (links) und einer zirkumferentiellen Makrokalzifizierung (rechts). Linker Querschnitt modifiziert nach Nelles et al. (26) mit freundlichem Einverständnis von Elsevier, rechter Querschnitt eigene Darstellung*

### 1.3 KHK und ACS als Folge eines chronischen Inflammationsprozesses

Innerhalb der letzten Jahre haben sich nicht nur die bildgebenden Verfahren zur Evaluation der koronaren Plaque deutlich verbessert, sondern das Verständnis der Pathophysiologie der KHK bzw. des ACS hat sich grundsätzlich verändert. So rückt die inflammatorische Komponente der KHK, abseits von herkömmlichen Risikofaktoren immer mehr in den Fokus (18-20). Es konnte gezeigt werden, dass die Plaqueprogression fundamental von der Infiltration von Immunzellen und deren Effektor Molekülen geprägt wird. Insbesondere Makrophagen und T-Zellen wurden histopathologisch in instabilen Plaques erkannt und als Treiber der Plaquestabilisierung identifiziert (21, 22). Makrophagen, die in die Plaquekappe migrieren, können extrakollagene Matrix (ECM)-degradierende Enzyme exprimieren, insbesondere Metalloproteinase (MMP)-1, MMP-8 und MMP-13. Es konnte gezeigt werden, dass diese Enzyme destabilisierend auf die Intima agieren (23). Aus dieser und vielen weiteren Beobachtungen ergibt sich die Frage, ob bestimmte Plaquestrukturen und Patientencharakteristika mit spezifischen Entzündungsreaktionen in der Plaque assoziiert werden können, um den Einsatz gezielter, anti-inflammatorischer Therapien zu erproben.

Die Plaquekalzifizierung als inflammatorisch relevante Komponente ist zunehmend in den Fokus gerückt. *In vitro* konnte gezeigt werden, dass die Ko-Inkubation von Monozyten und kardiovaskulären, kalzifizierenden Zellen (CVC's), einer Vorstufe osteoblastischer Zellen, eine deutliche Zunahme der Kalzifizierungsaktivität verursachte: Die mit Monozyten behandelten CVCs zeigten eine signifikant höhere Aktivität der alkalinen Phosphatase, im Vergleich zu unbehandelten Zellen (24). Auch konnte in kalzifizierten Aortenklappen gezeigt werden, dass Makrophagen vornehmlich an der Peripherie kalzifizierter Areale akkumulierten (25). Es ergibt sich somit ein Zusammenhang zwischen Plaquekalzifizierung und Zellen der angeborenen Immunantwort (26).

#### **1.4 Translationale Fragestellung der vorliegenden Arbeit – SCD als mögliche Verbindung zwischen Inflammation und Plaqueinstabilität?**

Zusammenfassend stellen sich SCD als Charakteristikum der vulnerablen und instabilen Plaque heraus. Gleichzeitig ergibt sich anhand der vorliegenden Literatur ein Zusammenhang zwischen Inflammation und Kalzifizierung, der bislang nicht *in vivo* im ACS geprüft wurde. Ziel der vorliegenden Arbeit ist es daher im translationalen Design mittels intravasculärer OCT-Bildgebung und gleichzeitigem Immunprofiling direkt an der ACS-auslösenden Läsion, die klinische Relevanz der SCD und deren potenziellen Zusammenhang mit inflammatorischen Vorgängen im ACS zu prüfen (26).

## 2 Methodik

### 2.1 Patient:innen

Das Studienkollektiv bestand aus 202 ACS-Patient:innen, die im Rahmen der OPTICO-ACS (OPTIcal-COherence Tomography in Acute Coronary Syndrome) Studie (27) eine intravaskuläre Bildgebung mittels OCT, sowie ein lokales und systemisches Immunprofiling erhalten haben. Beim OPTICO-ACS Register handelte es sich um eine multizentrische, prospektive, translationale Beobachtungsstudie. In der aktuellen Substudie wurden die Daten retrospektiv ausgewertet (26). Das Studiendesign der OPTICO-ACS Studie wurde bereits zuvor publiziert (26, 27). Die Rekrutierung erfolgte an allen drei Campi der Charité, die Sammlung von Biomaterial erfolgte jedoch lediglich am Campus Benjamin Franklin. Patient:innen, die sich mit STE-ACS oder NSTEMI-ACS vorstellten und die Ein-/Ausschlusskriterien erfüllten (s. Tabelle 1) wurden in die Studie eingeschlossen. NSTEMI-ACS und STE-ACS wurden nach den damals geltenden Leitlinien (28, 29) definiert. Patient:innen mussten mindestens volljährig sein, Patient:innen über 85 Jahre wurden nicht eingeschlossen in die Studie. Eine CL musste anhand der elektrokardiographischen, echokardiographischen und angiographischen Befundlage klar abgrenzbar sein. Ausschlusskriterien waren: Schwangerschaft oder Geburt innerhalb der letzten 90 Tage, akute psychiatrische Erkrankungen, klinische Anzeichen einer Sepsis, eine vorbekannte Herzinsuffizienz mit einer linksventrikulären Ejektionsfraktion unter 30 Prozent, ein kardiogener Schock mit Einsatz von inotropen Medikamenten und/oder dem Einsatz eines mechanischen Unterstützungssystems, refraktäre, ventrikuläre Arrhythmien, eine Organtransplantation in der Vergangenheit, eine schwere Niereninsuffizienz  $eGFR < 30$  (ml/min/m<sup>2</sup>), chronische Erkrankungen mit Gebrauch einer anti-inflammatorischen Dauertherapie oder eine aktive, maligne Tumorerkrankung. Angiographische Ausschlusskriterien waren eine Hauptstammeteiligung mit  $> 50\%$  Stenose, eine CL in einem Bypassgefäß und eine CL, die nicht geeignet zur OCT-Bildgebung war, z.B. schwer verkalkte Läsionen oder distale Läsionen mit einem sehr schmalen Gefäßdurchmesser. Alle Studienteilnehmer:innen wurden vor Studieneinschluss umfangreich aufgeklärt. Die vorliegende Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité genehmigt (Nr. EA1/270/16) und konform mit der Satzung der Charité zur Sicherung guter wissenschaft-

licher Praxis durchgeführt. Die Studiendurchführung erfolgte im Einklang mit der Deklaration von Helsinki. Die Studie wurde bei ClinicalTrials.gov (NCT03129503) registriert (26, 27).

*Tabelle 1: Ein- und Ausschlusskriterien der OPTICO-ACS Studie (26, 27), eigene Darstellung*

<b>Einschluss:</b>
Präsentation mit akutem Myokardinfarkt (NSTEMI-ACS oder STEMI-ACS) (28, 29)
Alter >18 und <86 Jahre
Einverständnis an Studienteilnahme nach Aufklärung
Klar abzugrenzende CL
<b>Ausschluss:</b>
Schwangerschaft in den letzten 90 Tagen
Akute, psychiatrische Erkrankung
Klinische Anzeichen einer Sepsis
Vorbekannte Herz-Insuffizienz mit LV-EF <30%
Kardiogener Schock mit Einsatz von inotropen Medikamenten oder mechanischen Unterstützungssystemen
Refraktäre, ventrikuläre Arrhythmie
Organtransplantation in der Vergangenheit
Schwere Nieren-Insuffizienz eGFR <30 (ml/min/m <sup>2</sup> )
Chronische Erkrankungen mit Gebrauch einer anti-inflammatorischen Dauertherapie
Aktive, maligne Tumorerkrankung
Hauptstammstenose >50%
CL in einem Bypassgefäß
CL nicht geeignet zur OCT-Bildgebung, z.B. bei schwerster Kalzifizierung, zu kleinem Gefäßdurchmesser oder „no-reflow“ nach Thrombusaspiration und Prädilatation
Abkürzungen: LV-EF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion, eGFR = geschätzte glomeruläre Filtrationsrate; CL = culprit lesion, OCT = optische Kohärenztomographie



## 2.2 Probengewinn und Bilderfassung

Alle Prozesse wurden nach einem standardisiertem Studienprotokoll ausgeführt (26, 27). Nach der diagnostischen Angiographie wurden 50 ml Blut direkt aus sowohl dem ACS-auslösenden Gefäß an der CL (lokal - LOK), als auch aus der Schleuse des arteriellen Zugangs (systemisch - SYS) durch die a. radialis oder a. femoralis entnommen. Die LOK-Blutentnahme erfolgte mittels Export Advance™ Aspirationskatheter. Im Anschluss erfolgte die Thrombektomie. Im Falle eines Thrombolyse im Myokardinfarkt Fluss Score (TIMI) 0 oder I nach Aspiration oder einer sehr hohen Thrombuslast wurde eine Prädilatation durchgeführt. Im Anschluss erfolgte der OCT-Rückzug an der CL mittels OPTIS-Systems (St. Jude Medical, St. Paul, MN, USA) und konventionellem OCT-Katheter (Dragonfly Duo, St. Jude Medical, St. Paul, MN, USA). Die gewonnenen Proben wurden ohne Verzögerung direkt ans Labor weitergegeben und untersucht. Die Bilder wurden im Anschluss im Core-Lab analysiert.

## 2.3 Bildanalyse

Alle Bilder wurden mittels standardisierten Protokolls (26, 27) im Core-Lab analysiert. Die Untersucher waren hinsichtlich der klinischen Daten verblindet. Die Pathologie der ACS-auslösende Läsion wurde zusätzlich in einem externen Core-Lab bestimmt (OCT Core-Lab Deutsches Herzzentrum München, Deutschland). Zur Bildanalyse wurde Medis Qlvus 3.0 (Medis Medical Imaging Service, Leiden, The Netherlands) verwendet. Alle Strukturen wurden nach OCT-Konsensus Standards und wie bereits zuvor durch unsere Arbeitsgruppe publiziert, definiert (1, 26, 27). ACS, die durch eine Instent Restenose oder eine spontane Koronardissektion ausgelöst wurden, wurden nicht in die weitere Analyse eingeschlossen. Darüber hinaus erfolgte der Ausschluss bei Bildern mit zu hoher Thrombuslast, Bewegungsartefakten bzw. im Falle einer insuffizienten Bildqualität zur Bewertung der gesamten CL.

Tabelle 2 zeigt eine Übersicht der wichtigsten OCT-Strukturen und Landmarken. Zuerst erfolgte die Eingrenzung der CL. Hierzu wurde das ACS-auslösende Segment (culprit segment), definiert als longitudinale Plaqueextension, eingegrenzt. Im Anschluss erfolgte die Bestimmung des proximalen und distalen Referenz Lumenareals, definiert als größtes Lumen proximal/distal zur Stenose, welches innerhalb des culprit segments liegen

musste (im Optimalfall innerhalb 10 mm vor/hinter der Stenose, s. Tabelle 2). Die Extension der CL war definiert als Strecke zwischen den beiden Referenzarealen (s. Tabelle 2) (30, 31). In Abbildung 2 ist ein typischer OCT-Längsschnitt einer ACS-auslösenden CL dargestellt, Abbildung 3 zeigt eine Übersicht der wichtigsten Plaquestrukturen im Querschnitt. Querschnitte mit einer Schicht-Dicke von 0,1 mm wurden entlang der gesamten CL analysiert. Abbildung 3A zeigt die typische Dreischichtung eines gesunden Gefäßabschnittes. In allen weiteren Beispielbildern in Abbildung 3 zeigt sich eine Verdickung der Intima mit einhergehendem Verlust der Dreischichtung als Manifestation einer koronaren Plaque. Plaquekalk wurde, wie bereits in der Einleitung beschrieben, definiert als heterogenes Areal mit scharfen Grenzen (s. Abbildung 3B/C, Tabelle 2) (1). Im Gegensatz dazu wurden Lipidanreicherungen definiert als homogene, signalarme Areale mit unscharfen Grenzen (s. Abbildung 3D Stern, Tabelle 2) (1). Signalreiche, homogene Areale wurden als fibrös definiert (s. Abbildung 3D Raute, Tabelle 2) (1). Der maximale Querschnittswinkel, sowie die Dicke aller Kalkablagerungen wurden in jedem Querschnitt bestimmt. Die Kalklänge wurde errechnet durch Anzahl der Querschnitte x Schichtdicke. SCD wurden definiert als  $<4\text{mm}$  Länge und  $<90^\circ$  maximaler Querschnittswinkel (s. Abbildung 3C). Kalkablagerungen mit  $\geq 90^\circ$  Querschnittswinkel und/oder  $\geq 4\text{mm}$  Länge wurden definiert als Makrokalifizierungen (s. Abbildung 3C, Tabelle 2) (12, 14, 32). Lipid-Areale mit  $>180^\circ$  maximalem Querschnittswinkel mit einer darüber liegenden, fibrösen Kappe von  $<65\mu\text{m}$  (s. Abbildung 3D Pfeil, Tabelle 2) wurden definiert als TCFA (1). Ein Riss oder eine Diskontinuität in der fibrösen Kappe wurde definiert als Plaqueruptur (s. Abbildung 3E, Tabelle 2) (1). Plaqueerosionen wurden durch das Fehlen einer Ruptur, sowie einem Thrombus mit darunter liegender, intakter Plaquekappe definiert (s. Abbildung 3F, Tabelle 2) (1). Eine oberflächliche Kalzifizierung, die ins Lumen vorstieß und so eine Diskontinuität in der Plaquekappe verursachte, wurde definiert als kalzifiziertes Knötchen (calci-fied nodule - CN) (1). Neben den beschriebenen Strukturen wurde auch in jeder Bildfolge das minimale Lumen Areal (MLA) bestimmt (s. Tabelle 2).

*Tabelle 2 Übersicht Definitionen der wichtigsten Plaquestrukturen, eigene Darstellung*

<b>OCT-Struktur</b>	<b>Definition</b>
Referenz Lumenareal (proximal/distal)	Definiert als proximales/distales Lumenareal mit der größten Querschnittsfläche innerhalb des ACS-auslösenden Segments (normalerweise innerhalb 10 mm Entfernung der Stenose) (30, 31)
Culprit lesion (CL)	Strecke zwischen proximalem und distalem Referenz Lumenareal (30, 31)
Minimales Lumen Areal (MLA)	Kleinste Fläche, gemessen in der definierten Zielläsion (1)
Plaqueruptur	Riss oder Diskontinuität in der fibrösen Kappe, die einen Hohlraum in der Plaque erzeugt (1)
Plaqueerosion	Thrombus vorhanden über einer intakten Plaquekappe (1)
Calcified nodule	Oberflächliche Kalzifizierung, die ins Lumen vorstößt und somit eine Diskontinuität in der Plaquekappe erzeugt (1)
Lipidanreicherung	Signalschwaches, homogenes, diffuses Areal mit unscharfer Begrenzung (1)
Lipidreiche Plaque	Lipidanreicherung mehr als zwei Quadranten der Plaque einnehmend (1)
TCFA	Lipidreiche Plaque mit darüberliegender, dünner fibrinöser Kappe <65µm (1)
Plauekalzifizierung	heterogenes Areal mit scharfen Grenzen (1)
SCD	Kalkablagerung mit < 4mm Länge und <90° maximalem Querschnittswinkel (12, 14, 32)
Makrokalzifizierung	Kalkablagerung ≥4mm Länge und/oder ≥90° maximaler Querschnittswinkel (12, 14, 32)

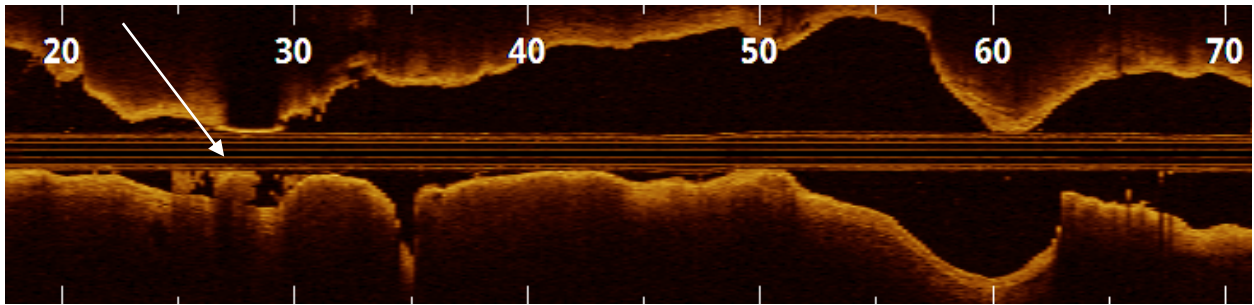


Abbildung 2: Typischer OCT-Längsschnitt einer ACS-auslösenden CL. Der Pfeil zeigt die Lokalisation des thrombotischen Gefäßverschlusses, eigene Darstellung

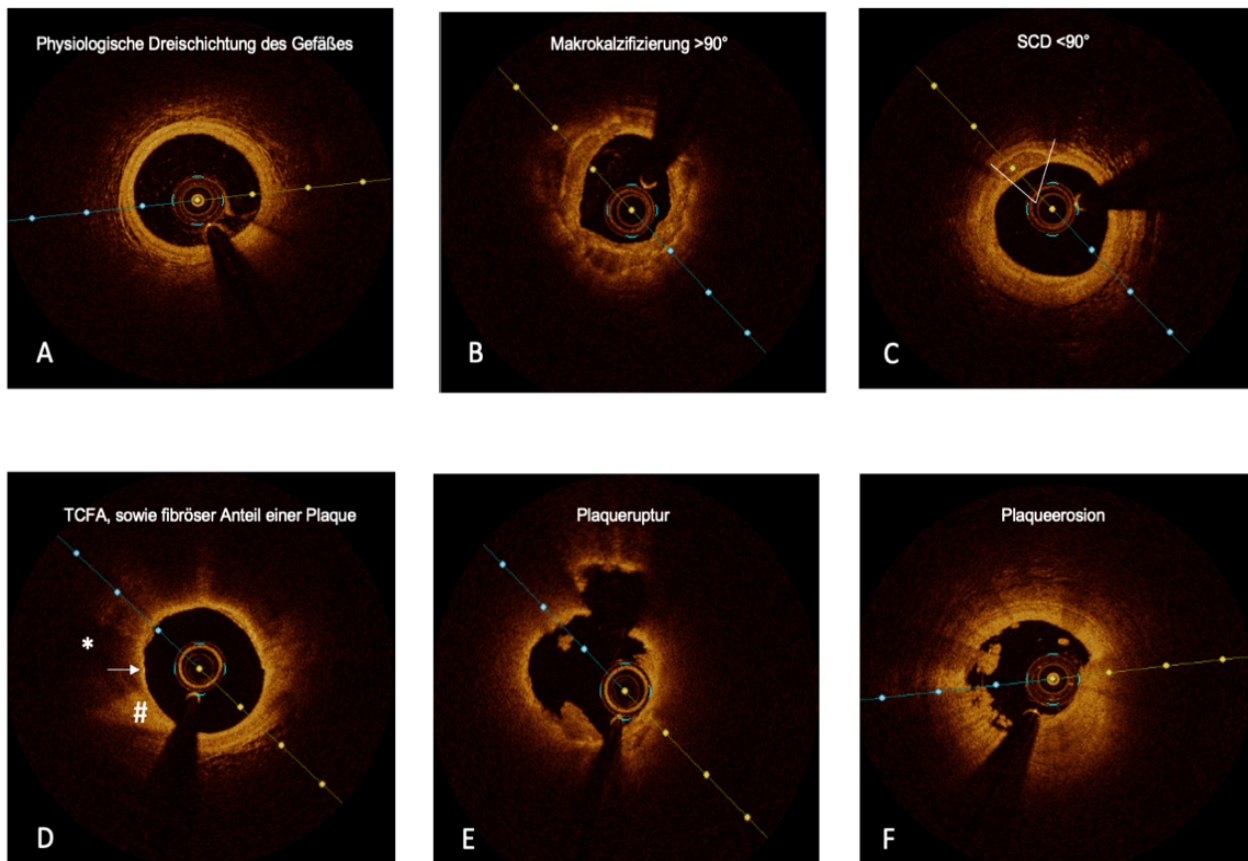


Abbildung 3: Übersicht der wichtigsten Plaquestrukturen im Querschnitt. A: typische Dreischichtung eines gesunden Gefäßabschnittes; B: zirkumferentielle Makrokalzifizierung; C: SCD mit einem Querschnittswinkel <math><90^\circ</math>; D: Plaque mit fibrösem Anteil (Raute) und Lipidablagerung (Stern) mit dünner (<math><65\mu\text{m}</math>) fibröser Kappe (Pfeil) = TCFA; E: Plaque Ruptur mit typischer Diskontinuität in der Intima; F: Plaqueerosion ohne Diskontinuität in der Intima, eigene Darstellung

## 2.4 Untersuchung des gewonnenen Biomaterials

### 2.4.1 Durchflusszytometrie

Direkt nach Probengewinn erfolgte die Weiterverarbeitung der Proben im Labor. Für jedes Panel („Übersicht“ und „Monozyten“) wurde ein Antikörpergemisch hergestellt. (s. Tabelle 3 u. 4). Übersicht: CD14 (Pacific Blue, Biolegend), CD16 (BV510, Biolegend), CD4 (BV605, Biolegend), CD45 (BV711, Biolegend), CD3 (AF488, Biolegend), CD26 (PE, Miltenyi), CD19 (PE/Dazzle594, Biolegend), CD8 (PE, Biolegend), CD41 (AF647, Biolegend). Monozyten: CD14 (Pacific Blue, Biolegend), CD16 (BV510, Biolegend), CXCR4 (BV605, Sirigen), CD45 (BV711, Biolegend), CD282 (Alexa488, Biolegend), CD284 (PE, Biolegend), CD49d (PE/Dazzle594, Biolegend), CD49a (PE/Cy7, Biolegend). 100µl EDTA-Blut (jeweils LOK und SYS) wurden mit jeweils einem der Antikörper-Panels gemischt und für 20 Minuten im Dunkeln inkubiert. Im Anschluss wurden die Proben mittels Paraformaldehyd fixiert (1:10 Verdünnung). Im Anschluss erfolgte die weitere Analyse mittels Durchflusszytometrie. Jede Probe wurde zuvor mit 1:10 Phosphat-Puffer verdünnt. Die Analyse wurde mittels Attune Nxt Acoustic Focusing Flow Cytometers durchgeführt.

Nach der Messung erfolgte die weitere Analyse mittels Kaluza-Software v. 1.5.. CD45<sup>+</sup> Zellen wurden als Leukozyten identifiziert. Monozyten wurden definiert als CD14<sup>+</sup>CD3<sup>-</sup> Zellen und wurden weiter unterteilt nach herkömmlichen Klassifizierungsmuster (33) (CD14<sup>+</sup>CD16<sup>+</sup> = klassische Monozyten; CD14<sup>++</sup>CD16<sup>+</sup> = intermediäre Monozyten; CD14<sup>+</sup>CD16<sup>-</sup> = nicht klassische Monozyten). T-Zellen wurden definiert als CD14<sup>-</sup>CD3<sup>-</sup> Zellen. T-Zell Subtypen wurden anhand der CD4- und CD8-Expression bestimmt (T-Helfer und T-Killer). B-Zellen wurden definiert als CD19<sup>+</sup> Zellen mit niedriger, seitlicher Streuung. NK-Zellen wurden als CD16<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup> identifiziert mit niedriger, seitlicher Streuung. Neutrophile als CD16<sup>+</sup>CD14<sup>-</sup> mit hoher, seitlicher Streuung. Plättchenaggregate wurden anhand ihrer CD41<sup>+</sup>-Expression herausgefiltert. Im Monozyten-Panel wurden die jeweiligen Subtypen anhand ihrer CD14CD16-Expression unterteilt. Die Expression der jeweiligen Oberflächenrezeptoren (s. Tabelle 4) wurden im Anschluss quantitativ gemessen (mittlere Fluoreszenzintensität - MFI) (26, 27).

**Tabelle 3: Antikörper zur Herstellung des Übersichts-Panels, eigene Darstellung**

<b>Antikörper</b>	<b>Menge</b>	<b>Farbe</b>	<b>Hersteller</b>
CD14	2µl	Pacific Blue	Biolegend
CD16	2µl	BV510	Biolegend
CD45	2µl	BV711	Biolegend
CD4	2µl	BV605	Biolegend
CD3	2µl	AF488	Biolegend
CD26	2µl	PE	Miltenyi
CD19	2µl	PE/Dazzle 594	Biolegend
CD8	2µl	PE	Biolegend
CD41	2µl	AF647	Biolegend
FACS-Lösung	100µl	-	-

Abkürzungen: CD = cluster of differentiation; FACS = fluorescence activated cell sorting

**Tabelle 4: Antikörper zur Herstellung des Monozyten-Panels, eigene Darstellung**

<b>Antikörper</b>	<b>Menge</b>	<b>Farbe</b>	<b>Hersteller</b>
CD14	2µl	Pacific Blue	Biolegend
CD16	2µl	BV510	Biolegend
CD45	2µl	BV711	Biolegend
CD282	2µl	AF488	Biolegend
CD284	2µl	PE	Biolegend
CD49d	2µl	PE/Dazzle 594	Biolegend
CD49a	2µl	PE/Cy7	Biolegend
CXCR4	2µl	BV605	Sirigen
FACS-Lösung	100ml	-	-

Abkürzungen: CD = cluster of differentiation; FACS = fluorescence activated cell sorting

## 2.4.2 Zytokinmessung

Antikoaguliertes Vollblut wurde mit 1200 RCF für 10 Minuten zentrifugiert. Der Überstand wurde gesammelt und erneut zentrifugiert. Das gewonnene Plasma wurde im Anschluss aufgeteilt und bei -80° Celsius eingefroren. Die Proben aller Patient:innen wurden nach Abschluss der Rekrutierungsphase gesammelt untersucht. Interleukin (IL)-1 $\beta$ , IL-8, IL-

13, Tumor Nekrose Faktor (TNF)- $\alpha$ , Interferon- $\gamma$ , macrophage chemoattractant Protein (MCP)-1 und basic fibroblast growth factor (BFGF) wurden mittels Zytokin-Array (CBA single plex, BD) entsprechend der Instruktionen des Herstellers gemessen (26, 27).

#### 2.4.3 Culprit ratio

Alle Messungen wurden jeweils sowohl im lokalen (LOK), als auch systemischen (SYS) Blut durchgeführt. Die Messungen im lokalen Blut wurden an die systemischen Werte normalisiert. Es ergab sich eine culprit ratio (CR), definiert als Quotient aus LOK und SYS ( $CR = LOK/SYS$ ).

### 2.5 Klinisches Follow-Up

Jeder Patient wurde nach Krankenhausentlassung persönlich kontaktiert und/oder die Krankenakte wurde geprüft. Ein Follow-Up erfolgte jeweils nach einem, drei und 12 Monaten. Der primäre, kombinierte Studienendpunkt unerwünschter Ereignisse (UE) war definiert als Zusammensetzung aus kardiovaskulärem Tod, nicht-tödlichem Myokardinfarkt, ungeplanter Re-Vaskularisierung des Zielgefäßes bei Restenose (target vessel revascularisation - TVR) oder Rehospitalisierung auf Grund einer progredienten oder instabilen Angina Pectoris. Der kombinierte Endpunkt wird im weiteren Text als „UE“ aufgeführt. Die Endpunkte wurden nach Academic Research Consortium (ARC)-Statement definiert (34). Myokardinfarkte wurden nach damals geltenden ESC-Leitlinien definiert (28, 29). Eine TVR wurde im Falle wiederkehrender Symptome und/oder positivem Ischämie-Nachweis bei einem Stenosegrad  $> 50\%$  durchgeführt (26).

### 2.6 Statistische Analyse

Alle Variablen wurden mittels Normalverteilungstests (Shapiro-Wilk), sowie Q-Q-Diagrammen auf Normalverteilung hin untersucht. Ungepaarte Vergleiche zwischen zwei Gruppen wurden mittels Students t-test (parametrisch) oder Mann-Whitney (non-parametrisch) durchgeführt. Gepaarte Vergleiche zwischen mehr als zwei Gruppen wurden mittels Friedmann-Test durchgeführt. Im Anschluss erfolgte eine Bonferroni Korrektur.

Kategorische Variablen wurden mittels  $X^2$  oder Fisher-Test (Fisher, wenn die minimal erwartete Anzahl < fünf war) verglichen. Die Anzahl unerwünschter Ereignisse im Beobachtungszeitraum wurde mittels Kaplan-Meier Kurve in beiden Gruppen dargestellt. Der Vergleich der Gruppenerfolge mittels log-rank Test. Darüber hinaus wurden die Überlebensdaten in einer Cox-Regression untersucht. Es ergab sich eine Hazard Ratio (HR), die zusammen mit dem Konfidenzintervall (95%) dargestellt wurde. Fehlende Mess-Werte in der FACS-Analyse wurden als 10% des minimal gemessenen Wertes imputiert. Bei den Zytokinmessungen wurden fehlende Werte durch die untere Messgrenze ersetzt.  $p$ -Werte < 0,05 wurden als statistisch signifikant gewertet (26, 27).



### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Studienpopulation

Über 400 Patient:innen mit ACS wurden anhand der Ein- und Ausschlusskriterien gescreent. Insgesamt wurden 202 Patient:innen, die o.g. Kriterien erfüllten, in die Studie eingeschlossen (26). Von den 202 Patient:innen wurden 34 auf Grund schlechter Bildqualität oder zu hoher Thrombuslast ausgeschlossen. Zudem wurden 13 Patient:innen ausgeschlossen, bei denen die ACS-Ursache eine Instent Stenose oder Koronardissektion waren. Insgesamt ergab sich ein Studienkollektiv, bestehend aus 155 ACS-Patient:innen (s. Abbildung 4).

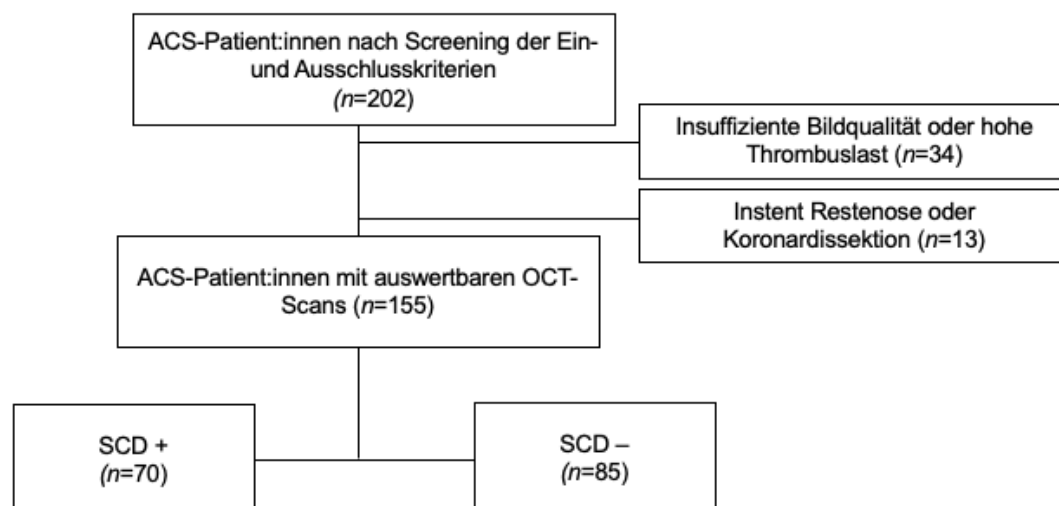


Abbildung 4: Flussdiagramm der Studienpopulation, modifiziert nach Nelles et al. (26) mit freundlichem Einverständnis von Elsevier

#### 3.2 Basischarakteristika der Studienpopulation

Tabelle 5 zeigt eine Übersicht der Basischarakteristika in der vorliegenden ACS-Kohorte. Das Studienkollektiv bestand zu 80% aus Männern, die Einweisungs-Diagnose war zum Großteil ein STE-ACS ( $n=104$ ; 67,1%). Die Prävalenz herkömmlicher Risikofaktoren lag bei: 82,6 % arterielle Hypertonie, 18,7 % Diabetes Mellitus, 76,1% Hypercholesterinämie. 9 % der Patient:innen hatten bereits zuvor mindestens eine PCI erhalten. SCD traten in

fast der Hälfte aller Patient:innen auf ( $n=70$ ; 45,2%). Patient:innen mit SCD an der CL hatten ein höheres Gesamt-Cholesterin (191,7 vs. 172,4;  $p<0,01$ ) und LDL-Cholesterin (127,1 vs. 114,4;  $p<0,05$ ), als Patient:innen ohne SCD. Darüber hinaus zeigte sich eine höhere, maximale Kreatinkinase (1485,1 vs. 1273,2;  $p<0,05$ ) und höhere Leukozytenkonzentration (9,0 vs. 8,2/pl;  $p<0,05$ ) in SCD+ Patient:innen, verglichen mit SCD- Patient:innen. Alle anderen Basischarakteristika waren ähnlich verteilt zwischen SCD+ und SCD- Patient:innen (26).

**Tabelle 5: Basischarakteristika der Studienpopulation ( $n=155$ ), modifiziert nach Nelles et al. (26) mit freundlichem Einverständnis von Elsevier**

	<b>Alle (<math>n=155</math>)</b>	<b>SCD + (<math>n=70</math>)</b>	<b>SCD - (<math>n=85</math>)</b>	<b>p- Wert</b>
<b>Basismerkmale:</b>				
Alter (Jahre $\pm$ SD)	64,0 (11,4)	61,7 (10,1)	64,8 (12,3)	n.s.
Männlich ( $n$ ; %)	124 (80,0)	56 (80,0)	68 (80,0)	n.s.
Diabetes mellitus ( $n$ ; %)	29 (18,7)	14 (20,0)	15 (21,4)	n.s.
Arterieller Hypertonus ( $n$ ; %)	128 (82,6)	58 (82,9)	70 (82,4)	n.s.
Hypercholesterinämie ( $n$ ; %)	118 (76,1)	54 (77,1)	64 (75,3)	n.s.
BMI (Mittelwert $\pm$ SD)	27,4 (4,4)	27,8 (4,3)	26,8 (4,4)	n.s.
Vorherige PCI ( $n$ ; %)	14 (9,0)	7 (10,0)	7 (8,2)	n.s.
<b>Laborcharakteristika:</b>				
Gesamt-Cholesterin (mg/dl)	185,5 (44,9)	191,7 (42,0)	172,4 (44,6)	<0,01
LDL-Cholesterin (mg/dl)	123,3 (40,1)	127,1 (36,1)	114,4 (42,4)	<0,05
Kreatinin (mg/dl)	0,9 (0,2)	0,9 (0,2)	1,0 (0,2)	n.s.
Leukozyten (per nl)	8,9 (2,0)	9,0 (1,8)	8,6 (2,9)	<0,05
hs-CRP (mg/dl)	20,3 (22,4)	23,5 (25,5)	17,7 (19,4)	n.s.
<b>ACS-Charakteristika:</b>				
STE-ACS ( $n$ ; %)	104 (67,1)	49 (70,0)	55 (64,7)	n.s.
CK max. (U/l; Mittelwert $\pm$ SD)	1368,1 (1437,8)	1485,1 (1354,6)	1273,2 (1503,2)	<0,05
LV-EF bei Entlassung (% $\pm$ SD)	56,4 (10)	55,5 (9,5)	56,3 (9,7)	n.s.
<small>Abkürzungen: n = Anzahl; SCD = spotty calcium deposit; SD = Standardabweichung; BMI = body mass index; PCI = perkutane Koronarintervention; LDL = low density lipoprotein; hs-CRP = hoch sensitives C-reaktives Protein; STE = ST-Segment Elevation; CK = Kreatinkinase, max = maximal; U = Unit; LV-EF = linkventrikuläre Ejektionsfraktion, n.s. = nicht signifikant</small>				

### 3.2 OCT-Charakteristika

Tabelle 6 beschreibt die OCT-Charakteristika in der Studienpopulation. Die Plaqueruptur war die häufigste ACS-Ursache ( $n=106$ ; 68,4%). Die Prävalenz der Plaqueruptur war darüber hinaus höher in SCD+ Patient:innen, als in SCD- Patient:innen (77,1% vs. 61,2%;  $p<0,05$ ). Weitere Hochrisikomerkmale wie z.B. TCFA (86,6% vs. 72,8%;  $p<0,05$ ) traten häufiger in SCD+ Patient:innen auf. Die CL von SCD+ Patient:innen war darüber hinaus gekennzeichnet durch dünnere fibröse Plauekappen (65,2 vs. 79,6  $\mu\text{m}$ ;  $p<0,05$ ) und größere Lipidakkumulationen (Max° Lipid 282,7 vs. 259,0;  $p<0,05$ ), als die der SCD- Patient:innen. In Bezug auf die Kalklast zeigten sich in SCD+ Patient:innen erwartungsgemäß kleinere maximale Querschnittswinkel der Kalzifizierungen (29,2 vs. 70,2°;  $p<0,05$ ) und kürzere Kalkablagerungen (2,8 vs. 11,4 mm,  $p<0,05$ ) (26).

**Tabelle 6: OCT-Charakteristika der Studienpopulation ( $n=155$ ), modifiziert nach Nelles et al. (26) mit freundlichem Einverständnis von Elsevier**

	<b>Alle (<math>n=155</math>)</b>	<b>SCD + (<math>n=70</math>)</b>	<b>SCD - (<math>n=85</math>)</b>	<b>p- Wert</b>
<b>CL-Charakteristika:</b>				
MLA ( $\text{mm}^2$ ; Mittelwert $\pm$ SD)	2,0 (1,1)	1,9 (1,3)	2,0 (0,8)	n.s.
Plaque Ruptur ( $n$ ; %)	106 (68,4)	54 (77,1)	52 (61,2)	<0,05
Plaque Erosion ( $n$ ; %)	43 (27,7)	15 (21,0)	28 (32,9)	n.s.
CN ( $n$ ; %)	6 (3,9)	1 (1,4)	5 (5,9)	n.s.
Fibroatherom ( $n$ ; %)	148 (95,5)	67 (95,7)	81 (95,3)	n.s.
TCFA ( $n$ ; %)	117 (79,1)	58 (86,6)	59 (72,8)	<0,05
Dicke der Plauekappe* ( $\mu\text{m}$ ; Mittelwert $\pm$ SD)	73,1 (49,2)	65,2 (39,4)	79,6 (55,4)	<0,05
Max° Lipid (Mittelwert $\pm$ SD)	269,7 (55,8)	282,7 (42,0)	259,0 (63,9)	<0,05
<b>Kalk-Charakteristika:</b>				
Kalzifizierung vorhanden ( $n$ ; %)	121 (78,1)	70 (100)	51 (60,0)	<0,05
SCD vorhanden ( $n$ ; %)	70 (45,2)	70 (100)	0 (0)	-
Max° Kalk, kalzifizierter Läsionen (Mittelwert $\pm$ SD)	97,9 (67,9)	59,4 (29,6)	150,8 (70,2)	<0,05
Mittlere Kalk-Strecke, kalzifizierter Läsionen (mm; Mittelwert $\pm$ SD)	8,2 (9,6)	3,3 (2,8)	14,9 (11,4)	<0,05

\*Die Messung der Plauekappe erfolgte an der schmalsten Stelle. Hier erfolgten drei Messungen. Der Durchschnitt der drei Messungen wird hier gezeigt.  
**Abkürzungen:** SCD = spotty calcium deposit;  $n$  = Anzahl; CL = culprit lesion; MLA = minimales Lumen Areal; SD = Standardabweichung; CN = calcified nodule; TCFA = thin cap fibroatheroma; FC = fibröse Kappe; Max° = maximaler Querschnittswinkel, n.s. = nicht signifikant

### 3.3 Immun-Profilung

In der Zytokinanalyse zeigte sich eine vermehrte Anreicherung pro-inflammatorischer Zytokine: IL-8 (2,04 vs. 1,37;  $p < 0,05$ ) und TNF- $\alpha$  (1,17 vs. 1,06;  $p < 0,05$ ) waren erhöht in SCD+ Läsionen im Vergleich zu SCD- Läsionen (s. Abbildung 5 und Tabelle 7). Die weiteren, untersuchten Zytokine (IL-1 $\beta$ , IL-13, IFN- $\gamma$ ; MCP-1, BFGF) zeigten keine signifikanten Unterschiede (s. Tabelle 7). In der Zellanalyse zeigte sich eine vermehrte Anreicherung von Neutrophilen in SCD+ Läsionen im Vergleich zu SCD- Läsionen (0,96 vs. 0,91;  $p < 0,05$ , s. Abbildung 5 und Tabelle 7). Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede im Hinblick auf andere Immunzellen (s. Tabelle 7). Auch ergab sich kein Unterschied zwischen den Gruppen im Hinblick auf die Gesamtmonozyten-Zahl (s. Abbildung 5 und Tabelle 7) (26).

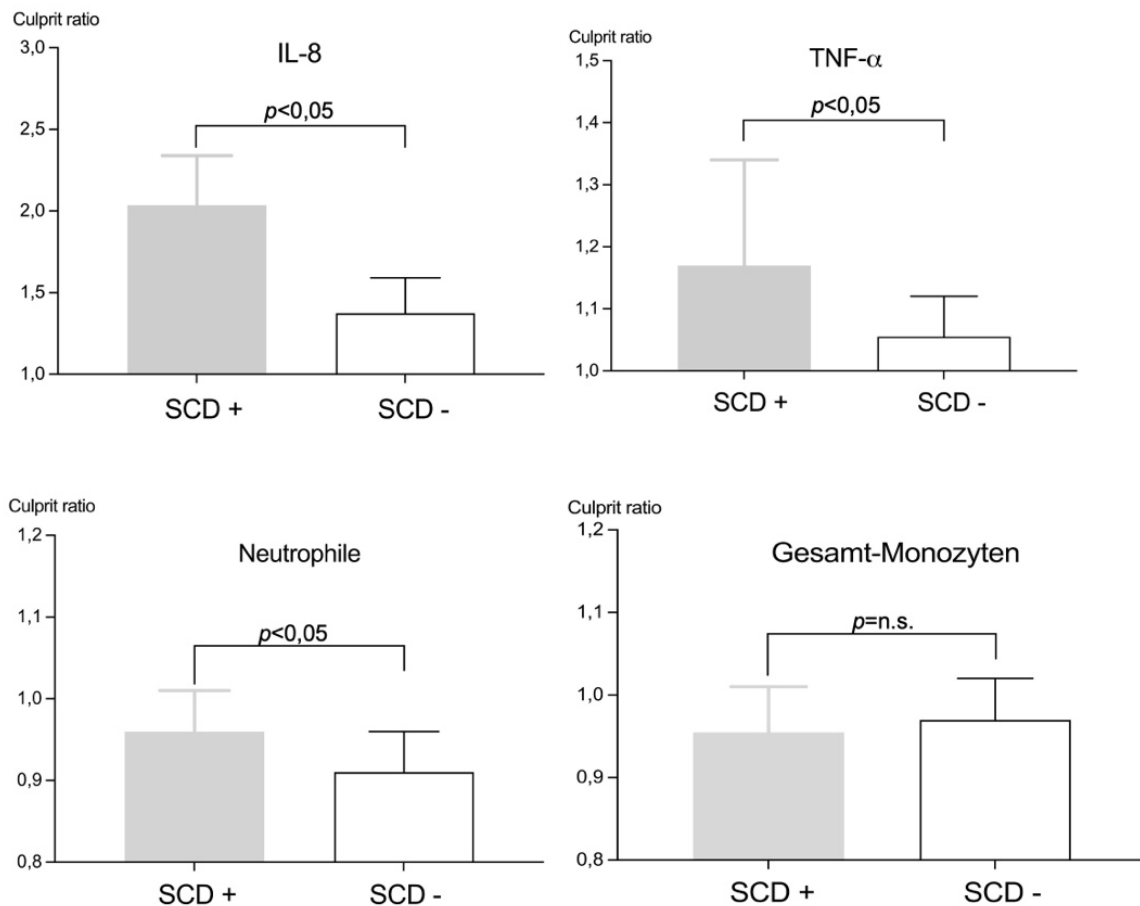


Abbildung 5: Culprit ratios gemessener Zytokine und Zellen in der Studienpopulation (n=155), modifiziert nach Nelles et al. (26) mit freundlichem Einverständnis von Elsevier

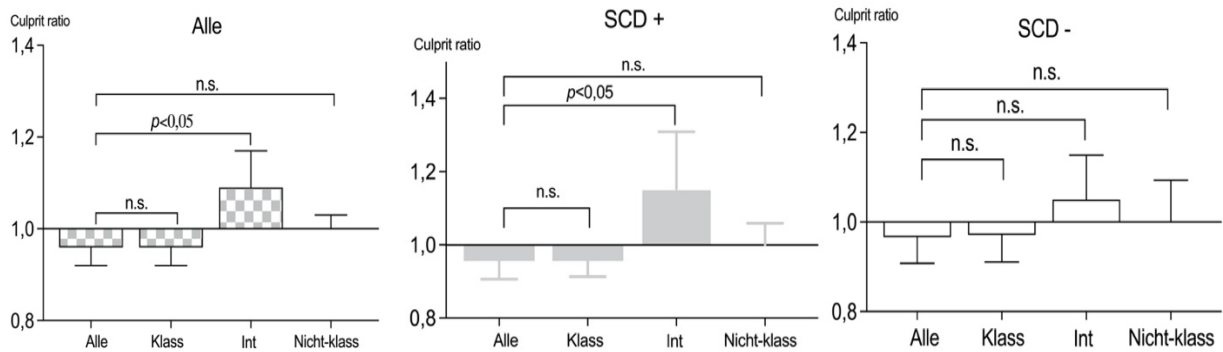
**Tabelle 7: Culprit ratios gemessener Zytokine und Zellen in der Studienpopulation (n=155), modifiziert nach Nelles et al. (26) mit freundlichem Einverständnis von Elsevier**

	<b>SCD + (n=70)</b>	<b>SCD – (n=85)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Zytokine:</b>			
IL-1 $\beta$ (CR)	1,05 (0,87)	1,09 (0,95)	n.s.
IL-8 (CR)	2,04 (1,24)	1,37 (1,10)	<0,05
TNF- $\alpha$ (CR)	1,17 (0,93)	1,06 (0,89)	<0,05
IL-13 (CR)	1,00 (0,89)	1,00 (0,93)	n.s.
IFN- $\gamma$ (CR)	1,14 (1,00)	1,12 (1,00)	n.s.
MCP-1 (CR)	1,04 (0,67)	1,00 (0,71)	n.s.
BFGF (CR)	0,99 (0,80)	0,99 (0,83)	n.s.
<b>Immunzellen:</b>			
Monozyten gesamt (CR)	0,96 (0,84)	0,97 (0,86)	n.s.
Granulozyten (CR)	0,96 (0,86)	0,90 (0,79)	n.s.
Neutrophile (CR)	0,96 (0,85)	0,91 (0,77)	<0,05
NK-Zellen	0,99 (0,74)	0,93 (0,78)	n.s.
B-Zellen (CR)	0,95 (0,82)	1,00 (0,89)	n.s.
T-Zellen (CR)	1,00 (0,89)	1,00 (0,90)	n.s.
CD8-Zellen (CR)	1,00 (0,79)	0,99 (0,87)	n.s.
CD4-Zellen (CR)	1,00 (0,89)	0,99 (0,92)	n.s.

Alle Werte sind dargestellt als Median (Q1). Culprit ratios = Messung LOK/SYS

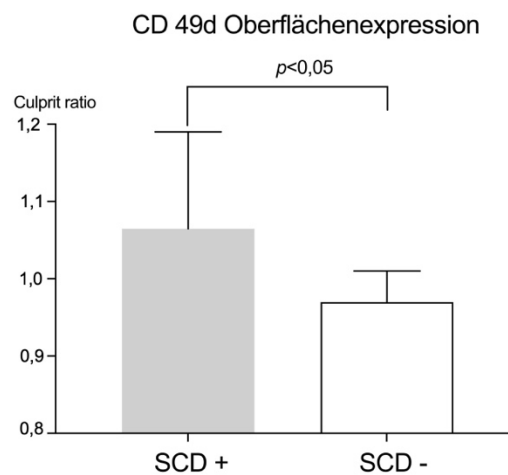
**Abkürzungen:** SCD = spotty calcium deposit; CR = culprit ratio; NK= natural killer; IL = interleukin; TNF = Tumor Nekrose Faktor; IFN = Interferon; MCP = macrophage chemoattractant protein; BFGF = basic fibroblast growth factor, CD = cluster of differentiation; n.s. = nicht signifikant

In der Monozyten Subklassenanalyse zeigte sich in der gesamten Studienkohorte eine vermehrte Anreicherung von intermediären Monozyten an der ACS-auslösenden CL, im Vergleich zur Gesamtmonozyten-Zahl (1,09 vs. 0,96;  $p < 0,05$ , s. Abbildung 6). Diese Anreicherung war spezifisch für SCD+ Läsionen (1,15 vs. 0,96;  $p < 0,05$ ) und konnte in SCD- Läsionen nicht nachgewiesen werden ( $p = n.s.$ , s. Abbildung 6) (26).



**Abbildung 6: Culprit ratios der Monozyten-Subklassen in der Studienpopulation (n=155), modifiziert nach Nelles et al. (26) mit freundlichem Einverständnis von Elsevier**

Zur weiteren Charakterisierung der intermediären Monozyten erfolgte die Analyse verschiedener Oberflächenrezeptoren in den letzten 101 Patient:innen: Intermediäre Monozyten zeigten eine vermehrte Expression des Integrin-Rezeptors CD49d in SCD+ Patient:innen, verglichen mit SCD- Patient:innen (1,06 vs. 0,97;  $p < 0,05$ ; s. Abbildung 7). Es zeigten sich zwar Trends für erhöhte CD11a (1,05 vs. 1,00) und TLR2 (1,04 vs. 0,95) Expression, dieser Unterscheid war jedoch nicht statistisch signifikant ( $p = \text{n.s.}$ , s. Tabelle 7). (26)



**Abbildung 7: Oberflächenexpression von CD49d auf intermediären Monozyten in der Studienpopulation (n=101), modifiziert nach Nelles et al. (26) mit freundlichem Einverständnis von Elsevier**

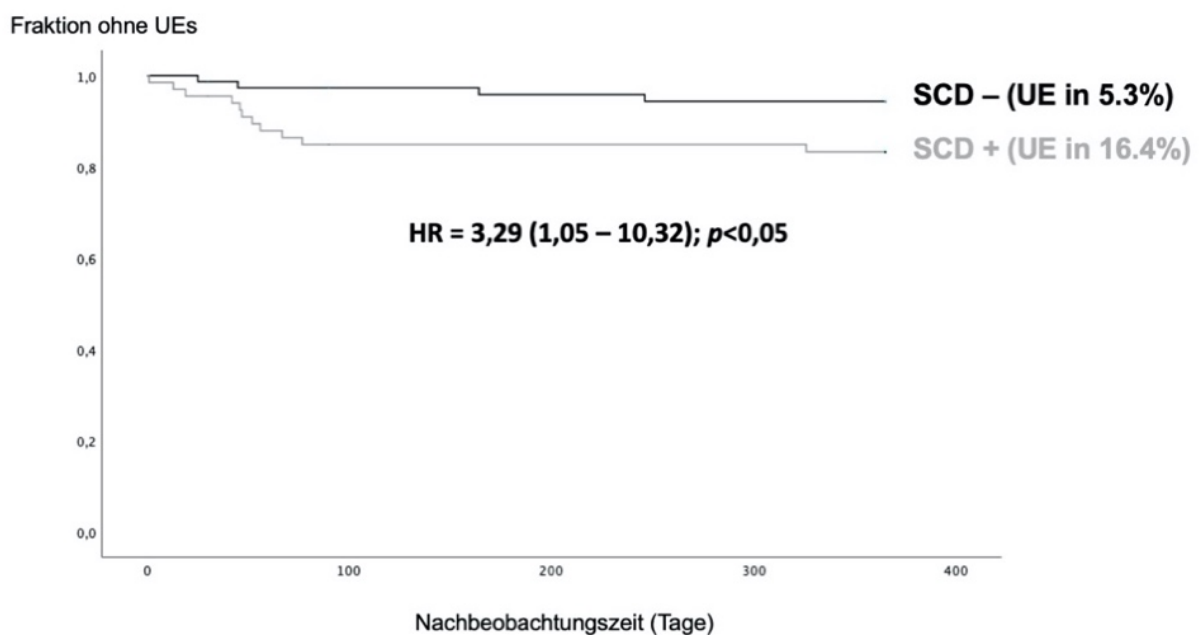
**Tabelle 8: Oberflächenexpression verschiedener Rezeptoren auf intermediären Monozyten in der Studienpopulation (n=101), modifiziert nach Nelles et al. (26) mit freundlichem Einverständnis von Elsevier**

	<b>SCD+ (n=44)</b>	<b>SCD – (n=57)</b>	<b>p-Wert</b>
<b>Integrin Rezeptoren:</b>			
CD 11a (CR)	1,05 (0,97)	1,00 (0,92)	n.s.
CD 49a (CR)	1,03 (0,89)	0,99 (0,91)	n.s.
CD 49d (CR)	1,06 (0,94)	0,97 (0,91)	<0,05
<b>Toll-like Rezeptoren:</b>			
TLR2 (CR)	1,04 (0,92)	0,95 (0,90)	n.s.
TLR4 (CR)	1,00 (0,69)	1,00 (1,00)	n.s.

Alle Werte sind dargestellt als Median (Q1). Culprit ratios = Messung LOK/SYS  
 Abkürzungen: SCD = spotty calcium deposit; CR = culprit ratio; CD = cluster of differentiation, TLR = toll-like receptor; n.s. = nicht signifikant

### 3.4 Follow-Up

Der mittlere Beobachtungszeitraum war  $10,4 \pm 3,9$  Monate. Aus den 155 Patient:innen konnten 7 Patient:innen nicht nachverfolgt werden (loss to follow-up). Abbildung 8 zeigt die Kaplan-Meier Analyse des kombinierten Endpunktes (UE = Kardiovaskulärer Tod,



**Abbildung 8: Kaplan-Meier Analyse des kombinierten Endpunktes in Patient:innen mit und ohne SCD (n=138), eigene Darstellung. Die graue Kurve zeigt den Anteil der Studienpopulation ohne SCD, die schwarze Kurve den Anteil mit SCD. Abkürzungen: SCD = Spotty calcium deposit; UE = unerwünschtes Ereignisse (kombinierter Studienendpunkt s. Methodik); HR = hazard ratio**

Myokardinfarkt, target vessel revascularisation, Rehospitalisierung wegen instabiler oder progressiver AP) in Patient:innen mit und ohne SCD.

Der kombinierte Endpunkt (UE) trat in 10,5% aller Patient:innen auf: Myokardinfarkt  $n=1$ ; 0,7%; TVR  $n=3$ ; 2,1%; Rehospitalisierung auf Grund instabiler oder progressiver AP  $n=11$ ; 7,7%. Kein/e Patient:in verstarb im Beobachtungszeitraum. UEs traten signifikant häufiger in SCD+ Patient:innen auf im Vergleich zu SCD- Patient:innen [ $n=11$  (16,4%) vs.  $n=4$  (5,3%),  $p<0,05$ , s. Abbildung 8]. Es ergab sich eine HR von 3,29 (95% Konfidenzintervall = 1,05 – 10,32,  $p<0,05$ ) für SCD und das Auftreten des kombinierten Endpunktes (26).



## 4 Diskussion

### 4.1 Zentrale Erkenntnisse

Das OPTICO-ACS Studienregister beschäftigt sich mit den Zusammenhängen zwischen Hochrisiko Plaquestrukturen, deren assoziierten, klinischen Charakteristika und inflammatorischen Vorgängen im akuten Koronarsyndrom (27). In der vorliegenden Substudie wurde der Zusammenhang zwischen SCD und der inflammatorischen Aktivität, sowie der kardiovaskulären Prognose im akuten Koronarsyndrom untersucht.

SCDs wurden in ca. der Hälfte aller ACS-Patient:innen nachgewiesen und waren assoziiert mit typischen Charakteristika einer vulnerablen Plaque, insbesondere einem höheren Lipidanteil, sowie einer erhöhten Tendenz zu rupturieren. Es konnte zum ersten Mal *in vivo* ein Zusammenhang zwischen Zellen der angeborenen Immunantwort (Monozyten Neutrophilen, sowie pro-inflammatorischen Zytokinen) und SCDs im ACS aufgezeigt werden. Darüber hinaus hatten Patient:innen mit SCD eine schlechtere, kardiovaskuläre Prognose im Nachbeobachtungszeitraum (26).

### 4.2 Studiendesign

Die Methodik der OPTICO-ACS Studie zeichnet sich durch zwei Besonderheiten aus: Das untersuchte Blut wurde aus den Koronararterien gewonnen direkt an der ACS-auslösenden CL, um die Entzündungsprozesse aus der direkten Plaqueumgebung möglichst unverfälscht darzustellen (27). Diese Herangehensweise beruht auf vorherigen Arbeiten, die relevante Unterschiede in der Blutzusammensetzung zwischen lokal- und peripher gewonnenem Blut im ACS gezeigt haben. Zudem konnte in vorherigen Arbeiten nachgewiesen werden, dass sich die Blutzusammensetzung im ACS relevant verändert, während das Blut die koronare Zirkulation passiert (35, 36).

Darüber hinaus wurde eine intra-individuelle Normalisierungsstrategie („culprit ratios“) verwendet, bei der die lokal gemessenen Werte, in Form eines lokal-systemischen Gradienten dargestellt wurden. Trotz strikter Ausschlusskriterien in der OPTICO-ACS Studie (insbesondere von Patient:innen mit chronischen Entzündungs-Erkrankungen und malignen Tumoren) wurde i.R. der Studienplanung weiterhin von inter-individuellen Unter-

schieden der Baseline Entzündungsaktivität und der Entzündungsreaktion im ACS ausgegangen (27). Mit der Verwendung von CRs wurde darauf abgezielt, diesen inter-individuellen Unterschieden nachzukommen.

### **4.3 SCD als prognostisch relevante Plaquestruktur**

SCD+ Plaques waren assoziiert mit typischen Charakteristika einer vulnerablen Plaque, d.h. einem höheren Lipidanteil in der Plaque, einer dünneren Plaquekappe und einer erhöhten Tendenz zu rupturieren. Die vorliegenden Ergebnisse stehen im Einklang mit vorherigen Ergebnissen aus IVUS- und OCT-basierten Studien (12, 15). Hier wurden SCD bereits als Hochrisiko Struktur im ACS identifiziert. Die aktuell vorliegende Arbeit konnte diese Assoziation einer großen OCT-basierten ACS-Kohorte bestätigen (26). Im Hinblick auf klinische Charakteristika waren SCDs assoziiert mit einem erhöhten kardiovaskulären Risikoprofil im Sinne eines höheren LDL-Cs. Dieser Zusammenhang ließ sich in der aktuellen Arbeit zum ersten Mal im ACS nachweisen. Zudem zeigte sich ein größerer Myokardschaden in SCD-Patienten im Sinne einer höheren Peak Kreatin-Kinase. Auch konnten SCD mit einer höheren Anzahl kardialer UEs in Verbindung gebracht werden. Im Hinblick auf den prognostischen Einfluss von SCDs stehen die aktuellen Ergebnisse im Einklang mit vorherigen Arbeiten. Ein Zusammenhang zwischen SCD und kardiovaskulärer Prognose konnte bereits mittels CT-basierten Untersuchungen gezeigt werden (37, 38). Allerdings war das Patientenkollektiv hier durch ein deutlich geringeres, kardiovaskuläres Risikoprofil und überwiegend stabile Formen der KHK gekennzeichnet. So wurden z.B. im SCOT-HEART Register (38) Patienten aus der Gesamtpopulation untersucht, während in der vorliegenden Arbeit der prognostische Effekt von SCD zum ersten Mal in ACS-Patienten analysiert wurde. Die vorliegende Arbeit zeigt somit zum ersten Mal die prognostische Relevanz von SCD in einem besonders vulnerablen Patienten-Kollektiv (nach ACS). Ob SCD lediglich ein Marker des „besonders kranken ACS-Patienten“ sind oder ein eigenständigen Risikomarker darstellen, der aktiv am Entzündungsprozess beteiligt ist, bleibt in zukünftigen Arbeiten zu untersuchen (26).

#### 4.4 SCD und lokale Entzündungsaktivität

Im Labormodell konnte bereits ein Zusammenhang zwischen Entzündungsaktivität und Kalzifizierungen nachgewiesen werden: Die Ko-Inkubation von Monozyten und kardiovaskulären, kalzifizierenden Zellen, einer Vorstufe osteoblastischer Zellen, ergab im *in vitro* Modell eine deutliche Zunahme der Kalzifizierungsaktivität: Die mit Monozyten behandelten Zellen zeigten eine signifikant höhere Aktivität der alkalinen Phosphatase, im Vergleich zu unbehandelten Zellen. Zudem konnte die Kalzifizierungsaktivität durch Hinzugabe von LDL-Cholesterin weiter potenziert werden (24). Auch konnte im Labormodell Kalzifizierungsaktivität durch die Behandlung von aortalen, glatten Muskelzellen mit TNF- $\alpha$  induziert werden (39). Auf der anderen Seite löste die Aufnahme von Kalziumpartikeln durch Makrophagen im Labormodell eine erhöhte Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine aus (40). Es ergibt sich somit ein bidirektionaler Zusammenhang zwischen Inflammation und Kalzifikation. In der vorliegenden Arbeit konnten wir *in vivo* eine Assoziation zwischen SCD, sowie intermediären Monozyten, pro-inflammatorischen Zytokinen und erhöhtem LDL-Cholesterin aufzeigen. Die Ergebnisse stehen somit im Einklang mit den vorherbeschriebenen *in vitro* Experimenten (26).

Vorherige Arbeiten haben bereits im translationalen Design gezeigt, dass vornehmlich intermediäre Monozyten an der CL von ACS-Patient:innen anreichern (36). Eine erhöhte Anzahl intermediärer Monozyten konnte zudem in Zusammenhang mit einem erhöhten Auftreten kardialer UEs in Verbindung gebracht werden (41). In der vorliegenden Studie konnten wir bestätigen, dass eine Anreicherung pro-inflammatorischer Monozyten in ACS-auslösenden CLs vorliegt. Andere Subgruppen der Monozyten zeigten keine relevante Anreicherung im Vergleich mit der Monozyten Gesamtpopulation. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass die Anreicherung intermediärer Monozyten, spezifisch für SCD+ Läsionen ist. Darüber hinaus zeigte sich in SCD+ Läsionen eine erhöhte Expression des Integrin Rezeptors CD49d und lässt somit auf eine erhöhte Migration intermediärer Monozyten in die Plaque schließen.

Zusammenfassend ergibt sich das Bild einer SCD-assoziierten, pro-inflammatorischen Aktivität, die hauptsächlich geprägt ist durch Zellen und Zytokine der angeborenen Immun-Antwort (26).

#### 4.5 Inflammation und Biomechanik im Kontext der Plaquestabilisierung – das OPTICO-ACS Studienregister

Die vorliegende Arbeit hat sich größtenteils auf die inflammatorische Komponente der KHK und deren Beitrag zur Plaueprogression konzentriert. Jedoch sollte zuletzt auch auf biomechanische Aspekte und deren möglichen Einfluss auf die Plauestabilität eingegangen werden. In der Literatur sind insbesondere Zusammenhänge zwischen Biomechanik und Plaueuptur beschrieben: Im Rahmen der Plaueprogression kann es – sobald der Druck in der Plaue die Widerstandskraft der Plauekappe übersteigt – zur Ruptur kommen (31, 42). Die Widerstandskraft der Plauekappe hängt von diversen Faktoren ab. Die enzymatische Degradation der Intima zum Beispiel, kann die Widerstandskraft signifikant senken (43). Darüber hinaus konnten vorherige Arbeiten eine starke Korrelation zwischen der Tangentialspannung auf die Gefäßwand und der Lokalisation von Rupturstellen aufzeigen. Plaueupturen traten zwar nicht nur an Stellen maximaler, jedoch immer in Regionen hoher Tangentialspannung auf (44). Die Tangentialspannung wird maßgeblich durch das Zusammenspiel von Lipidablagerungen und der darüber liegende Plauekappe bestimmt. Loree et al. konnten zeigen, dass eine Zunahme der Dicke von Lipidablagerungen um 16% zu einer Vervierfachung der Tangentialspannung führte (45).

Auch Kalkablagerungen und kristalline Strukturen in der Plaue, wie z.B. Cholesterinkristalle können die Biomechanik beeinflussen. So konnte ein lineares Verhältnis zwischen der Größe von Cholesterinkristallen und der Tangentialspannung auf die Plauekappe nachgewiesen werden (46). Cholesterinkristalle können zudem die Plauemembran perforieren und somit das Auftreten von Plaueupturen fördern (47). In einer der OPTICO-ACS Substudien konnten wir *in vivo* einen starken Zusammenhang zwischen Cholesterinkristallen und Plaueupturen bestätigen (48). In Bezug auf Kalkablagerungen ergibt sich ein komplexerer Zusammenhang. So können Kalkablagerungen sowohl stabilisierend als auch destabilisierend agieren. Geometrische Aspekte der Kalkablagerung, sowie deren Position in Relation zu anderen Plauestrukturen stellen diesbezüglich die maßgeblichen Determinanten dar (49). Obwohl biomechanische Aspekte in der aktuellen Substudie des Registers nicht gesondert untersucht wurden, konnten wir einen starken Zusammenhang zwischen SCD und Plaueuptur bestätigen (26). In einer weiteren Untersuchung unserer Arbeitsgruppe konnten wir zeigen, dass Rupturen häufiger in Gebieten auftraten, in denen Kalkablagerungen und Lipidanreicherungen im selben Querschnitt

zu finden waren. In den die Ruptur umgebenden Arealen war diese Ko-Lokalisation besonders ausgeprägt (31). Diese Beobachtung unterstreicht die Relevanz des Zusammenspiels zwischen den einzelnen Plaquekomponenten.

Ein Zusammenhang zwischen Biomechanik und Plaquestabilisierung besteht auch für die Pathogenese der Plaqueeosion. Erosionen zeichnen sich histopathologisch durch die oberflächliche Abtragung von Endothelzellen von der Gefäßwand aus. Die oberflächlich erodierte Gefäßwand kann durch die Präsentation thrombogener Partikel zur Thrombose führen (22). Die oberflächliche Abtragung der Endothelzellen ist laut der vorhandenen Literatur häufig Folge einer durch Flussalterationen bedingten, endothelialen Apoptose (50). Dieser Vorgang konnte bisher insbesondere in Regionen mit gestörtem laminarem Fluss und niedrigen Scherkräften beobachtet werden (51). Eine mögliche Verbindung zwischen Flussalteration, Apoptose und Inflammation bietet in diesem Kontext die Aktivierung des Toll-like Rezeptors 2 (TLR2). Mullick et al. konnten im Mausmodell zeigen, dass die Expression von TLR2 in Gefäßabschnitten mit alterierten Flussbedingungen deutlich erhöht war (52). Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die Stimulation von TLR2 zur Rekrutierung von Neutrophilen Granulozyten und zur Apoptose von Endothelzellen führte (53). In humanen Carotis Plaques zeigte sich zudem eine erhöhte Expression von TLR2 in erodierten Plaques (53). Ein TLR2 knock-out hingegen führte zur Induktion atheroprotektiver Mechanismen (54). Eine durch Flussalterationen induzierte Aktivierung von TLR2 mit konsekutiver Rekrutierung von Neutrophilen und endothelialer Apoptose wird daher als thrombotischer Trigger Faktor in akuten Koronarsyndromen mit intakten Plaquekappen gesehen. In einer der Substudien des OPTICO-ACS Registers konnten wir diesen Mechanismus *in vivo* reproduzieren. So zeigte sich in Patient:innen mit IFC-ACS eine deutlich höhere Expression von TLR2. Im Flussmodell konnten wir zudem eine höhere TLR2-Expression durch die Induktion eines turbulenten Flusses provozieren (55). Zudem konnte in einer weiteren Substudie des Registers gezeigt werden, dass Plaqueeosionen eine räumliche Beziehung zu Gabelstellen des Gefäßsystems (alterierter Fluss) aufwiesen, während dieser Zusammenhang für Plaquerupturen nicht nachgewiesen werden konnte (27). Anhand der OPTICO-ACS Studie konnte somit *in vivo* ein Zusammenhang zwischen lokaler Flussalteration, Inflammation und Plaqueeosion hergestellt werden.

Zusammenfassend ergibt sich ein komplexer, teils reziproker Zusammenhang zwischen Inflammation, Plaquebiomechanik und Plaquestabilisierung. Das OPTICO-ACS Studienregister hat die Zielsetzung verfolgt, die in der Grundlagenwissenschaft beschriebenen

Beobachtungen *in vivo* zu untersuchen. Die vorliegende Arbeit und weitere Untersuchungen des Registers konnten einen Teil der *in vitro* beobachteten Vorgänge belegen und in Zusammenhang mit klinischen Patientencharakteristika und bildmorphologischen Strukturen bringen und somit zum Verständnis grundlegender Pathomechanismen im ACS beitragen.

#### **4.6 Translationale Perspektive – die OCT zur Optimierung der Risikostratifizierung und Sekundärprophylaxe**

Wie bereits oben erwähnt, ist die inflammatorische Komponente der KHK innerhalb der letzten Jahrzehnte zunehmend in den Fokus gerückt. Höhere CRP- und IL-6-Werte wurden bereits Anfang der 2000er Jahre als unabhängige Prädiktoren für kardiale UEs identifiziert (56). Histopathologisch ließ sich auch belegen, dass eine Entzündungsreaktion in der Gefäßwand ein wichtiges Merkmal instabiler Plaques ist (10, 23). Ridker et al. konnten zeigen, dass Patient:innen mit höherem CRP und IL-6 auch unter optimaler Sekundärprävention im Beobachtungs-Zeitraum nach ACS eine schlechtere Prognose haben (57). Des Weiteren wurde der Effekt anti-inflammatorischer Medikamente auf Patient:innen mit KHK in groß angelegten, klinischen Studien untersucht. In der „Cardiovascular Inflammation Reduction Trial“ wurde der Effekt einer niedrig dosierten Methothrexat (MTX) Therapie in Patienten mit stabiler KHK und Diabetes untersucht. Es ergab sich kein relevanter, prognostischer Vorteil und auch kein Hinweis auf eine reduzierte Entzündungsaktivität in der mit MTX behandelten Gruppe. Allerdings sah man in der MTX-Gruppe einen deutlichen Anstieg der Leber-Enzyme, sowie ein häufigeres Auftreten von Hautkrebs (20). In der CANTOS Studie (Canakinumab Antiinflammatory Thrombosis Outcomes Study) konnte hingegen nach ACS gezeigt werden, dass Patienten mit erhöhtem Baseline-CRP von einer Canakinumab (anti-IL-1 $\beta$ ) Therapie profitieren können. Es zeigte sich eine signifikante Reduktion des primären Endpunktes (Myokardinfarkt, kardiovaskulärer Tod, Schlaganfall) in der mit Canakinumab behandelten Gruppe im Vergleich zur Placebo Gruppe. In der Behandlungsgruppe zeigte sich jedoch auch ein höheres Auftreten schwerer Infektionen (19).

Die Ergebnisse der beiden Studien veranschaulichen sehr gut, dass gezielte, anti-inflammatorische Therapien in der Behandlung nach ACS in Zukunft einen höheren Stel-

lenwert einnehmen könnten. Eine adäquate Patientenselektion ist jedoch ein ausschlaggebendes Kriterium für den Erfolg anti-inflammatorischer Therapien, da diese mit potenziell schwerwiegenden Nebenwirkungen assoziiert sind. In den letzten Jahren hat die Präzisionsmedizin einen immer höheren Stellenwert in der Forschung eingenommen. Hierbei geht es maßgeblich darum, dem richtigen Patienten die richtige Therapie zum richtigen Zeitpunkt zuzuführen und den Therapieerfolg in regelmäßigen Zeitintervallen zu evaluieren und die Therapie ggf. entsprechend anzupassen (58). Dieses Konzept steht im Gegensatz zum herkömmlichen „one size fits all“. Die Präzisionsmedizin hat bereits einen wichtigen Platz bei Koronarinterventionen eingenommen. So werden komplexe Läsionen heutzutage immer häufiger mit Hilfe intravaskulärer Bildgebungsmethoden interveniert, um die Läsion vor Intervention adäquat einschätzen und ggf. vorbereiten zu können (7). Stent Diameter und – Länge werden anhand der Bildmessungen gewählt. Eine adäquate Platzierung und Entfaltung des Stents kann postinterventionell geprüft werden, das Ergebnis bei Bedarf z.B. mittels Nachdilatation angepasst werden (5). Darüber hinaus kann die bildmorphologische Identifizierung von Hochrisiko Strukturen in Zukunft dabei helfen besonders gefährdete Patienten zu identifizieren und ggf. eine noch strengere Sekundärprophylaxe durchzuführen. Der Zusammenhang zwischen Hochrisiko Struktur und inflammatorischer Aktivität könnte in Zukunft den Einsatz anti-inflammatorischer Therapien in einem besonders vulnerablen Patienten-Kollektiv rechtfertigen (59). In der vorliegenden Arbeit wurde eine solche Hochrisiko Struktur identifiziert. Es werden definitiv weitere, größer angelegte Studien erforderlich sein, bis eine optimal an, den/die Patient:in angepasste, anti-inflammatorische Therapie Einzug in den klinischen Alltag findet. Dennoch trägt die vorliegende Arbeit zum Verständnis der KHK und der Entwicklung anti-inflammatorischer, sekundärprophylaktischer Therapien bei (26).

#### 4.7 Stärken und Schwächen der Studie

Eine der Hauptstärken dieser Studie liegt im translationalen Design. So wurde die simultane Charakterisierung der Plaque-Morphologie und immunologische Charakterisierung der direkten Plaqueumgebung ermöglicht. Dies erlaubte es, mögliche Zusammenhänge zwischen Plaquestruktur und Inflammation *in vivo* zu untersuchen. Eine weitere Stärke der Studie bestand in der Qualität der Bildgebung. Laut OCT-Konsensus ermöglicht die OCT eine sichere Identifizierung und Charakterisierung der Kalzifizierung *in vivo* (1). Alternative Bildgebungsmodalitäten, wie z.B. die Computer-Tomographie ermöglichen zwar auch eine Kalkbestimmung, spielen in der akuten Behandlungssituation jedoch eine eher untergeordnete Rolle. Zudem kann die Bildqualität der CT deutlich durch vorbestehende, große Kalzifizierungen eingeschränkt sein (60, 61). Trotz der Vorteile der OCT gegenüber der CT, hat auch diese Einschränkungen. So kann die Penetrationstiefe der OCT-Strahlen durch Thromben über der Plaque deutlich reduziert werden. Dadurch ergibt sich eine reduzierte Bildqualität der Plaque unter Thromben (1, 31). Dieses Phänomen hat in der aktuellen Studie zu einer hohen Ausschlussrate suboptimaler OCT-Bilder und möglicherweise zu einer Selektions-Bias geführt. Auf der anderen Seite hat die hohe Ausschlussrate suboptimaler Bilder gleichzeitig eine zuverlässigere Bildevaluation ermöglicht. Eine weitere Stärke der Studie war die bereits oben beschriebene Methode der Probengewinnung. Lokales Blut wurde aus der unmittelbaren Plaqueumgebung entnommen. Diese Herangehensweise zielte darauf ab, die direkte Plaqueumgebung möglichst unverfälscht widerzuspiegeln und somit Rückschlüsse auf die inflammatorischen Vorgänge in der Plaque zu ermöglichen. Letztlich lässt sich jedoch auch anhand dieser Herangehensweise nicht bestimmen, ob die gemessenen, inflammatorischen Vorgänge Folge oder Ursache des ACS sind. Auch haben sich nicht alle Patient:innen im selben Zeitfenster nach Schmerzbeginn vorgestellt, sodass hierdurch auch Messabweichungen entstanden sein könnten. Insgesamt lässt sich anhand der vorliegenden Studie kein kausaler Zusammenhang der Beobachtungen herleiten. Hierzu sind in Zukunft weitere Studien nötig. Als letzte Schwäche bleibt der verkürzte Nachbeobachtungs-Zeitraum zu nennen. Die OPTICO-ACS Studie wurde auf einen Follow-Up Zeitraum von 2 Jahren angelegt. Die aktuelle Prä-Analyse nach einem Jahr hat die statistische Aussagekraft der vorliegenden Studie geschwächt. In diesem Kontext ist jedoch wichtig zu erwähnen, dass die vorliegenden Ergebnisse im Einklang mit vorherigen, CT-basierten Studien in KHK-Patient:innen stehen (26, 37).



## **5 Schlussfolgerungen**

In der vorliegenden Arbeit konnte ein Zusammenhang zwischen SCD – einer prognostisch relevanten Hochrisiko Plaquestruktur – sowie Zellen und Zytokinen der angeborenen Immunantwort im ACS hergestellt werden. Die gewonnenen Erkenntnisse könnten somit in Zukunft bei der Risiko-Stratifizierung und Anpassung einer anti-inflammatorischen Sekundärprophylaxe nach ACS helfen (26).

## Literaturverzeichnis

1. Tearney GJ, Regar E, Akasaka T, Adriaenssens T, Barlis P, Bezerra HG, Bouma B, Bruining N, Cho JM, Chowdhary S, Costa MA, de Silva R, Dijkstra J, Di Mario C, Dudek D, Falk E, Feldman MD, Fitzgerald P, Garcia-Garcia HM, Gonzalo N, Granada JF, Guagliumi G, Holm NR, Honda Y, Ikeno F, Kawasaki M, Kochman J, Koltowski L, Kubo T, Kume T, Kyono H, Lam CC, Lamouche G, Lee DP, Leon MB, Maehara A, Manfrini O, Mintz GS, Mizuno K, Morel MA, Nadkarni S, Okura H, Otake H, Pietrasik A, Prati F, Räber L, Radu MD, Rieber J, Riga M, Rollins A, Rosenberg M, Sirbu V, Serruys PW, Shimada K, Shinke T, Shite J, Siegel E, Sonoda S, Suter M, Takarada S, Tanaka A, Terashima M, Thim T, Uemura S, Ughi GJ, van Beusekom HM, van der Steen AF, van Es GA, van Soest G, Virmani R, Waxman S, Weissman NJ, Weisz G. Consensus standards for acquisition, measurement, and reporting of intravascular optical coherence tomography studies: a report from the International Working Group for Intravascular Optical Coherence Tomography Standardization and Validation. *J Am Coll Cardiol*. 2012 Mar 20;**59**(12):1058-72. PubMed PMID: 22421299. Epub 2012/03/17. eng.
2. Mintz GS, Nissen SE, Anderson WD, Bailey SR, Erbel R, Fitzgerald PJ, Pinto FJ, Rosenfield K, Siegel RJ, Tuzcu EM, Yock PG. American College of Cardiology Clinical Expert Consensus Document on Standards for Acquisition, Measurement and Reporting of Intravascular Ultrasound Studies (IVUS). A report of the American College of Cardiology Task Force on Clinical Expert Consensus Documents. *J Am Coll Cardiol*. 2001 Apr;**37**(5):1478-92. PubMed PMID: 11300468. Epub 2001/04/13. eng.
3. Hemetsberger R, Gori T, Toelg R, Byrne R, Allali A, El-Mawardy M, Rheude T, Weissner M, Sulimov DS, Robinson DR, Richardt G, Abdel-Wahab M. Optical Coherence Tomography Assessment in Patients Treated With Rotational Atherectomy Versus Modified Balloons: PREPARE-CALC OCT. *Circ Cardiovasc Interv*. 2021 Mar;**14**(3):e009819. PubMed PMID: 33641372. Epub 2021/03/02. eng.
4. Räber L, Mintz GS, Koskinas KC, Johnson TW, Holm NR, Onuma Y, Radu MD, Joner M, Yu B, Jia H, Meneveau N, de la Torre Hernandez JM, Escaned J, Hill J, Prati F, Colombo A, di Mario C, Regar E, Capodanno D, Wijns W, Byrne RA, Guagliumi G. Clinical use of intracoronary imaging. Part 1: guidance and optimization of coronary interventions. An expert consensus document of the European Association of Percutaneous Cardiovascular Interventions. *Eur Heart J*. 2018 Sep 14;**39**(35):3281-300. PubMed PMID: 29790954. Epub 2018/05/24. eng.
5. Leistner DM, Riedel M, Steinbeck L, Stähli BE, Fröhlich GM, Lauten A, Skurk C, Mochmann HC, Lübking L, Rauch-Kröhnert U, Schnabel RB, Westermann D, Blankenberg S, Landmesser U. Real-time optical coherence tomography coregistration with angiography in percutaneous coronary intervention-impact on physician decision-making: The OPTICO-integration study. *Catheter Cardiovasc Interv*. 2018 Jul;**92**(1):30-7. PubMed PMID: 28940997. Epub 2017/09/25. eng.
6. Jia H, Dai J, Hou J, Xing L, Ma L, Liu H, Xu M, Yao Y, Hu S, Yamamoto E, Lee H, Zhang S, Yu B, Jang IK. Effective anti-thrombotic therapy without stenting: intravascular optical coherence tomography-based management in plaque erosion (the EROSION study). *Eur Heart J*. 2017 Mar 14;**38**(11):792-800. PubMed PMID: 27578806. Epub 2016/09/01. eng.
7. Lee JM, Choi KH, Song YB, Lee JY, Lee SJ, Lee SY, Kim SM, Yun KH, Cho JY, Kim CJ, Ahn HS, Nam CW, Yoon HJ, Park YH, Lee WS, Jeong JO, Song PS, Doh JH, Jo SH, Yoon CH, Kang MG, Koh JS, Lee KY, Lim YH, Cho YH, Cho JM, Jang WJ, Chun KJ, Hong D, Park TK, Yang JH, Choi SH, Gwon HC, Hahn JY. Intravascular Imaging-

Guided or Angiography-Guided Complex PCI. *N Engl J Med*. 2023 May 4;**388**(18):1668-79. PubMed PMID: 36876735. Epub 2023/03/07. eng.

8. Araki M, Park SJ, Dauerman HL, Uemura S, Kim JS, Di Mario C, Johnson TW, Guagliumi G, Kastrati A, Joner M, Holm NR, Alfonso F, Wijns W, Adriaenssens T, Nef H, Rioufol G, Amabile N, Souteyrand G, Meneveau N, Gerbaud E, Opolski MP, Gonzalo N, Tearney GJ, Bouma B, Aguirre AD, Mintz GS, Stone GW, Bourantas CV, Räber L, Gili S, Mizuno K, Kimura S, Shinke T, Hong MK, Jang Y, Cho JM, Yan BP, Porto I, Niccoli G, Montone RA, Thondapu V, Papafaklis MI, Michalis LK, Reynolds H, Saw J, Libby P, Weisz G, Iannaccone M, Gori T, Toutouzas K, Yonetsu T, Minami Y, Takano M, Raffel OC, Kurihara O, Soeda T, Sugiyama T, Kim HO, Lee T, Higuma T, Nakajima A, Yamamoto E, Bryniarski KL, Di Vito L, Vergallo R, Fracassi F, Russo M, Seegers LM, McNulty I, Park S, Feldman M, Escaned J, Prati F, Arbustini E, Pinto FJ, Waksman R, Garcia-Garcia HM, Maehara A, Ali Z, Finn AV, Virmani R, Kini AS, Daemen J, Kume T, Hibi K, Tanaka A, Akasaka T, Kubo T, Yasuda S, Croce K, Granada JF, Lerman A, Prasad A, Regar E, Saito Y, Sankardas MA, Subban V, Weissman NJ, Chen Y, Yu B, Nicholls SJ, Barlis P, West NEJ, Arbab-Zadeh A, Ye JC, Dijkstra J, Lee H, Narula J, Crea F, Nakamura S, Kakuta T, Fujimoto J, Fuster V, Jang IK. Optical coherence tomography in coronary atherosclerosis assessment and intervention. *Nat Rev Cardiol*. 2022 Oct;**19**(10):684-703. PubMed PMID: 35449407. Pubmed Central PMCID: PMC9982688. Epub 2022/04/23. eng.

9. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, Fuster V, Glagov S, Insull W, Jr., Rosenfeld ME, Schwartz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995 Sep 1;**92**(5):1355-74. PubMed PMID: 7648691. Epub 1995/09/01. eng.

10. Virmani R, Kolodgie FD, Burke AP, Farb A, Schwartz SM. Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000 May;**20**(5):1262-75. PubMed PMID: 10807742. Epub 2000/05/16. eng.

11. Burke AP, Farb A, Malcom GT, Liang YH, Smialek J, Virmani R. Coronary risk factors and plaque morphology in men with coronary disease who died suddenly. *N Engl J Med*. 1997 May 1;**336**(18):1276-82. PubMed PMID: 9113930. Epub 1997/05/01. eng.

12. Ehara S, Kobayashi Y, Yoshiyama M, Shimada K, Shimada Y, Fukuda D, Nakamura Y, Yamashita H, Yamagishi H, Takeuchi K, Naruko T, Haze K, Becker AE, Yoshikawa J, Ueda M. Spotty calcification typifies the culprit plaque in patients with acute myocardial infarction: an intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2004 Nov 30;**110**(22):3424-9. PubMed PMID: 15557374. Epub 2004/11/24. eng.

13. Mizukoshi M, Kubo T, Takarada S, Kitabata H, Ino Y, Tanimoto T, Komukai K, Tanaka A, Imanishi T, Akasaka T. Coronary superficial and spotty calcium deposits in culprit coronary lesions of acute coronary syndrome as determined by optical coherence tomography. *Am J Cardiol*. 2013 Jul 1;**112**(1):34-40. PubMed PMID: 23540654. Epub 2013/04/02. eng.

14. Kataoka Y, Puri R, Hammadah M, Duggal B, Uno K, Kapadia SR, Tuzcu EM, Nissen SE, Nicholls SJ. Spotty calcification and plaque vulnerability in vivo: frequency-domain optical coherence tomography analysis. *Cardiovasc Diagn Ther*. 2014 Dec;**4**(6):460-9. PubMed PMID: 25610803. Pubmed Central PMCID: PMC4278040. Epub 2015/01/23. eng.

15. Sakaguchi M, Hasegawa T, Ehara S, Matsumoto K, Mizutani K, Iguchi T, Ishii H, Nakagawa M, Shimada K, Yoshiyama M. New insights into spotty calcification and plaque

- rupture in acute coronary syndrome: an optical coherence tomography study. *Heart Vessels*. 2016 Dec;**31**(12):1915-22. PubMed PMID: 26945869. Epub 2016/03/08. eng.
16. Motoyama S, Kondo T, Sarai M, Sugiura A, Harigaya H, Sato T, Inoue K, Okumura M, Ishii J, Anno H, Virmani R, Ozaki Y, Hishida H, Narula J. Multislice computed tomographic characteristics of coronary lesions in acute coronary syndromes. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Jul 24;**50**(4):319-26. PubMed PMID: 17659199. Epub 2007/07/31. eng.
17. Burke AP, Weber DK, Kolodgie FD, Farb A, Taylor AJ, Virmani R. Pathophysiology of calcium deposition in coronary arteries. *Herz*. 2001 Jun;**26**(4):239-44. PubMed PMID: 11479935. Epub 2001/08/02. eng.
18. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997 Apr 3;**336**(14):973-9. PubMed PMID: 9077376. Epub 1997/04/03. eng.
19. Ridker PM, Everett BM, Thuren T, MacFadyen JG, Chang WH, Ballantyne C, Fonseca F, Nicolau J, Koenig W, Anker SD, Kastelein JJP, Cornel JH, Pais P, Pella D, Genest J, Cifkova R, Lorenzatti A, Forster T, Kobalava Z, Vida-Simiti L, Flather M, Shimokawa H, Ogawa H, Dellborg M, Rossi PRF, Troquay RPT, Libby P, Glynn RJ. Antiinflammatory Therapy with Canakinumab for Atherosclerotic Disease. *N Engl J Med*. 2017 Sep 21;**377**(12):1119-31. PubMed PMID: 28845751. Epub 2017/08/29. eng.
20. Ridker PM, Everett BM, Pradhan A, MacFadyen JG, Solomon DH, Zaharris E, Mam V, Hasan A, Rosenberg Y, Iturriaga E, Gupta M, Tsigoulis M, Verma S, Clearfield M, Libby P, Goldhaber SZ, Seagle R, Ofori C, Saklayen M, Butman S, Singh N, Le May M, Bertrand O, Johnston J, Paynter NP, Glynn RJ. Low-Dose Methotrexate for the Prevention of Atherosclerotic Events. *N Engl J Med*. 2019 Feb 21;**380**(8):752-62. PubMed PMID: 30415610. Pubmed Central PMCID: PMC6587584. Epub 2018/11/13. eng.
21. Poole JC, Florey HW. Changes in the endothelium of the aorta and the behaviour of macrophages in experimental atheroma of rabbits. *J Pathol Bacteriol*. 1958 Apr;**75**(2):245-51. PubMed PMID: 13576305. Epub 1958/04/01. eng.
22. Farb A, Burke AP, Tang AL, Liang TY, Mannan P, Smialek J, Virmani R. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core. A frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation*. 1996 Apr 1;**93**(7):1354-63. PubMed PMID: 8641024. Epub 1996/04/01. eng.
23. Shah PK, Falk E, Badimon JJ, Fernandez-Ortiz A, Mailhac A, Villareal-Levy G, Fallon JT, Regnstrom J, Fuster V. Human monocyte-derived macrophages induce collagen breakdown in fibrous caps of atherosclerotic plaques. Potential role of matrix-degrading metalloproteinases and implications for plaque rupture. *Circulation*. 1995 Sep 15;**92**(6):1565-9. PubMed PMID: 7664441. Epub 1995/09/15. eng.
24. Tintut Y, Patel J, Territo M, Saini T, Parhami F, Demer LL. Monocyte/macrophage regulation of vascular calcification in vitro. *Circulation*. 2002 Feb 5;**105**(5):650-5. PubMed PMID: 11827934. Epub 2002/02/06. eng.
25. Li G, Qiao W, Zhang W, Li F, Shi J, Dong N. The shift of macrophages toward M1 phenotype promotes aortic valvular calcification. *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2017 Jun;**153**(6):1318-27.e1. PubMed PMID: 28283241. Epub 2017/03/12. eng.
26. Nelles G, Abdelwahed YS, Alyaqoob A, Seppelt C, Stähli BE, Meteva D, Kränkel N, Haghikia A, Skurk C, Dreger H, Knebel F, Trippel TD, Krisper M, Sieronski L, Gerhardt T, Zanders L, Klotsche J, Landmesser U, Joner M, Leistner DM. Spotty calcium deposits within acute coronary syndrome (ACS)-causing culprit lesions impact inflammatory vessel-wall interactions and are associated with higher cardiovascular event rates at one year follow-up: Results from the prospective translational OPTICO-ACS study program. *Atherosclerosis*. 2023 Nov;**385**:117284. PubMed PMID: 37871405. Epub 2023/10/24. eng.

27. Leistner DM, Kränkel N, Meteva D, Abdelwahed YS, Seppelt C, Stähli BE, Rai H, Skurk C, Lauten A, Mochmann HC, Fröhlich G, Rauch-Kröhnert U, Flores E, Riedel M, Sieronski L, Kia S, Strässler E, Haghikia A, Dirks F, Steiner JK, Mueller DN, Volk HD, Klotsche J, Joner M, Libby P, Landmesser U. Differential immunological signature at the culprit site distinguishes acute coronary syndrome with intact from acute coronary syndrome with ruptured fibrous cap: results from the prospective translational OPTICO-ACS study. *Eur Heart J*. 2020 Oct 1;**41**(37):3549-60. PubMed PMID: 33080003. Pubmed Central PMCID: PMC7780480. Epub 2020/10/21. eng.
28. Roffi M, Patrono C, Collet JP, Mueller C, Valgimigli M, Andreotti F, Bax JJ, Borger MA, Brotons C, Chew DP, Gencer B, Hasenfuss G, Kjeldsen K, Lancellotti P, Landmesser U, Mehilli J, Mukherjee D, Storey RF, Windecker S. 2015 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: Task Force for the Management of Acute Coronary Syndromes in Patients Presenting without Persistent ST-Segment Elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2016 Jan 14;**37**(3):267-315. PubMed PMID: 26320110. Epub 2015/09/01. eng.
29. Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Blömostrom-Lundqvist C, Borger MA, Di Mario C, Dickstein K, Ducrocq G, Fernandez-Aviles F, Gershlick AH, Giannuzzi P, Halvorsen S, Huber K, Juni P, Kastrati A, Knuuti J, Lenzen MJ, Mahaffey KW, Valgimigli M, van 't Hof A, Widimsky P, Zahger D. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J*. 2012 Oct;**33**(20):2569-619. PubMed PMID: 22922416. Epub 2012/08/28. eng.
30. Prati F, Regar E, Mintz GS, Arbustini E, Di Mario C, Jang IK, Akasaka T, Costa M, Guagliumi G, Grube E, Ozaki Y, Pinto F, Serruys PW. Expert review document on methodology, terminology, and clinical applications of optical coherence tomography: physical principles, methodology of image acquisition, and clinical application for assessment of coronary arteries and atherosclerosis. *Eur Heart J*. 2010 Feb;**31**(4):401-15. PubMed PMID: 19892716. Epub 2009/11/07. eng.
31. Abdelwahed YS, Nelles G, Frick C, Seppelt C, Meteva D, Stähli BE, Rai H, Riedel M, Skurk C, Rauch-Kröhnert U, Haghikia A, Sinning D, Dreger H, Knebel F, Trippel T, Krisper M, Klotsche J, Joner M, Landmesser U, Leistner DM. Coexistence of calcified- and lipid-containing plaque components and their association with incidental rupture points in acute coronary syndrome-causing culprit lesions: results from the prospective OPTICO-ACS study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2022 Nov 17;**23**(12):1598-605. PubMed PMID: 34904655. Epub 2021/12/15. eng.
32. Ong DS, Lee JS, Soeda T, Higuma T, Minami Y, Wang Z, Lee H, Yokoyama H, Yokota T, Okumura K, Jang IK. Coronary Calcification and Plaque Vulnerability: An Optical Coherence Tomographic Study. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2016 Jan;**9**(1). PubMed PMID: 26743463. Epub 2016/01/09. eng.
33. França CN, Izar MCO, Hortêncio MNS, do Amaral JB, Ferreira CES, Tuleta ID, Fonseca FAH. Monocyte subtypes and the CCR2 chemokine receptor in cardiovascular disease. *Clin Sci (Lond)*. 2017 Jun 1;**131**(12):1215-24. PubMed PMID: 28566450. Epub 2017/06/02. eng.
34. Cutlip DE, Windecker S, Mehran R, Boam A, Cohen DJ, van Es GA, Steg PG, Morel MA, Mauri L, Vranckx P, McFadden E, Lansky A, Hamon M, Krucoff MW, Serruys PW. Clinical end points in coronary stent trials: a case for standardized definitions. *Circulation*. 2007 May 1;**115**(17):2344-51. PubMed PMID: 17470709. Epub 2007/05/02. eng.

35. De Rosa S, Fichtlscherer S, Lehmann R, Assmus B, Dimmeler S, Zeiher AM. Transcoronary concentration gradients of circulating microRNAs. *Circulation*. 2011 Nov 1;**124**(18):1936-44. PubMed PMID: 21969012. Epub 2011/10/05. eng.
36. Mangold A, Hofbauer TM, Ondracek AS, Artner T, Scherz T, Speidl WS, Krychtiuk KA, Sadushi-Kolici R, Jakowitsch J, Lang IM. Neutrophil extracellular traps and monocyte subsets at the culprit lesion site of myocardial infarction patients. *Sci Rep*. 2019 Nov 8;**9**(1):16304. PubMed PMID: 31704966. Pubmed Central PMCID: PMC6841683. Epub 2019/11/11. eng.
37. Yamamoto H, Kihara Y, Kitagawa T, Ohashi N, Kunita E, Iwanaga Y, Kobuke K, Miyazaki S, Kawasaki T, Fujimoto S, Daida H, Fujii T, Sato A, Okimoto T, Kuribayashi S. Coronary plaque characteristics in computed tomography and 2-year outcomes: The PREDICT study. *J Cardiovasc Comput Tomogr*. 2018 Sep-Oct;**12**(5):436-43. PubMed PMID: 30017608. Epub 2018/07/19. eng.
38. Williams MC, Moss AJ, Dweck M, Adamson PD, Alam S, Hunter A, Shah ASV, Pawade T, Weir-McCall JR, Roditi G, van Beek EJ, Newby DE, Nicol ED. Coronary Artery Plaque Characteristics Associated With Adverse Outcomes in the SCOT-HEART Study. *J Am Coll Cardiol*. 2019 Jan 29;**73**(3):291-301. PubMed PMID: 30678759. Pubmed Central PMCID: PMC6342893. Epub 2019/01/27. eng.
39. Tintut Y, Patel J, Parhami F, Demer LL. Tumor necrosis factor-alpha promotes in vitro calcification of vascular cells via the cAMP pathway. *Circulation*. 2000 Nov 21;**102**(21):2636-42. PubMed PMID: 11085968. Epub 2000/11/22. eng.
40. Nadra I, Mason JC, Philippidis P, Florey O, Smythe CD, McCarthy GM, Landis RC, Haskard DO. Proinflammatory activation of macrophages by basic calcium phosphate crystals via protein kinase C and MAP kinase pathways: a vicious cycle of inflammation and arterial calcification? *Circ Res*. 2005 Jun 24;**96**(12):1248-56. PubMed PMID: 15905460. Epub 2005/05/21. eng.
41. Rogacev KS, Seiler S, Zawada AM, Reichart B, Herath E, Roth D, Ulrich C, Fliser D, Heine GH. CD14++CD16+ monocytes and cardiovascular outcome in patients with chronic kidney disease. *Eur Heart J*. 2011 Jan;**32**(1):84-92. PubMed PMID: 20943670. Epub 2010/10/15. eng.
42. Li ZY, Howarth S, Trivedi RA, JM UK-I, Graves MJ, Brown A, Wang L, Gillard JH. Stress analysis of carotid plaque rupture based on in vivo high resolution MRI. *J Biomech*. 2006;**39**(14):2611-22. PubMed PMID: 16256124. Epub 2005/11/01. eng.
43. Davies MJ, Richardson PD, Woolf N, Katz DR, Mann J. Risk of thrombosis in human atherosclerotic plaques: role of extracellular lipid, macrophage, and smooth muscle cell content. *Br Heart J*. 1993 May;**69**(5):377-81. PubMed PMID: 8518056. Pubmed Central PMCID: PMC1025095. Epub 1993/05/01. eng.
44. Cheng GC, Loree HM, Kamm RD, Fishbein MC, Lee RT. Distribution of circumferential stress in ruptured and stable atherosclerotic lesions. A structural analysis with histopathological correlation. *Circulation*. 1993 Apr;**87**(4):1179-87. PubMed PMID: 8462145. Epub 1993/04/01. eng.
45. Loree HM, Kamm RD, Stringfellow RG, Lee RT. Effects of fibrous cap thickness on peak circumferential stress in model atherosclerotic vessels. *Circ Res*. 1992 Oct;**71**(4):850-8. PubMed PMID: 1516158. Epub 1992/10/01. eng.
46. Luo Y, Cui D, Yu X, Chen S, Liu X, Tang H, Wang X, Liu L. Modeling of Mechanical Stress Exerted by Cholesterol Crystallization on Atherosclerotic Plaques. *PLoS One*. 2016;**11**(5):e0155117. PubMed PMID: 27149381. Pubmed Central PMCID: PMC4858299. Epub 2016/05/07. eng.
47. Abela GS, Aziz K, Vedre A, Pathak DR, Talbott JD, Dejong J. Effect of cholesterol crystals on plaques and intima in arteries of patients with acute coronary and

- cerebrovascular syndromes. *Am J Cardiol.* 2009 Apr 1;**103**(7):959-68. PubMed PMID: 19327423. Epub 2009/03/31. eng.
48. Nelles G, Abdelwahed YS, Seppelt C, Meteva D, Stähli BE, Rai H, Seegers LM, Sieronski L, Musfeldt J, Gerhardt T, Riedel M, Skurk C, Haghikia A, Sinning D, Dreger H, Knebel F, Trippel TD, Krisper M, Klotsche J, Joner M, Landmesser U, Leistner DM. Cholesterol crystals at the culprit lesion in patients with acute coronary syndrome are associated with worse cardiovascular outcomes at two years follow up - results from the translational OPTICO-ACS study program (R2). *Int J Cardiol.* 2023 Dec 21:131665. PubMed PMID: 38141724. Epub 2023/12/24. eng.
49. Buffinton CM, Ebenstein DM. Effect of Calcification Modulus and Geometry on Stress in Models of Calcified Atherosclerotic Plaque. *Cardiovascular Engineering and Technology.* 2014 2014/09/01;**5**(3):244-60.
50. Durand E, Scoazec A, Lafont A, Boddaert J, Al Hajzen A, Addad F, Mirshahi M, Desnos M, Tedgui A, Mallat Z. In vivo induction of endothelial apoptosis leads to vessel thrombosis and endothelial denudation: a clue to the understanding of the mechanisms of thrombotic plaque erosion. *Circulation.* 2004 Jun 1;**109**(21):2503-6. PubMed PMID: 15148270. Epub 2004/05/19. eng.
51. Tricot O, Mallat Z, Heymes C, Belmin J, Lesèche G, Tedgui A. Relation between endothelial cell apoptosis and blood flow direction in human atherosclerotic plaques. *Circulation.* 2000 May 30;**101**(21):2450-3. PubMed PMID: 10831515. Epub 2000/06/01. eng.
52. Mullick AE, Soldau K, Kiosses WB, Bell TA, 3rd, Tobias PS, Curtiss LK. Increased endothelial expression of Toll-like receptor 2 at sites of disturbed blood flow exacerbates early atherogenic events. *J Exp Med.* 2008 Feb 18;**205**(2):373-83. PubMed PMID: 18250194. Pubmed Central PMCID: PMC2271019. Epub 2008/02/06. eng.
53. Quillard T, Araújo HA, Franck G, Shvartz E, Sukhova G, Libby P. TLR2 and neutrophils potentiate endothelial stress, apoptosis and detachment: implications for superficial erosion. *Eur Heart J.* 2015 Jun 7;**36**(22):1394-404. PubMed PMID: 25755115. Pubmed Central PMCID: PMC4458287. Epub 2015/03/11. eng.
54. Favre J, Musette P, Douin-Echinard V, Laude K, Henry JP, Arnal JF, Thuillez C, Richard V. Toll-like receptors 2-deficient mice are protected against postischemic coronary endothelial dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2007 May;**27**(5):1064-71. PubMed PMID: 17332486. Epub 2007/03/03. eng.
55. Meteva D, Vinci R, Seppelt C, Abdelwahed YS, Pedicino D, Nelles G, Skurk C, Haghikia A, Rauch-Kröhnert U, Gerhardt T, Straessler E, Zhao Y, Golla F, Joner M, Rai H, Kratzer A, Arnal HG, Liuzzo G, Klotsche J, Crea F, Landmesser U, Leistner DM, Kränkel N. Toll-like receptor 2, hyaluronan, and neutrophils play a key role in plaque erosion: the OPTICO-ACS study. *Eur Heart J.* 2023 Oct 12;**44**(38):3892-907. PubMed PMID: 37381760. Epub 2023/06/29. eng.
56. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med.* 2000 Mar 23;**342**(12):836-43. PubMed PMID: 10733371. Epub 2000/03/25. eng.
57. Ridker PM, MacFadyen JG, Glynn RJ, Bradwin G, Hasan AA, Rifai N. Comparison of interleukin-6, C-reactive protein, and low-density lipoprotein cholesterol as biomarkers of residual risk in contemporary practice: secondary analyses from the Cardiovascular Inflammation Reduction Trial. *Eur Heart J.* 2020 Aug 14;**41**(31):2952-61. PubMed PMID: 32221587. Pubmed Central PMCID: PMC7453833. Epub 2020/03/30. eng.
58. Schork NJ. Personalized medicine: Time for one-person trials. *Nature.* 2015 Apr 30;**520**(7549):609-11. PubMed PMID: 25925459. Epub 2015/05/01. eng.

59. Prati F, Romagnoli E, Gatto L, La Manna A, Burzotta F, Ozaki Y, Marco V, Boi A, Fineschi M, Fabbicocchi F, Taglieri N, Niccoli G, Trani C, Versaci F, Calligaris G, Ruscica G, Di Giorgio A, Vergallo R, Albertucci M, Biondi-Zoccai G, Tamburino C, Crea F, Alfonso F, Arbustini E. Relationship between coronary plaque morphology of the left anterior descending artery and 12 months clinical outcome: the CLIMA study. *Eur Heart J.* 2020 Jan 14;**41**(3):383-91. PubMed PMID: 31504405. Epub 2019/09/11. eng.
60. Collet JP, Thiele H, Barbato E, Barthélémy O, Bauersachs J, Bhatt DL, Dendale P, Dorobantu M, Edvardsen T, Folliguet T, Gale CP, Gilard M, Jobs A, Jüni P, Lambrinou E, Lewis BS, Mehilli J, Meliga E, Merkely B, Mueller C, Roffi M, Rutten FH, Sibbing D, Siontis GCM. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2021 Apr 7;**42**(14):1289-367. PubMed PMID: 32860058. Epub 2020/08/30. eng.
61. Knuuti J, Wijns W, Saraste A, Capodanno D, Barbato E, Funck-Brentano C, Prescott E, Storey RF, Deaton C, Cuisset T, Agewall S, Dickstein K, Edvardsen T, Escaned J, Gersh BJ, Svitil P, Gilard M, Hasdai D, Hatala R, Mahfoud F, Masip J, Muneretto C, Valgimigli M, Achenbach S, Bax JJ. 2019 ESC Guidelines for the diagnosis and management of chronic coronary syndromes. *Eur Heart J.* 2020 Jan 14;**41**(3):407-77. PubMed PMID: 31504439. Epub 2019/09/11. eng.



## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Gregor Nelles, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Optische Kohärenztomographiebasierte Evaluation kalzifizierter Plaques und deren Einfluss auf die inflammatorische Aktivität im akuten Koronarsyndrom; Optical coherence tomography-based assessment of coronary plaque calcium and its implications on inflammatory activity in acute coronary syndrome“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren/innen beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Erstbetreuer/in, angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; [www.icmje.org](http://www.icmje.org)) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass ich mich zur Einhaltung der Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis verpflichte.

Weiterhin versichere ich, dass ich diese Dissertation weder in gleicher noch in ähnlicher Form bereits an einer anderen Fakultät eingereicht habe.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§§156, 161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

## **Anteilserklärung an der erfolgten Publikation**

Gregor Nelles hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

***Spotty calcium deposits within acute coronary syndrome (ACS)-causing culprit lesions impact inflammatory vessel-wall interactions and are associated with higher cardiovascular event rates at one year follow-up: Results from the prospective translational OPTICO-ACS study program, Atherosclerosis, 2023***

### **Publikation:**

Alle Figuren und Tabellen der Publikation wurden eigenständig von Herrn Nelles erstellt. Die erste Fassung des Manuskriptes wurde von Herrn Nelles verfasst und von Prof. Leistner korrigiert. Die korrigierte Fassung wurde dann an alle Ko-Autor:innen geschickt und entsprechend der Vorschläge korrigiert. Das finale Manuskript hat Herr Nelles eigenständig beim Journal eingereicht. Die von den Gutachtern gewünschte Korrekturen wurden zusammen mit Prof. Leistner besprochen und dann von Herrn Nelles umgesetzt.

### **Datenerfassung und – Auswertung:**

Das OPTICO-ACS Studienregister wurde über mehrere Jahre hinweg aufgebaut. Gregor Nelles hat im Zeitraum 09/19 bis 03/21 an der Vorbereitung der Probenentnahme im Herzkatheterlabor, der Probenverarbeitung im Labor und der Datenerfassung/-speicherung mitgewirkt. Zur Probenverarbeitung im Labor war zur Sicherung einer unverzügter Bearbeitung ein täglicher Ruf-Dienst außerhalb der regulären Arbeitszeiten eingerichtet (tgl. 15-20 Uhr, am Wochenende 08-20 Uhr), den sich Herr Nelles in diesem Zeitraum mit einer anderen Doktorandin aufteilte, streckenweise aber auch komplett allein übernahm. Werktags innerhalb der regulären Arbeitszeiten erfolgte die Probenverarbeitung durch eine Laborassistentin (Frau Knüppel).

Herr Nelles hat im obigen Zeitraum bei allen Patient:innen eine Anamnese zur Erfassung der Basisdaten in Form einer Einschlussvisite am Folgetag nach ACS durchgeführt. Hierbei wurden Risikofaktoren, Vorerkrankungen, Schmerzbeginn etc. erfasst. Herr Nelles hat im obigen Zeitraum auch die Dateneingaben in die Datenbank (Access) übernommen.

Die Analyse der Rohdaten der Durchflusszytometrie erfolgte größtenteils durch Frau Me-

teva und Frau Kränkel. Diese wurden dann zur Erfassung in der großen Datenbank bereitgestellt.

Die Daten-Erhebung des 1-Jahres Follow-Ups wurde von Herrn Nelles, Frau Sieronski und Herrn Seppelt in ungefähr gleichen Anteilen durchgeführt (Sichtung der Patientenakten, sowie Telefonanrufe).

Das Konzept der Publikation wurde nach eigenständiger Literaturrecherche zusammen mit Prof. Leistner erarbeitet. Alle OCT-Bilder wurden von Herrn Nelles eigenständig und fokussiert auf obige Fragestellung (Kalkmuster in der Plaque) hin untersucht und gemessen. Die Bildanalyse erfolgte teils unter Anleitung von Herrn Abdelwahed. Weitere Plaquestrukturen wurden bereits zuvor im Rahmen des Registers von Herrn Abdelwahed untersucht. Die Datenanalyse (inkl. statistische Auswertung) im Hinblick auf obige Fragestellung erfolgte eigenständig unter Aufsicht von Prof. Leistner, sowie mit Unterstützung des biometrischen Institutes der Charité Berlin. Alle Rechnungen wurden vor Einreichen der Publikation durch Dr. Klotsche geprüft.



## Druckexemplar der Publikation

Nelles G, Abdelwahed YS, Alyaqoob A, Seppelt C, Stähli BE, Meteva D, Kränkel N, Haghikia A, Skurk C, Dreger H, Knebel F, Trippel TD, Krisper M, Sieronski L, Gerhardt T, Zanders L, Klotsche J, Landmesser U, Joner M, Leistner DM. Spotty calcium deposits within acute coronary syndrome (ACS)-causing culprit lesions impact inflammatory vessel-wall interactions and are associated with higher cardiovascular event rates at one year follow-up: Results from the prospective translational OPTICO-ACS study program. *Atherosclerosis*. 2023 Nov;385:117284.

<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2023.117284>

















## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht





## Komplette Publikationsliste

### Originalarbeiten:

- **Nelles G**, Abdelwahed YS, Alyaqoob A, Seppelt C, Stähli BE, Meteva D, Kränkel N, Haghikia A, Skurk C, Dreger H, Knebel F, Trippel TD, Krisper M, Sieronski L, Gerhardt T, Zanders L, Klotsche J, Landmesser U, Joner M, Leistner DM. Spotty calcium deposits within acute coronary syndrome (ACS)-causing culprit lesions impact inflammatory vessel-wall interactions and are associated with higher cardiovascular event rates at one year follow-up: Results from the prospective translational OPTICO-ACS study program. *Atherosclerosis*. 2023 Nov;385:117284. doi: 10.1016/j.atherosclerosis.2023.117284. Epub 2023 Sep 15. PMID: 37871405.
- **Nelles G**, Abdelwahed YS, Seppelt C, Meteva D, Stähli BE, Rai H, Seegers LM, Sieronski L, Musfeldt J, Gerhardt T, Riedel M, Skurk C, Haghikia A, Sinning D, Dreger H, Knebel F, Trippel TD, Krisper M, Klotsche J, Joner M, Landmesser U, Leistner DM. Cholesterol crystals at the culprit lesion in patients with acute coronary syndrome are associated with worse cardiovascular outcomes at two years follow up - results from the translational OPTICO-ACS study program. *Int J Cardiol*. 2024 Mar 15;399:131665. doi: 10.1016/j.ijcard.2023.131665. Epub 2023 Dec 22. PMID: 38141724
- Abdelwahed YS, **Nelles G**, Frick C, Seppelt C, Meteva D, Stähli BE, Rai H, Riedel M, Skurk C, Rauch-Kröhnert U, Haghikia A, Sinning D, Dreger H, Knebel F, Trippel T, Krisper M, Klotsche J, Joner M, Landmesser U, Leistner DM. Coexistence of calcified- and lipid-containing plaque components and their association with incidental rupture points in acute coronary syndrome-causing culprit lesions: results from the prospective OPTICO-ACS study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2022 Nov 17;23(12):1598-1605. doi: 10.1093/ehjci/jeab247. PMID: 34904655.
- Gerhardt T, Seppelt C, Abdelwahed YS, Meteva D, Wolfram C, Stapmanns P, Erbay A, Zanders L, **Nelles G**, Musfeld J, Sieronski L, Stähli BE, Montone RA, Vergallo R, Haghikia A, Skurk C, Knebel F, Dreger H, Trippel TD, Rai H, Joner M, Klotsche J, Libby P, Crea F, Kränkel N, Landmesser U, Leistner DM; OPTICO-ACS study group. Culprit plaque morphology determines inflammatory risk and clinical outcomes in acute coronary syndrome. *Eur Heart J*. 2023 Oct 12;44(38):3911-3925. doi: 10.1093/eurheartj/ehad334. PMID: 37381774.



- Meteva D, Vinci R, Seppelt C, Abdelwahed YS, Pedicino D, **Nelles G**, Skurk C, Haghikia A, Rauch-Kröhnert U, Gerhardt T, Straessler E, Zhao Y, Golla F, Joner M, Rai H, Kratzer A, Arnal HG, Liuzzo G, Klotsche J, Crea F, Landmesser U, Leistner DM, Kränkel N. Toll-like receptor 2, hyaluronan, and neutrophils play a key role in plaque erosion: the OPTICO-ACS study. *Eur Heart J*. 2023 Oct 12;44(38):3892-3907. doi: 10.1093/eurheartj/ehad379. PMID: 37381760.
- Seppelt C, Abdelwahed YS, Meteva D, **Nelles G**, Stähli BE, Erbay A, Kränkel N, Sieronski L, Skurk C, Haghikia A, Sinning D, Dreger H, Knebel F, Trippel TD, Krisper M, Gerhardt T, Rai H, Klotsche J, Joner M, Landmesser U, Leistner DM. Coronary microevaginations characterize culprit plaques and their inflammatory microenvironment in a subtype of acute coronary syndrome with intact fibrous cap: results from the prospective translational OPTICO-ACS study. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*. 2023 Jul 3;jead154. doi: 10.1093/ehjci/jead154. Epub ahead of print. PMID: 37395586.

### **Kongresspräsentationen:**

- Nelles et al.: Spotty calcium at ACS-causing culprit lesions and its associations with distinct local immune profile – insights from the translational OPTICO-ACS study program. 87. Jahrestagung 2021 der DGK
- Nelles et al.: Prognostic implications of spotty calcium at ACS-causing culprit lesions – insights from the OPTICO-ACS study program. 87. Jahrestagung 2021 der DGK
- Nelles et al.: Prognostic implications of cholesterol crystals at ACS-causing culprit lesions, insights from the translational OPTICO-ACS study program. ESC congress 2021 – The digital experience.

## **Danksagung**

Dank gilt der gesamten OPTICO-ACS AG und insbesondere Herrn Prof. DML für die umfassende Betreuung. Auch möchte ich an dieser Stelle U und M danken, die mich immer in meinem Vorhaben der Promotion bestärkt und unterstützt haben.