

**Aus der
Medizinischen Klinik und Poliklinik I des
Klinikums der Universität München
Direktor: Prof. Dr. Steffen Massberg**

Kumulative Habilitationsschrift

***Mechanismen der innate Immunantwort
im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen***

zur Erlangung der Lehrbefähigung für das Fach Innere Medizin

**vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

**von
Dr. med. Tobias Weinberger**

2023

I

Inhaltsverzeichnis

1. EINLEITUNG	3
1.1. ROLLE VON IMMUNZELLEN IN KARDIOVASKULÄREN GEWEBEN	3
1.2. PATHOGENESE DES MYOKARDINFARKTES	4
1.3. IMMUNOLOGISCHE PROZESSE IM RAHMEN DES MYOKARDINFARKTES	5
2. WISSENSCHAFTLICHE ARBEITEN	8
2.1. EINFLUSS DER NETOSE AUF DIE STABILITÄT VON ARTERIELLEN THROMBEN UND DEN AKUTEN MYOKARDINFARKT	8
2.2. UNTERSCHIEDE DES KARDIALEN REMODELINGS NACH CHRONISCHEM SOWIE TRANSIENTEM MYOKARDINFARKT	13
2.3. IMMUNPHÄNOTYP SOWIE FUNKTION KARDIALER MAKROPHAGEN UNTERSCHIEDLICHER HERKUNFT IM MYOKARDINFARKT	18
2.4. MODULIERUNG DER IMMUNANTWORT VON MYELOIDEN ZELLEN IM MYOKARDINFARKT	22
2.5. HERKUNFT VON ARTERIELLEN MAKROPHAGEN UND DEREN FUNKTION IN DER VASKULÄREN HOMÖOSTASE UND INFLAMMATION	26
3. ZUSAMMENFASSUNG UND AUSBLICK	33
4. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	38
5. VERZEICHNIS DER PUBLIKATIONEN DER HABILITATIONSLEISTUNG	40
6. LITERATURVERZEICHNIS	41
7. DANKSAGUNG	46

Mechanismen der innate Immunantwort im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen

1. Einleitung

1.1. Rolle von Immunzellen in kardiovaskulären Geweben

Immunzellen spielen eine essentielle Rolle im Abwehrsystem des Organismus gegen Infektionen durch pathogene Keime wie z.B. Bakterien oder Viren. Sie sind zudem an der Aufrechterhaltung physiologischer Gewebsbedingungen sowie in Inflammationsprozessen einer Vielzahl anderer Erkrankungen beteiligt. In kardiovaskulären Erkrankungen, wie z. B. der Atherosklerose und deren Hauptfolgeerkrankungen, dem ischämischen Schlaganfall oder dem Myokardinfarkt, sind immunologische Prozesse sowohl bei der Krankheitsentstehung als auch bei der Heilung von zentraler Bedeutung (Moreno, Falk et al. 1994, Lambert, Lopez et al. 2008, Moore, Sheedy et al. 2013, Swirski and Nahrendorf 2013, Chinetti-Gbaguidi, Colin et al. 2015, Weinberger and Schulz 2015, Willemsen and de Winther 2020). Hierbei sind Makrophagen die häufigsten Immunzellen in gesundem kardiovaskulärem Gewebe, und spielen eine wichtige Funktion in der Homöostase des Gewebes. Betrachtet man den entwicklungsbedingten Ursprung, unterscheiden sich gewebständige Makrophagen grundlegend. Die frühere Annahme, dass Monozyten aus dem Blut die einzige Quelle von Makrophagen im Herzen sind, wurde durch neuere Arbeiten in Frage gestellt, die den Dottersack als Ursprung von Makrophagen in adulten Geweben nachweisen. Hierbei entstehen Makrophagen bereits im embryonalen Dottersack aus erythromyeloiden Vorläuferzellen (EMPs), wandern in der frühen Embryonalzeit in das Gewebe ein und können dort bis ins Erwachsenenalter überdauern. Der Anteil dieser Zellen in adulten Geweben und deren Austausch mit knochenmarksstämmigen Makrophagen ist organspezifisch. Mikroglia, eine spezialisierte Makrophagenart im Gehirn, bestehen beispielsweise fast ausschließlich aus embryonalen Makrophagen, während die Makrophagenpopulation im Darm hauptsächlich aus knochenmarksstämmigen Makrophagen besteht (Ginhoux, Greter et al. 2010, Schulz, Gomez Perdiguero et al. 2012, Gomez Perdiguero, Klapproth et al. 2015, Ensan, Li et al. 2016, Ginhoux and Williams 2016). Auch in kardiovaskulären Organen besteht die Makrophagenpopulation aus Zellen beider Ursprungs, jedoch ist dessen Einfluss auf deren Funktion noch weitgehend

unerforscht (Epelman, Lavine et al. 2014, Ensan, Li et al. 2016, Bajpai, Bredemeyer et al. 2019).

Durch ihre Funktion als phagozytierende Zellen sind Gewebsmakrophagen maßgeblich an der regelrechten Funktion des Herzens beteiligt indem sie aktiv Material, z.B. Mitochondrien, aus Kardiomyozyten, aufnehmen, was zur Erhaltung der Stoffwechselstabilität und Organfunktionen beiträgt (Nicolas-Avila, Lechuga-Vieco et al. 2020). In kardiovaskulären Erkrankungen, wie z.B. der Atherosklerose oder dem Myokardinfarkt können diese Zellen verschiedenartige Funktionen übernehmen. Zum einen können sie pro-inflammatorische Eigenschaften zeigen, z.B. indem sie lokale Entzündungsprozesse durch die Sekretion von löslichen Mediatoren unterstützen und mit verschiedenen benachbarten Immun- und Nicht-Immunzellen interagieren (Libby 2012). Zum anderen können Sie jedoch auch anti-inflammatorische Eigenschaften aufweisen, die zur Verminderung der Entzündung beitragen (Tabas and Bornfeldt 2016).

1.2. Pathogenese des Myokardinfarktes

Eine der Hauptursachen der Morbidität und Mortalität in der westlichen Gesellschaft ist die koronare Herzkrankheit (KHK), die sich durch das pathologische Wachstum von atherosklerotischen Plaques in den Herzgefäßen manifestiert. Die im Verlauf progrediente Verengung der Koronararterien bzw. die Ruptur atherosklerotischer Plaques führen zu einer Schädigung des Herzmuskels durch entweder eine chronisch Minderversorgung oder einer akuten Unterbrechung der Blutversorgung des betroffenen Versorgungsgebietes im Rahmen eines Myokardinfarktes. Hierbei kommt es durch ein Einreißen von atherosklerotischen Gefäßveränderungen zur Freisetzung gerinnungsfördernder Stoffe, die zu einer arteriellen Thrombose führen. Thrombozyten initiieren hierbei die Gerinnungskaskade durch die Bildung von Thrombozytenaggregaten (Massberg, Schulz et al. 2003). Darüber hinaus unterstützen Thrombozyten die lokale Rekrutierung von Immunzellen in dem entstehenden Thrombus an der Stelle der Plaqueruptur. Das Zusammenspiel zwischen Thrombozyten und rekrutierten Immuneffektoren führt schließlich zu einer weiteren Aktivierung der Blutgerinnung. Durch diesen Prozess, genannt Immunthrombose, wird die Thrombusbildung vorangetrieben (Engelmann and Massberg 2013). Die Immunthrombose stellt an sich einen physiologischen Prozess dar, der durch Immunzellen unterstützt wird und die Erkennung, Eindämmung und Zerstörung von Pathogenen erleichtert und so den Organismus schützt. Wenn diese Prozesse im Rahmen einer Plaqueruptur in Gang gesetzt werden, bildet die Immunthrombose die

pathophysiologische Grundlage der Gefäßthrombose in Abwesenheit von Pathogenen. Monozyten, neutrophile sowie eosinophile Granulozyten sind für die Immunthrombose von besonderer Bedeutung, da sie zum einen Tissue Factor (TF) liefern und so die TF-Aktivierung zur Initiierung der lokalen Gerinnung fördern und zum anderen direkt mit Blutplättchen interagieren und aktivieren (Stark and Massberg 2021). Außerdem stellen neutrophile Granulozyten extrazelluläre Fallen (NETs) bestehend aus DNA-Matrizen bereit, die als starke prokoagulierende Oberflächen fungieren und die lokale Gerinnung fördern (Engelmann and Massberg 2013, Stark and Massberg 2021).

1.3. Immunologische Prozesse im Rahmen des Myokardinfarktes

Schlussendlich führt die so initiierte arterielle Thrombose zu einem akuten Gefäßverschluss und im Rahmen eines Myokardinfarktes zu einer Minderversorgung des Myokards. Der Verlust von Herzmuskelgewebe führt zu einer verminderten Herzfunktion und kann eine Herzinsuffizienz verursachen, die sich negativ auf den Gesundheitszustand des Patienten auswirkt. Die perkutane Koronarintervention (PCI), ein minimalinvasives Verfahren zur Wiedereröffnung verengter bzw. verschlossener Arterien, stellt die regelrechte Blutversorgung des Myokards wieder her, ermöglicht die Perfusion des geschädigten Herzgewebes und verbessert die Prognose des Patienten nach einem Myokardinfarkt erheblich. Während das Überleben nach einem Myokardinfarkt durch die breite Verfügbarkeit der PCI wesentlich verbessert werden konnte, sind Therapeutika, die auf die Entstehung des Verschlusses oder den Heilungsprozess des Myokardinfarktes abzielen, noch nicht ausreichend erforscht. Dies führt dazu, dass sich zwar das Überleben nach einem Myokardinfarkt deutlich verbessert hat, aber etwa jede dritte PatientIn anschließend eine Herzinsuffizienz entwickelt (Gerber, Weston et al. 2016).

Pathophysiologisch löst die Ischämie des Herzmuskels eine tiefgreifende sterile Entzündung aus, in der eine komplexe Kaskade von Immunprozessen und Wundheilungsvorgängen in Gang gesetzt wird. Während das Immunsystem präzise und effektive Abwehrmechanismen gegen pathogene Mikroorganismen (wie z. B. Bakterien, Pilze oder Viren) oder effektive Reparaturmechanismen nach Traumata (z. B. in der Knochenheilung) über Jahrtausende entwickeln konnte, stellen kardiovaskuläre Erkrankungen evolutionsbiologisch jedoch eine relativ neue Herausforderung für das humane Immunsystem dar. Die daher teils ungezielten und überschießenden

Immunreaktionen, können in kardiovaskulären Erkrankungen schwerwiegende negative Auswirkungen für die PatientInnen verursachen.

In den letzten Jahren hat sich gezeigt, dass die Immunreaktion insbesondere von neutrophilen Granulozyten (in der Akutphase) sowie Monozyten bzw. Makrophagen (in der anschließenden Heilungsphase) vermittelt wird. Diese Immunzellen lösen inflammatorische Prozesse aus, die möglicherweise zu einer überschießenden Entzündungsreaktion führen und Umbauprozesse im Herzen auslösen können, die die Herzfunktion und auch das Outcome nach einem Myokardinfarkt verschlechtern (Nahrendorf, Swirski et al. 2007, van Amerongen, Harmsen et al. 2007, Panizzi, Swirski et al. 2010, Frodermann and Nahrendorf 2017, Horckmans, Ring et al. 2017). Andererseits konnte in Studien an neonaten Mäusen gezeigt werden, dass in diesem Alter ein myokardialer Schaden deutlich besser ausheilt, wobei Makrophagen in diesen Prozessen eine essentielle Rolle spielen (Lavine, Epelman et al. 2014). Dies verdeutlicht, dass Immunzellen in der Lage sind die Heilung nach einem Myokardinfarkt positiv zu beeinflussen und somit ein interessantes Ziel für einen möglichen therapeutischen Ansatz darstellen.

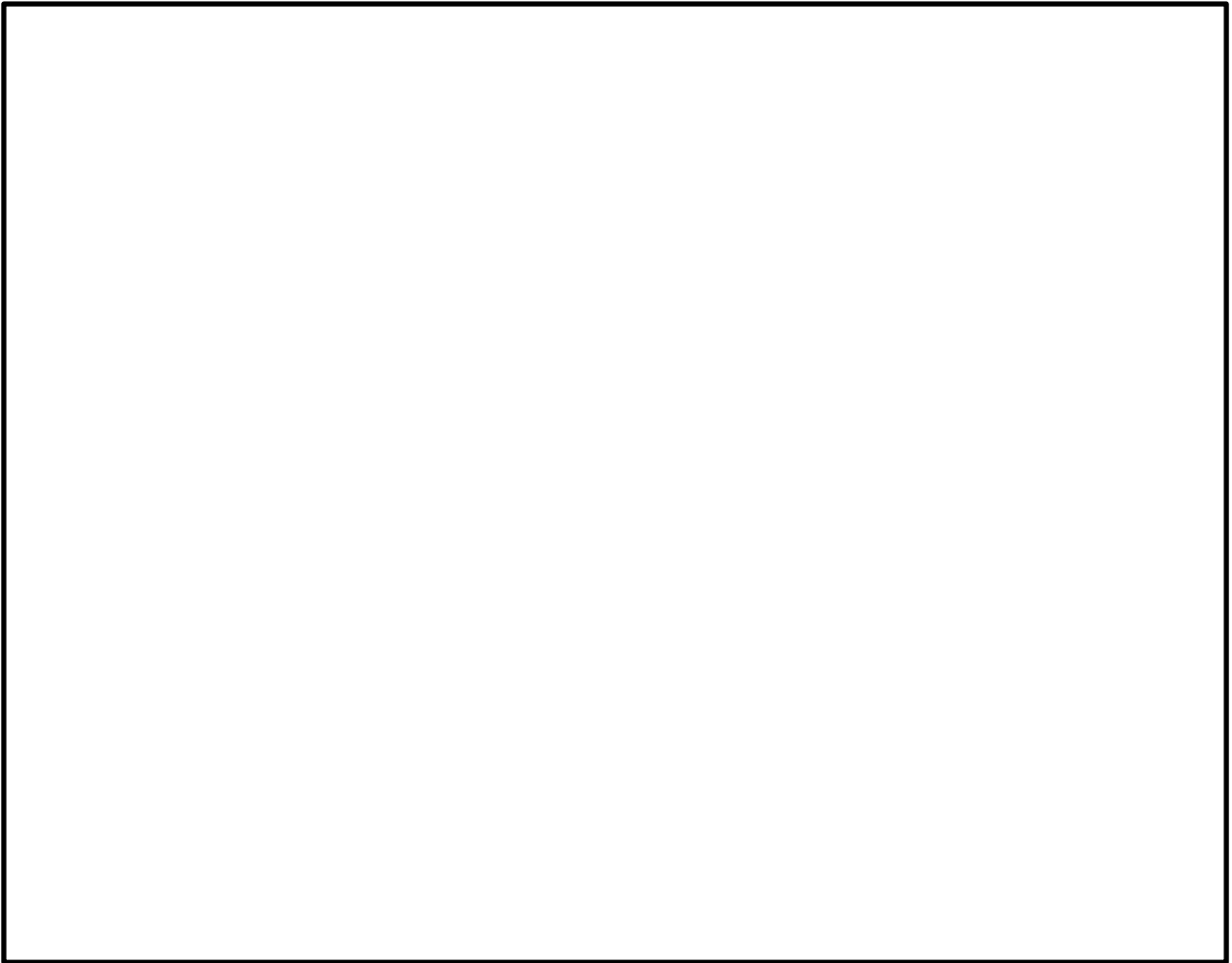


Abbildung 1. Rolle von Makrophagen beim kardialen Remodeling im adulten sowie neonaten Herzen.

Im neonaten Tier kommt es mithilfe der EMP-stämmigen Makrophagen zu einer nahezu kompletten Ausheilung des Infarktes, während der Infarkt im adulten Tier narbig ausheilt. Modifiziert nach Weinberger, Schulz 2015.

Das Ziel dieser Habilitationsschrift ist, den Einfluss von Immunzellen in kardiovaskulären Geweben und insbesondere deren Beteiligung an der Gefäßentzündung, der arteriellen Thrombose und dem Heilungsprozess nach Myokardinfarkt zu untersuchen. Hierdurch sollen Immunprozesse besser verstanden und mögliche Ansatzpunkte für Therapeutika definiert werden, die Immunprozesse positiv modulieren und den Heilungsverlauf kardiovaskulärer Erkrankungen verbessern.

2. Wissenschaftliche Arbeiten

2.1. Einfluss der NETose auf die Stabilität von arteriellen Thromben und den akuten Myokardinfarkt

Die Ruptur einer atherosklerotischen Plaque ist der Hauptauslöser der Atherothrombose beim Menschen und führt zu Thrombozytenadhäsion, -aktivierung und -aggregation (Furie and Furie 2008). Neben den Thrombozyten spielen die Gerinnungsaktivierung und die nachfolgende Fibrinbildung eine wesentliche Rolle beim Wachstum und der Stabilisierung des Thrombus (Furie and Furie 2007, Schulz and Massberg 2012, Crea and Liuzzo 2013). Immunzellen tragen aktiv zu diesem Prozess bei (Palabrica, Lobb et al. 1992, de Boer, Li et al. 2013). Um die Zusammensetzung humaner Thromben im Rahmen eines akuten Myokardinfarktes zu untersuchen und zu charakterisieren, wurden koronararterielle Thromben mittels Thrombusaspiration im Rahmen einer Akutherzkatheteruntersuchung gewonnen. Der Großteil der Thromben stammte von männlichen Patienten (80%), die aufgrund eines ST-Hebungsinfarkts behandelt wurden. In diesen Thromben fanden sich neben Thrombozyten eine Vielzahl an Leukozyten, wobei neutrophile Granulozyten den Großteil dieser Zellen darstellten (73% der Leukozyten).

Die Mechanismen, die der arteriellen Thrombose zugrunde liegen, wurden bereits in einer Vielzahl von experimentellen Studien an Mäusen untersucht. Unklar ist jedoch, ob die untersuchten Modelle die Pathophysiologie im Menschen adäquat widerspiegeln. Wir untersuchten daher gängige Mausmodelle der arteriellen Thrombose, bei denen entweder chemische (FeCl_3) oder mechanische (Drahtdenudation) Verletzungsmodelle verwendet wurden. Anschließend wurden die entstandenen Thromben histologisch charakterisiert und deren Eigenschaften mit humanen koronararteriellen Thromben verglichen.

Die murinen Thromben, welche durch eine FeCl_3 -vermittelte arterielle Verletzung entstanden waren, zeigten eine komplette Okklusion mit kompakter Struktur auf, die der Struktur humaner Myokardinfarkt-Thromben ähnelten. Thromben, die durch die Drahtdenudation entstanden waren, waren lokal begrenzt und induzierten keine größeren okkludierenden Thromben. Auch die immunzelluläre Zusammensetzung der murinen Thromben im FeCl_3 -Modell war ähnlich der humanen Thromben, wobei neutrophile Granulozyten, welche eine mannigfaltige Funktion in der arteriellen Thrombose innehaben, die häufigste Immunzellpopulation war (Abbildung 2).

Diese Immunzellen setzen unter anderem die neutrophile Elastase (NE) frei, welche die Entwicklung eines intraluminalen Thrombus, durch Neutralisierung endogener Antikoagulanzen, unterstützt (Massberg, Grahl et al. 2010).

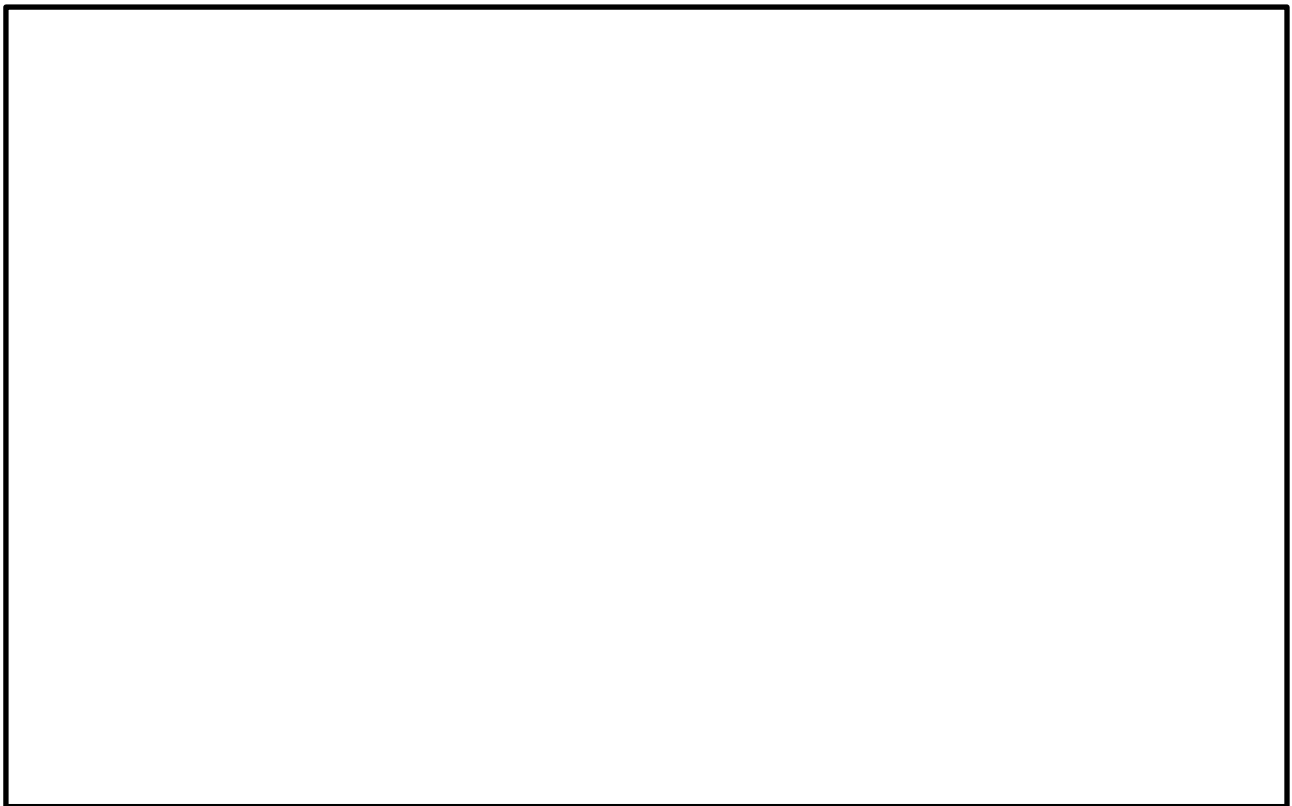


Abbildung 2. Charakterisierung von arteriellen Thromben bei Mäusen und Menschen

(A) Immunhistologische Bilder der Thrombozytenaggregatfläche (CD41, rot) in murinen arteriellen Thromben im chemischen (FeCl_3) oder mechanischen (Drahtdenudation) Verletzungsmodell (Balken $100\mu\text{m}$). (B) Vergleich der Leukozyten-Rekrutierung in murine Thromben nach FeCl_3 -Exposition oder in humanen Thromben nach einem Herzinfarkt. Repräsentative Bilder zeigen die immunohistochemische Färbung für Leukozyten (CD45, grün) und neutrophile Granulozyten (neutrophiler Elastase (NE), rot). Die Zellkerne wurden mit Hoechst (blau) gegengefärbt. (Balken $10\mu\text{m}$).

(C) Quantifizierung der monozytären und neutrophilen Untergruppen in murinen und humanen Thromben (murine Thromben, $n = 3$; humane Thromben, $n=11$ für Monozyten und $n=81$ für Neutrophile). Mittelwert \pm SD wird gezeigt. Modifiziert nach Novotny, Chandraratne, Weinberger T, et al. 2018.

In unserem Vergleich von Maus- und Humanproben konnten wir die NE in den Thromben beider Spezies nachweisen, was auf eine speziesübergreifende Rolle dieses prothrombotischen Moleküls zur arteriellen Thrombose hinweist. Eine weitere Schlüsseleigenschaft der Immunantwort neutrophiler Granulozyten ist die Freisetzung von NETs. Sowohl in murinen als auch humanen Thromben (in 19 von 81 PatientInnen) konnten

solche NETs nachgewiesen werden. Deren Konzentration sowie das Vorkommen in Bezug auf das Thrombusalter waren in murinen und humanen Thromben vergleichbar (Abbildung 3).

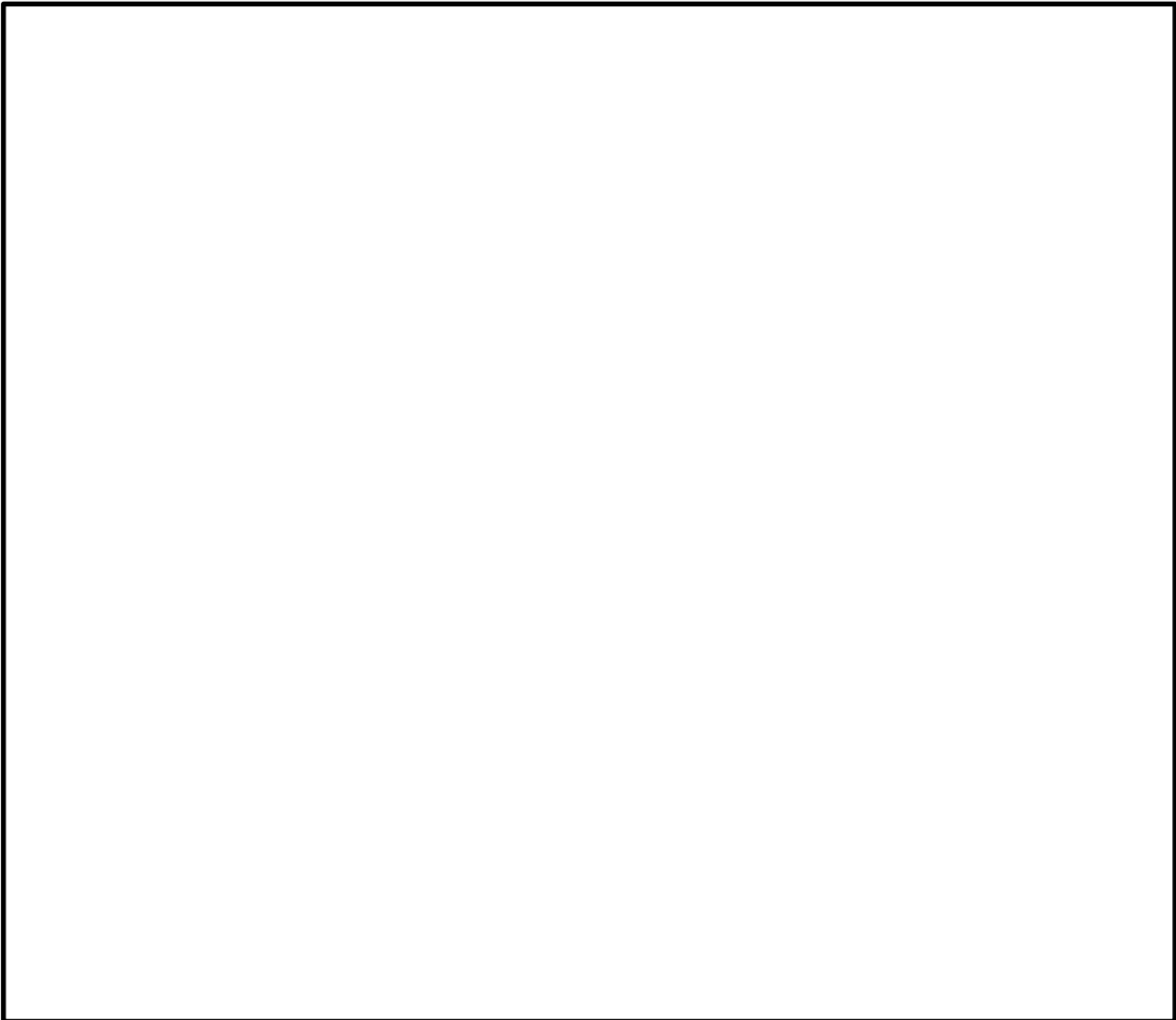


Abbildung 3. NETs in arteriellen Thromben von Mäusen und Menschen

(A) Repräsentative Darstellung der für NE (rot) und DNA (DAPI, blau) gefärbten NETs in der frühen Phase der arteriellen Thrombose. Thromben von Mensch und Maus zeigten nach 3, 6 oder 12 Stunden eine vergleichbare Verteilung. Die extrazelluläre DNA stammt von NE+ Neutrophilen. (Balken 10 μ m). Pfeile, Zellkerne; Pfeilspitzen, NET-Strukturen. (B) Quantifizierung der NETs pro 100 Neutrophile in humanen (<12h; n = 10) und murinen Thromben (FeCl₃-Modell nach 3-6h; n = 5). (C) Zusammenhang zwischen Thrombusalter und Anzahl der NETs bei Mäusen und Menschen. Mittelwert \pm SD wird gezeigt. Modifiziert nach Novotny, Chandraratne, Weinberger T, et al. 2018.

Um die Rolle der NETs in der Thrombusentstehung zu untersuchen, nutzten wir einen Peptidylarginin-Deiminase-Inhibitor (PAD-Inhibitor; Cl-Amidine), welcher die Entstehung der NETs verhindert. Die Hemmung der NETose reduzierte die Thrombenstabilität im FeCl₃-

Modell und ermöglichte eine frühere Reperfusion des verschlossenen Gefäßes. Infolgedessen fanden wir keine NETs in den Thromben der behandelten Tiere. Überraschenderweise verhinderte die Behandlung mit CI-Amidine nicht nur die Bildung von NETs, sondern reduzierte auch die Anzahl der Leukozyten in den arteriellen Thromben. Diese Beobachtung schien ein lokaler Effekt auf die Thrombusbildung zu sein, da die Anzahl der Leukozyten im peripheren Blut stabil blieb.

Zuletzt nutzten wir ein Ischämie-Reperfusion-Modell (I/R), um die Auswirkungen der NET-Inhibition auf die Infarktgröße zu entschlüsseln. Die CI-Amidine-Behandlung führte neben einer verminderten Infarktgröße eine Woche nach Infarkt auch zu einer Verbesserung der Herzfunktion (Abbildung 4). Diese Ergebnisse sind im Einklang mit einer früheren Studie an PAD4-defizienten Mäusen, in welcher aufgrund der genetischen Veränderung keine NETs gebildet werden konnten (Savchenko, Borissoff et al. 2014).

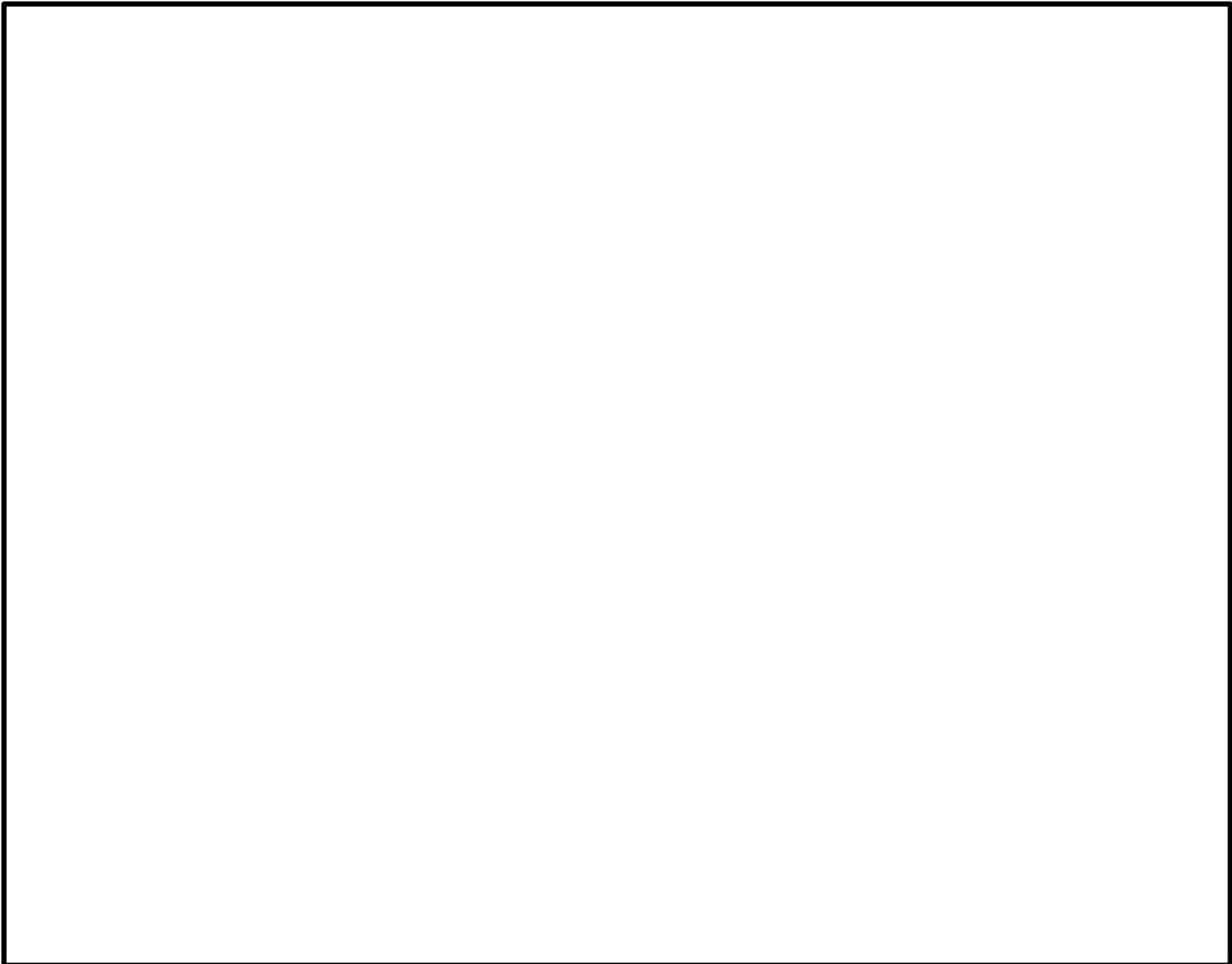


Abbildung 4. Verbesserung der Infarktgröße und der kardialen Funktion nach Myokardinfarkt durch NET-Inhibition

(A) Repräsentative Masson-Trichrom-Färbungen von Myokardschnitten von Mäusen 7 Tage nach I/R, die mit Vehikel (links) oder Cl-Amidine (rechts) behandelt wurden. Mit Cl-Amidine behandelte Mäuse zeigen eine Abnahme des fibrotischen Gewebes im Vergleich zum Vehikel (Balken 2 mm). (B) Infarktgröße 7 Tage nach I/R bei Mäusen, die mit Vehikel (n = 10) und Cl-Amidine (n = 7) behandelt wurden. (C) Die Myokardfunktion wurde durch Messung der Auswurfraction (in %) und (D) des Herzzeitvolumens (in $\mu\text{l}/\text{min}$) 7 Tage nach I/R bewertet. Modifiziert nach Novotny, Chandraratne, Weinberger T, et al. 2018.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass FeCl_3 -induzierte arterielle Thromben in Mäusen in Bezug auf die Zellzusammensetzung (u.a. Thrombozyten und verschiedene Leukozytensubpopulationen) und prothrombotische Moleküle (z.B. NETs) denen humaner Myokardinfarkt-PatientInnen ähneln. Darüber hinaus weisen die Ergebnisse auf molekulare Signalwege und zelluläre Mechanismen in der arteriellen Thrombose hin, die neben den Thrombozyten bisher nicht im Fokus waren. Die derzeitigen Strategien zur Behandlung oder Vorbeugung der arteriellen Thrombose, die aus einer Kombination von

Thrombozytenaggregationshemmern und Antikoagulantien bestehen, hemmen die wichtigsten hämostatischen Signalwege und haben die damit verbundene Schwäche, die Blutgerinnung zu beeinträchtigen und somit auch Blutungskomplikationen hervorzurufen. Schlüssel-moleküle der Immunothrombose als therapeutisches Ziel zu beeinflussen, könnte die Wirksamkeit von Therapien zu maximieren, die eine arterielle Thrombose verhindern, ohne das Auftreten dieser Komplikationen zu erhöhen.

2.2. Unterschiede des kardialen Remodelings nach chronischem sowie transientem Myokardinfarkt

Um die verschiedenen Vorgänge, die durch einen Myokardinfarkt ausgelöst werden, besser zu verstehen und mögliche Therapeutika zu erforschen, sind Tiermodelle unerlässlich, die die hierbei ablaufenden pathologischen Prozesse bestmöglich widerspiegeln. Grundsätzlich bestehen zwei chirurgische Myokardinfarktmodelle für Mäuse, die eine solche Herzschädigung mittels Ligatur der Vorderwandarterie nachahmen (Michael, Entman et al. 1995, Xu, Alloush et al. 2014). Die permanente Ligatur der linken Vorderwandarterie (LAD) ähnelt dem Verschluss einer Koronararterie ohne Wiederherstellung des Blutflusses und stellt ein Modell für eine chronische Herzinsuffizienz nach einem Myokardinfarkt (MI) dar. Dieses Modell lässt sich jedoch nicht auf die Wirkung einer myokardialen Reperfusionstherapie durch die perkutane Koronarintervention übertragen, welche seit Jahren zur Standardtherapie des Myokardinfarkts zählt. Die transiente Ligatur der LAD überträgt den Ansatz der Rekanalisation eines verschlossenen Herzkranzgefäßes in ein geeignetes Tiermodell (Ischämie-Reperfusionsschaden, I/R). Während die Reperfusion das Überleben ischämischer Kardiomyozyten verbessert, führt sie jedoch auch zu einer klinisch relevanten Reperfusionsschädigung (Heusch 2020). Somit spiegeln diese beiden Methoden zwei unterschiedliche klinischen Szenarien wieder (De Villiers and Riley 2020, Lindsey, de Castro Bras et al. 2021) und stellen nicht zuletzt in Bezug auf die immunologischen Vorgänge unterschiedliche Entitäten dar (Yan, Anzai et al. 2013).

In unseren Studien nutzten wir die innovative PET-Bildgebung bei Kleintieren, die bereits in verschiedenen kardialen Krankheitsmodellen etabliert ist, z.B. bei ischämischer und dilatativer Kardiomyopathie (Brunner, Todica et al. 2012, Vasudevan, Gabel et al. 2020) oder bei linksventrikulärer Hypertrophie unter Drucküberlastung (Todica, Beetz et al. 2018). Dieser experimentelle Ansatz ermöglichte die multiparametrische Beurteilung von Herzvolumen und -funktion sowie dem kardialen Defekt nach myokardialer Ischämie in einem einzigen Verfahren, während sonst die Kombination von PET und

Magnetresonanztomographie (MRT) oder eine zusätzliche Echokardiographie erforderlich ist.

Diese Untersuchungen zeigten, dass die Heilung nach einem I/R-Schaden mittels der PET-Untersuchung ähnlich präzise überwacht werden kann wie nach einem permanenten Myokardinfarkt und korrelierte in hohem Maße mit den histologischen Auswertungen der Infarktgröße. Wie zu erwarten zeigte sich bei der permanenten Ligatur eine deutlich größere Infarktgröße. Wie zu erwarten zeigte sich bei der permanenten Ligatur eine deutlich größere Infarktgröße im Vergleich zur transienten Ligatur und dieser Unterschied war auch in der chronischen Phase nach dem Infarkt stabil (Abbildung 5 A-D). Der Vergleich der beiden Infarktmodelle anhand von Volumina und funktionellen Parametern zeigt außerdem, dass die permanente LAD-Ligatur zu einer stärkeren ventrikulären Dilatation und Verminderung der linksventrikulären Funktion führte. Die Auswurffraktion nach einem I/R-Schaden blieb stabil im Vergleich zur Ruhebedingung, was durch einen milderen kardialen Defekt erklärt werden könnte (Abbildung 5 E-F).

Zudem bestand eine positive Korrelation der histologischen Infarktfläche mit dem enddiastolischen Volumen (EDV) und dem endsystolischen Volumen (ESV) und eine negative Korrelation mit der Ejektionsfraktion (EF), was darauf hindeutet, dass ein größerer histologischer Defekt zu einer LV-Dilatation und einer Abnahme der LV-Funktion führt.

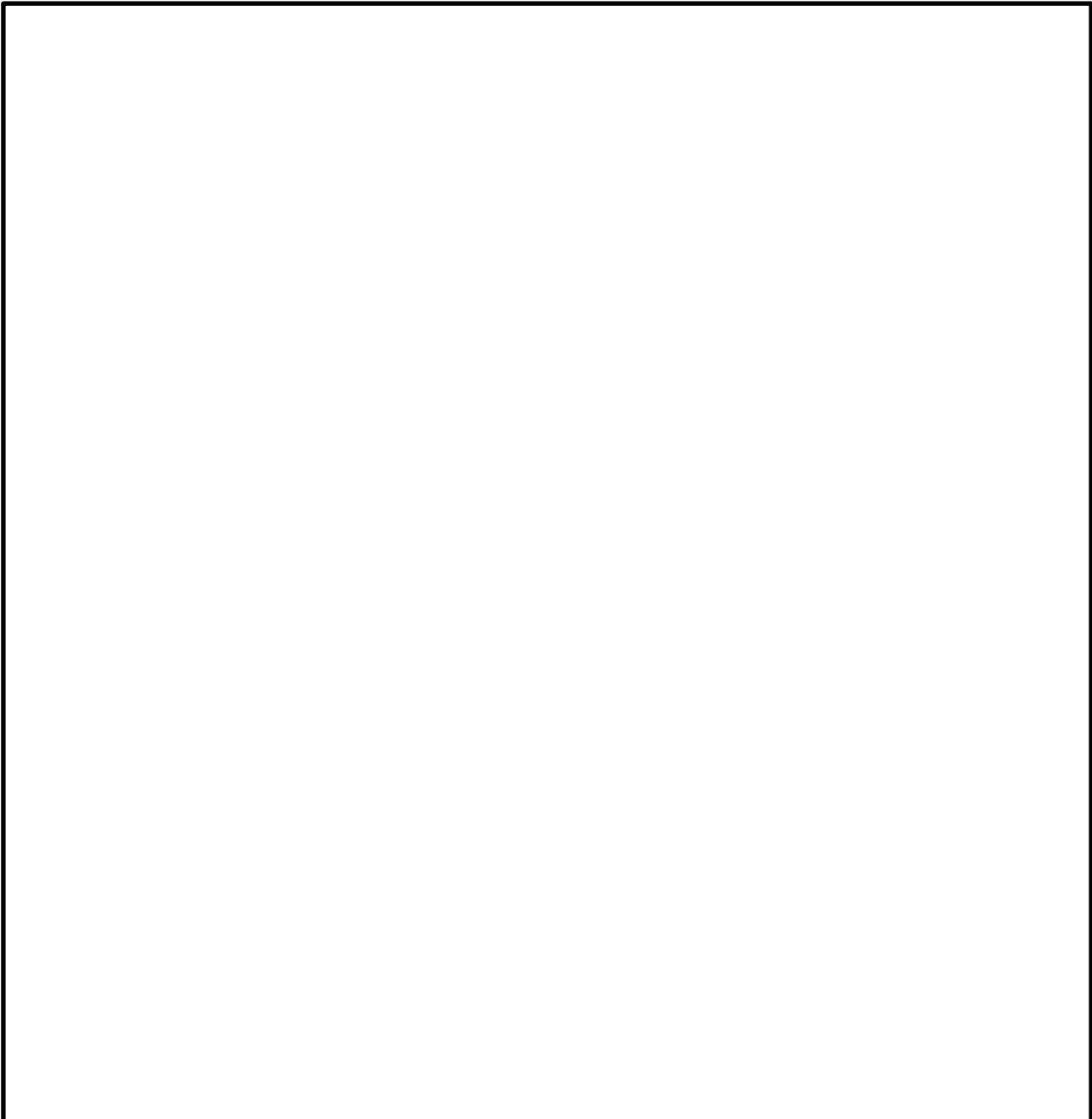


Abbildung 5. Beurteilung der kardialen Funktion in der 18F-FDG-PET-Bildgebung nach transienter und permanenter LAD-Ligatur

(A) Repräsentatives Bulls-Eye-Bild des linken Ventrikels nach I/R-Schaden sowie permanenter LAD-Ligatur (MI) 6 bzw. 30 Tage nach der Ligatur. Der Defekt wird durch die verminderte 18F-FDG-Aufnahme gezeigt. Farbskala stellt die QPS (Quantitative Perfusion SPECT) in Prozent dar. (B) Repräsentative histologische Schnitte von Herzen 30 Tage nach I/R sowie permanenter Ligatur. Rechter Ventrikel (RV), linker Ventrikel (LV). Die Sirius-Red-fast green-Färbung des linken Ventrikels zeigt den Defektbereich an. (Balken 100 μ m). (C) Quantifizierung des linksventrikulären Defekts nach IR-Schaden (in grau) und permanenter Ligatur (in rosa). (D) Korrelation zwischen histologischem Defekt und PET-Defekt am Tag 30 nach I/R-Schaden sowie permanenter LAD-Ligatur. (E und F) Vergleich des EDV (E) sowie der EF (F) an Tag 6 und Tag 30. Kontrolle (in weiß), IR (in grau) und permanente Ligatur (in rosa). Dargestellt sind Mittelwerte \pm SD. * $p = 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$. Modifiziert nach Fischer, Weinberger et al. 2022.

Unser Ziel war es zudem, das linksventrikuläres Stoffwechselvolumen (LVMV) und den Prozentsatz der injizierten Herzdosis pro Gramm (%ID/g) mittels PET zu evaluieren, da diese Werte mit dem enddiastolischen Volumen und der Herzmasse im Rahmen einer Hypertrophie bzw. der Inflammation korrelieren und somit einen interessanten neuen Ansatzpunkt im Monitoring nach einem Myokardinfarkt darstellen könnten (Todica, Beetz et al. 2018).

In beiden Modellen fanden wir einen anfänglichen Abfall des LVMV der mit der Infarktgröße korrelierte. Das LVMV nimmt in beiden Verletzungsmodellen mit der Zeit zu, was den kardialen Umbau nach einer ischämischen Verletzung widerspiegeln könnte. Diese Beobachtungen waren nach permanenter LAD-Ligatur ausgeprägter, und der Unterschied der LVMV zwischen Tag 30 und Tag 6 korrelierte mit der histologischen Defektfläche. Der Defekt bzw. die fibrotische Narbe bleibt nach einer Myokardverletzung bestehen. Die LVMV im Mausmodell steigt jedoch während des kardialen Umbaus als Teil möglicher kompensatorischer Prozesse zur Überwindung der Schädigung an, und zeigt auch eine positive Korrelation zum EDV und SV. Dies unterstreicht das Potenzial der LVMV als Überwachungsparameter für das kardiale Remodeling nach einer ischämischen Schädigung (Abbildung 6 A).

Unsere Messungen zeigen zudem einen vorübergehenden Anstieg des %ID/g an Tag 6 nach permanenter und transients LAD-Ligatur, der bis zu einem gewissen Grad mit entzündlichen Prozessen in Verbindung gebracht werden kann. In diesem speziellen Fall liefert der %ID/g Informationen über die kardiale Aufnahme von Fluorodeoxyglucose (FDG). Diese Aufnahme ist jedoch nicht auf Kardiomyozyten oder Fibroblasten beschränkt, sondern auch auf Immunzellen, die nach einer ischämischen Schädigung eindringen. Der weiter erhöhte %ID/g nach der permanenten LAD-Ligatur im Vergleich zu den transienten Ligaturen unterstreicht die stärkere Schädigung und möglicherweise eine ausgeprägtere Rekrutierung von Immunzellen in der permanenten Ligatur (Abbildung 6 B).

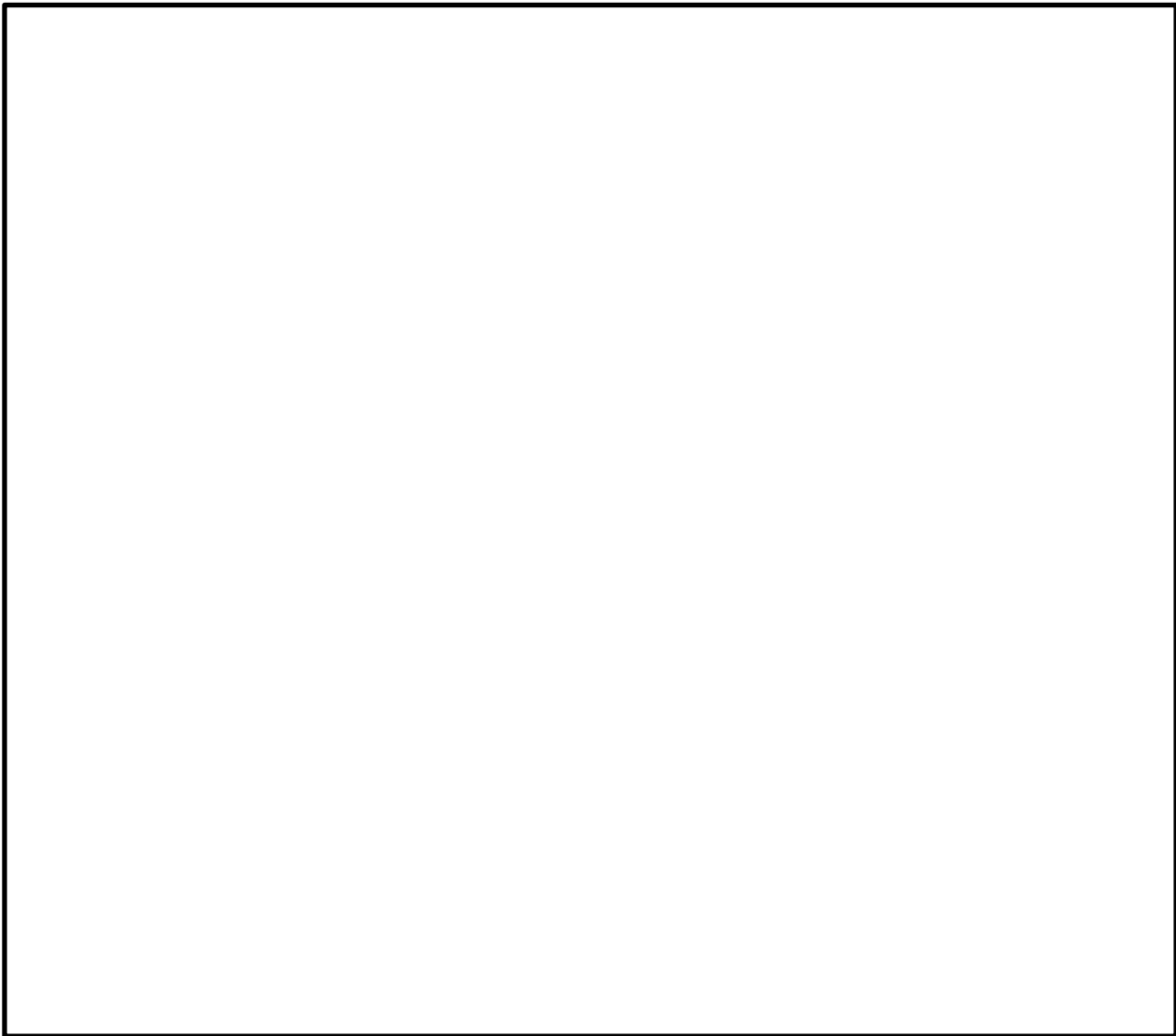


Abbildung 6. Veränderungen des metabolischen Volumens sowie des kardialen %ID/g nach transients und permanenter LAD-Ligatur.

(A) Illustration der LVMV (in grün) nach permanenter LAD-Ligatur (MI). Die Quantifizierung der LVMV nach I/R und permanenter LAD-Ligatur ist rechts dargestellt. (B) Repräsentatives statisches Bild nach permanenter LAD-Ligatur, exportiert von Siemens Inveon Workplace in verschiedenen Achsen (links (L), rechts (R), planar (P), anterior (A), inferior (I) und sagittal (S)). Der Balken entspricht der Aufnahme in einem Bereich von 0 bis $5,9 \times 10^6$ Bq/ ml). Quantifizierung des kardialen %ID/g in den verschiedenen Gruppen auf der rechten Seite. Kontrolle (in weiß), MI (in rosa), und IR (in grau). Alle Daten sind Mittelwerte \pm SD. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$. Modifiziert nach Fischer, Weinberger et al. 2022.

2.3. Immunphänotyp sowie Funktion kardialer Makrophagen unterschiedlicher Herkunft im Myokardinfarkt

Die Funktion des Immunsystems gewinnt auch in der Heilungsphase nach einem Myokardinfarkt (MI) zunehmend an Bedeutung. Makrophagen sind im Herzen die häufigste Immunzellpopulation und spielen eine wichtige Rolle bei der Aufrechterhaltung der Organhomöostase und Herzfunktion (Nicolas-Avila, Lechuga-Vieco et al. 2020). Nicht zuletzt aufgrund ihrer Plastizität stellen sie ein interessantes therapeutisches Ziel dar, um die Infarktheilung zu verbessern. Wie bereits beschrieben, unterscheiden sich kardiale Makrophagen in deren Ursprung und stammen zum Teil von Dottersack- sowie Knochenmarks-Vorläuferzellen ab und durchlaufen im Laufe ihres Lebens phänotypische Veränderungen. Kardiale Makrophagen erhöhen die Expression des Major-Histokompatibilitäts-Komplexes II (MHC-II) und verringern die Expression des C-X3-C-Chemokinrezeptors 1 (CX3CR1) mit fortschreitendem Alter (Molawi, Wolf et al. 2014). Unklar ist, ob die MHC-II- und CX3CR1-Expression mit funktionellen Veränderungen der Makrophagenfunktion im Herzen einhergeht. Wir haben daher deren Expression auf kardialen Makrophagen unterschiedlicher Herkunft während eines Infarkts analysiert und funktionelle Unterschiede in ihrer Ontogenese und MHC-II-Expression untersucht.

Die Anzahl der Makrophagen stieg zu Beginn des Myokardinfarktes stark an, nahm dann im Laufe der Zeit allmählich ab und näherte sich nach 30 Tagen dem Ausgangswert an. MHC-II und CX3CR1 wurden auf kardialen Makrophagen im Ruhezustand stark exprimiert. In der akuten Phase des Myokardinfarktes reduzierten kardiale Makrophagen die Expression sowohl von MHC-II als auch von CX3CR1. Allerdings zeigten Makrophagen aus dem Infarktgebiet eine ausgeprägtere Reduktion der MHC-II-Expression als Makrophagen im Gewebe, welches nicht direkt von der Ischämie betroffen war (Remote-Areal). Im Laufe von 30 Tagen kehrte die Expression von MHC-II und CX3CR1 zurück und erreichte ähnliche Expressionslevels wie im Ruhezustand (Abbildung 7).

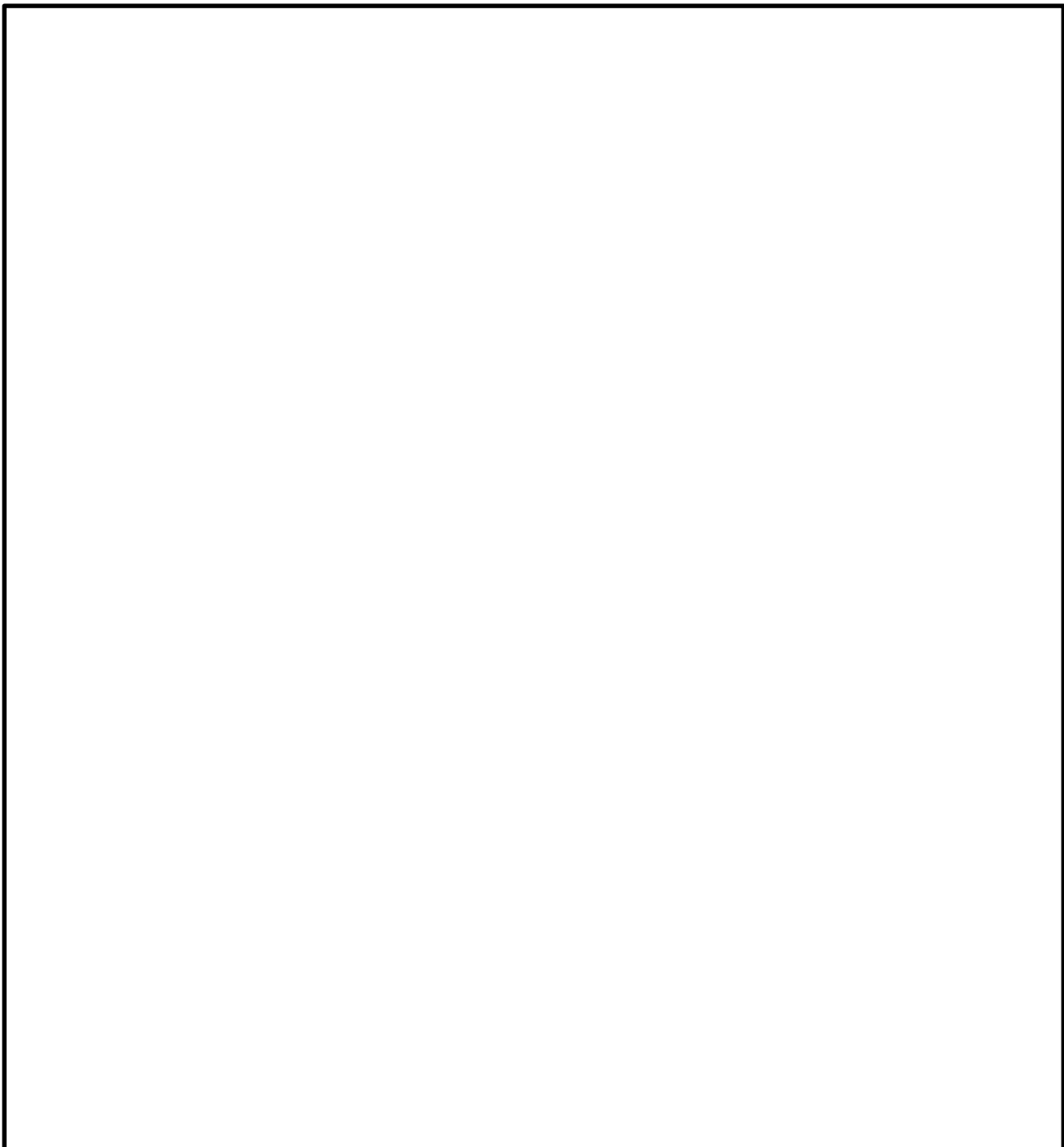


Abbildung 7. Dynamik der phänotypischen Veränderungen von kardialen Makrophagen nach Myokardinfarkt.

(A-B) Durchflusszytometrie kardialer Makrophagen in *CX3CR1^{GFP/+}* Mäusen vor und nach I/R-Schaden. A) Gating-Strategie und repräsentative durchflusszytometrische FACS-Plots der MHC-II- und CX3CR1-Expression. (B) Quantifizierung der Makrophagenanzahl zu verschiedenen Zeitpunkten nach I/R-Schaden sowie Verteilung in die jeweiligen Subpopulationen. (C-D) Immunhistologie der kardialen Makrophagen von *CX3CR1^{GFP/+}*-Mäusen. (C) Repräsentative Bilder von CX3CR1+ MHC-II+ Makrophagen in Remote-, Rand- und Infarktzone (RZ, BZ, IZ) 6 Tage nach I/R-Schaden. (Balken 50µm. (D) Quantifizierung der kardialen Makrophagen in den jeweiligen Bereichen sowie Verteilung in die jeweiligen Subpopulationen. Alle Daten sind Mittelwerte±SD. **p < 0,01, ***p < 0,001, ****p < 0,0001. Modifiziert nach Weinberger et al. 2022.

Mithilfe der *Rank^{Cre};Rosa26^{eYFP}*-Mauslinie, in der effektiv Makrophagen markiert werden, die von EMPs) abstammen (Mass, Ballesteros et al. 2016), konnten wir zudem die Expression auf Zellen unterschiedlichen Ursprunges untersuchen. Während Makrophagen embryonalen Ursprunges eine höhere Expression von MHC II im Ruhezustand im Vergleich zu BMDMs zeigten, war die Reduktion der Expression in der akuten Phase des Infarktes jedoch nicht unterschiedlich (Abbildung 8 A).

In Analogie dazu analysierten wir die C-C Chemokinrezeptor Typ 2 (CCR2)-Oberflächenexpression, um den Phänotyp residenter (CCR2-) und rekrutierter (CCR2+) Makrophagen zu vergleichen. Ähnlich wie bei den Befunden der Analysen der *Rank^{Cre}Rosa26^{eYFP}*-Mäusen war der Verlust der MHC-II- und CX3CR1-Oberflächenexpression bei beiden Populationen 2 und 6 Tage nach dem Infarkt vergleichbar. Dies deutet darauf hin, dass der Schaden nach einer I/R eine Herabregulierung von MHC-II auf allen Makrophagenpopulationen des Herzens unabhängig von deren Herkunft induziert (Abbildung 8 B).

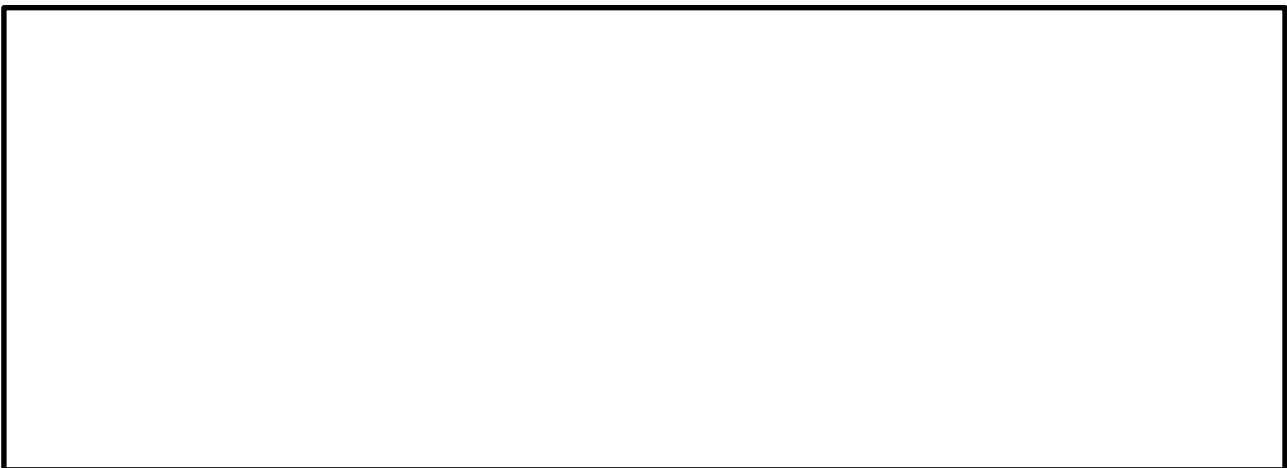


Abbildung 8. Expression von MHCII und CX3CR1 auf Makrophagen unterschiedlichen Ursprungs

(A) Repräsentative durchflusszytometrische Darstellung der MHC-II-Expression von CD45+/lin-/CD64+/F4/80+ Makrophagen in *Rank^{Cre}Rosa^{eYFP}*-Mäusen zu Beginn und 2 Tage nach I/R-Schaden sowie Quantifizierung der Populationen zu den verschiedenen Zeitpunkten.

(B) Repräsentative Darstellungen der Expression von CCR2, CX3CR1 und MHCII in kardialen Makrophagen, die im Ruhezustand und 2 oder 6 Tage nach eines I/R-Schadens aus *CX3CR1^{GFP}*-Mäusen gewonnen wurden. (C) Prozentsatz der CCR2+ Makrophagen im Ruhezustand und in der Remote- (RZ) oder Infarktzone (IZ) 2 und 6 Tage nach I/R-Schaden sowie Verteilung der Populationen von CCR2- und CCR2+-Makrophagen zu den verschiedenen Zeitpunkten. Mittelwert±SD ist abgebildet. Modifiziert nach Weinberger et al. 2020.

Eine wichtige Funktion von Makrophagen ist deren Eigenschaft, Zelldebris durch Phagozytose eliminieren zu können, sei es im Rahmen der Gewebshomöostase oder im Rahmen einer Entzündung. Die Phagozytose toter Kardiomyozyten trägt hierbei entscheidend zur Auflösung der Entzündung nach Infarkt bei (DeBerge, Yeap et al. 2017). Wir untersuchten daher die phagozytotischen Eigenschaften von Makrophagen unterschiedlicher Herkunft sowie in Abhängigkeit ihrer MHC-II Expression. Die EMP-stämmigen kardialen Makrophagen zeigten bereits im Ruhezustand eine hohe phagozytotische Aktivität, die unabhängig von der Expression von MHCII war und im Infarktgeschehen stabil blieb. Knochenmarksstämmige Makrophagen (BMDMs) auf der anderen Seite zeigten im Infarktgeschehen einen deutlichen Anstieg ihrer phagozytotischen Aktivität im Vergleich zum Ruhezustand. Dieser Unterschied war insbesondere in der Population mit niedriger Expression von MHCII zu sehen (Abbildung 9).

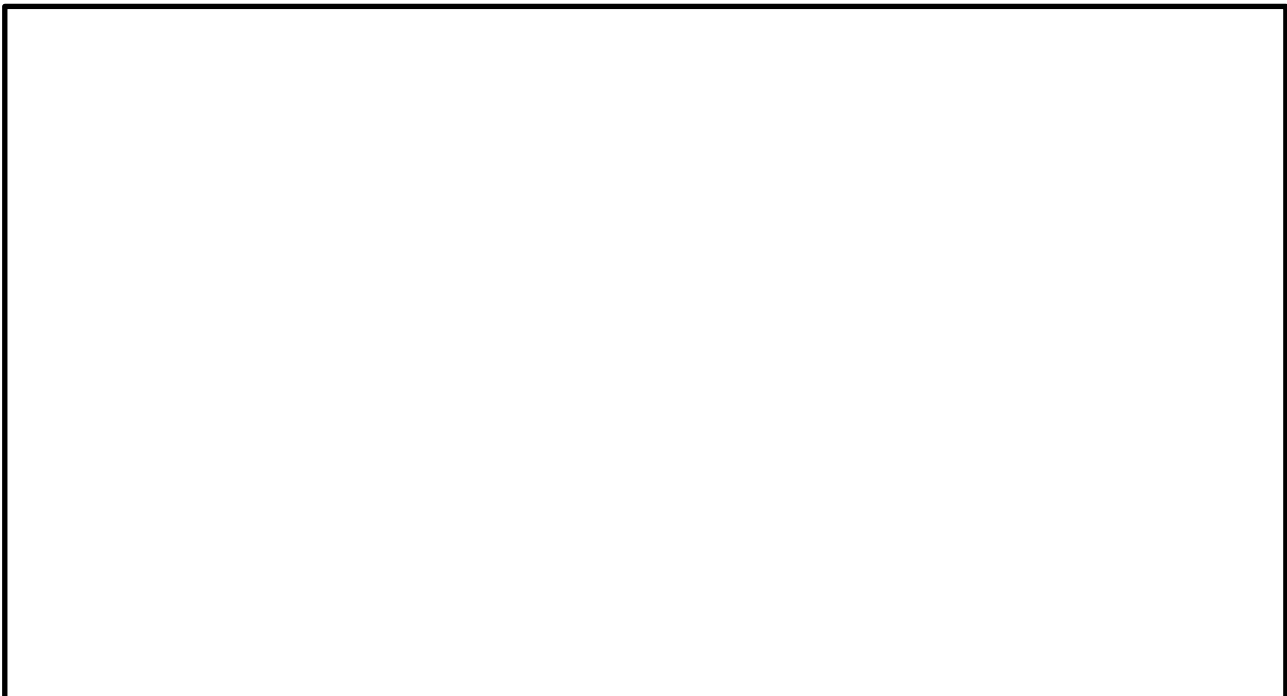


Abbildung 9. Phagozytotische Aktivität von kardialen Makrophagen unterschiedlichen Ursprungs

CD45+-Zellen wurden aus *Rank^{Cre}Rosa^{eYFP}*-Mäusen zu Beginn und 2 Tage nach I/R-Verletzung isoliert. Anschließend wurde die Phagozytose nekrotischer Kardiomyozyten, die mit Cytotell®BV421 markiert waren, durch Makrophagen unterschiedlichen Ursprungs durchflusszytometrisch gemessen. Links: Repräsentative durchflusszytometrische Darstellung. Rechts: Quantifizierung der Phagozytose. Mittelwert±SD ist dargestellt; * p<0,05. Modifiziert nach Weinberger et al. 2020.

Insgesamt konnten wir in diesen Untersuchungen zeigen, dass sich der Phänotyp von kardialen Makrophagen im Hinblick auf das Expressionsmuster von MHCII sowie CX3CR1 im Rahmen eines Infarktes dynamisch verändert und in der chronischen Phase wieder den Ruhebedingungen annähert. Diese Veränderungen zeigten sich sowohl bei eingewanderten als auch residenten Makrophagen. Residente Makrophagen waren bezüglich der Funktion als phagozytierende Zellen sowohl in Ruhebedingungen als auch im Infarkt aktiver verglichen mit eingewanderten Makrophagen. Aufgrund der jedoch deutlich höheren Anzahl an rekrutierten Makrophagen im Infarktgeschehen spielen diese trotz ihrer geringeren phagozytotischen Aktivität möglicherweise die maßgebliche Rolle in der Beseitigung von nekrotischem Gewebe in der Akutphase nach dem Infarkt.

2.4. Modulierung der Immunantwort von myeloiden Zellen im Myokardinfarkt

Die Funktionen von Makrophagen werden durch ein Netzwerk von verschiedenen Regulatoren beeinflusst. Unter anderen spielen Retinoid-X-Rezeptoren (RXR) hierbei eine relevante Rolle (Dawson and Xia 2012, Roszer, Menendez-Gutierrez et al. 2013). RXRs gehören zur Steroid-/Schilddrüsenhormon-Superfamilie der nukleären Rezeptoren, die als Transkriptionsfaktoren wirken. Die drei Subtypen (RXR α , RXR β und RXR γ) werden in Zellen und Geweben unterschiedlich exprimiert, wobei RXR α der vorherrschende Subtyp in Monozyten und Makrophagen ist (Shao, Lu et al. 2021). Im Verlauf einer akuten Entzündung sind RXRs an einer Vielzahl von Regulationsprozessen beteiligt (z. B. Chemokinexpression, Zellmigration, Zellüberleben und Angiogenese) (Xu, Storer et al. 2005, Nunez, Alameda et al. 2010, Sanz, Albertos et al. 2012, Shao, Lu et al. 2021). Sie wirken als Regulatoren der Genexpression und üben eine pleiotrope Transkriptionskontrolle über ein breites Spektrum genetischer Programme aus, darunter Zelldifferenzierung und -überleben, Immunantwort sowie Lipid- und Glukosestoffwechsel (Dawson and Xia 2012, Roszer, Menendez-Gutierrez et al. 2013, Casanova-Acebes, Menendez-Gutierrez et al. 2020). Die Aktivierung von RXRs reduziert die Expression entzündlicher Chemokine sowie den Abbau der extrazellulären Matrix (Dutta, Sen et al. 2010, Daniel, Nagy et al. 2014), während die Freisetzung entzündungshemmender Moleküle (Xu, Storer et al. 2005, Wang, Allen et al. 2007) und die Angiogenese (Daniel, Nagy et al. 2014) induziert wird.

Die Bedeutung von RXRs im Zusammenhang mit der Immunregulation konnte anhand von Mäusen mit einer myeloidspezifischen Deletion von RXR α nachgewiesen werden. Die

entsprechenden Tiere zeigen eine verminderte Selbsttoleranz und entwickelten eine autoimmune Nierenerkrankung (Roszer, Menendez-Gutierrez et al. 2011). Eine beeinträchtigte phagozytotische Aktivität von Makrophagen konnte als Hauptursache für die Dysregulation des Immunsystems identifiziert werden. Die verminderte Aufnahme von Debris durch Makrophagen führt zu einer erhöhten Anzahl apoptotischer Zellen in der Niere und verminderte die Bildung protektiver Makrophagen (Roszer, Menendez-Gutierrez et al. 2011). Bei Mäusen, bei denen ein Schlaganfall induziert wurde, führte die Deletion von RXR α in den myeloischen Zellen zu einer schlechteren funktionellen Erholung und einer verstärkten Hirnatrophie im Vergleich zur Kontrollgruppe (Ting, Zhao et al. 2020). Somit wurden bisher verschiedene Studien zur pathophysiologischen Rolle von RXRs durchgeführt (Xu, Storer et al. 2005, Nunez, Alameda et al. 2010, Roszer, Menendez-Gutierrez et al. 2011, Sanz, Albertos et al. 2012, Daniel, Nagy et al. 2014), jedoch ist die Funktion von RXR α in myeloiden Zellen nach einem Myokardinfarkt bis heute nicht geklärt.

Um die Funktion von RXR α im Myokardinfarkt zu untersuchen, nutzten wir ein genetisches konditionelles Deletionsmodell, in dem RXR α gezielt in myeloiden Zellen (Monozyten sowie Makrophagen) ausgeschaltet werden kann. In der Mauslinie *Cx3cr1^{Cre-ert2}; Rxra^{flox/flox}* wurde durch Gabe von Tamoxifen die Deletion von Exon 4 des *Rxra*-Gens (das Teile der DNA-Bindungsdomäne kodiert) induziert, wodurch die Funktion des RXR α als Transkriptionsfaktors ausgeschaltet wird (*Cx3cr1 Δ Rxra*). Durch Verabreichung von tamoxifenhaltigem Futter konnte eine Reduktion der Expression des funktionellen *Rxra*-Gens um ca. 50% in den Monozyten sowie Makrophagen erreichen. Da frühere Studien auf schützende Wirkungen von RXR-Agonisten nach ischämischen Hirnverletzungen hinwiesen (Ting, Zhao et al. 2020), untersuchten wir die Auswirkungen einer reduzierten *Rxra*-Expression auf die Infarktgröße mithilfe der FDG-PET-Untersuchung. Die Infarktgröße wurde zu einem relativ frühen Zeitpunkt nach dem Infarkt (an Tag 6) sowie in der chronischen Phase (Tag 30) ermittelt und zwischen *Cx3cr1 Δ Rxra*- und Kontrollmäusen verglichen. Am Tag 30 nach MI war die Infarktgröße bei *Cx3cr1 Δ Rxra*-Tieren im Vergleich zu Kontrollmäusen signifikant größer. Die Auswertung der funktionellen Parameter, des enddiastolischen Volumens (EDV) und der Ejektionsfraktion (EF), ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen (Abbildung 10).

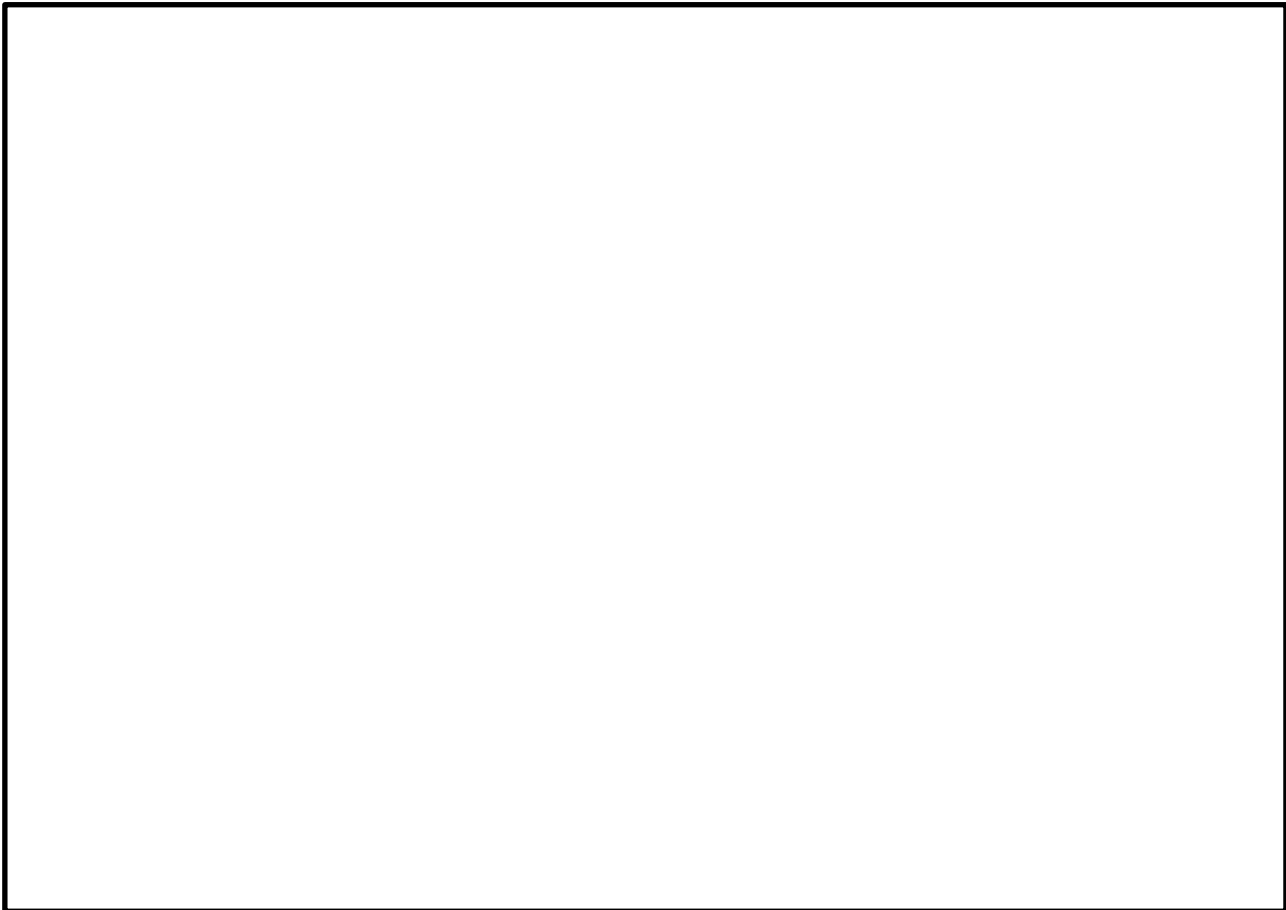


Abbildung 10. Reduktion der myeloiden Rxra-Expression erhöht die Infarktgröße nach I/R-Schaden

(A) Repräsentative PCR-Blots des Rxra-Wildtyp-Allel und Rxra-L-Allel-Expression in peripherem Blut und verschiedenen Geweben von Cx3cr1ΔRxra- und Kontrollmäusen; (B) Quantifizierung der Rxra-Wildtyp-mRNA mittels qPCR in Blutmonozyten von Cx3cr1ΔRxra- und Kontrollmäusen; (C) Schematische Darstellung des Studiendesigns zur Untersuchung der Rolle von Rxra im I/R-Schaden. (D) Repräsentative Bulls-Eye-Bilder des linken Ventrikels nach I/R-Schaden zum Vergleich der Infarktgröße an d30 zwischen Kontrollmäusen und Cx3cr1ΔRxra-Tieren. (E) Quantifizierung der Infarktgröße an den jeweiligen Zeitpunkten. Dargestellt ist Mittelwert±SD. Modifiziert nach Räuber,, Weinberger 2022.

Insgesamt ist somit die Verringerung der RXRα-Expression in den myeloischen Zellen mit einer Zunahme der Infarktgröße im Rahmen eines Myokardinfarktes verbunden. Eine wichtige Funktion von myeloiden Zellen im Infarktgeschehen, ist die Abräumung von nekrotischem bzw. apoptotischem Zellmaterial aus dem ischämischen Bereich. Analog zu den Befunden der Niere (Roszer, Menendez-Gutierrez et al. 2011) fanden sich deutlich vermehrt apoptotische Zellen im Infarktbereich in Cx3cr1ΔRxra-Tieren. Parallel hierzu, zeigte ein Vergleich der phagozytotischen Aktivität von Blutmonozyten von Cx3cr1ΔRxra-Tieren eine Abnahme im Vergleich zu den Kontrollmäusen (Abbildung 11 A-B).

Eine weitere wichtige Funktion von Makrophagen im Infarktgeschehen ist die Bereitstellung von proangiogenetischen Faktoren wie z.B. Vegfa, was zu einer verbesserten Vaskularisierung des Infarktgrenzgebietes führt (van Amerongen, Harmsen et al. 2007). Da diese Funktion bekannter weise durch RXR α reguliert wird (Daniel, Nagy et al. 2014), analysierten wir die Dichte der kardialen Blutgefäße 30 Tage nach dem Myokardinfarkt. Die Quantifizierung der Gefäßdichte zeigte eine signifikant geringere Anzahl von Gefäßen bei Cx3cr1 Δ Rxra-Tieren im Vergleich zu den Kontrolltieren (Abbildung 11 C-D).

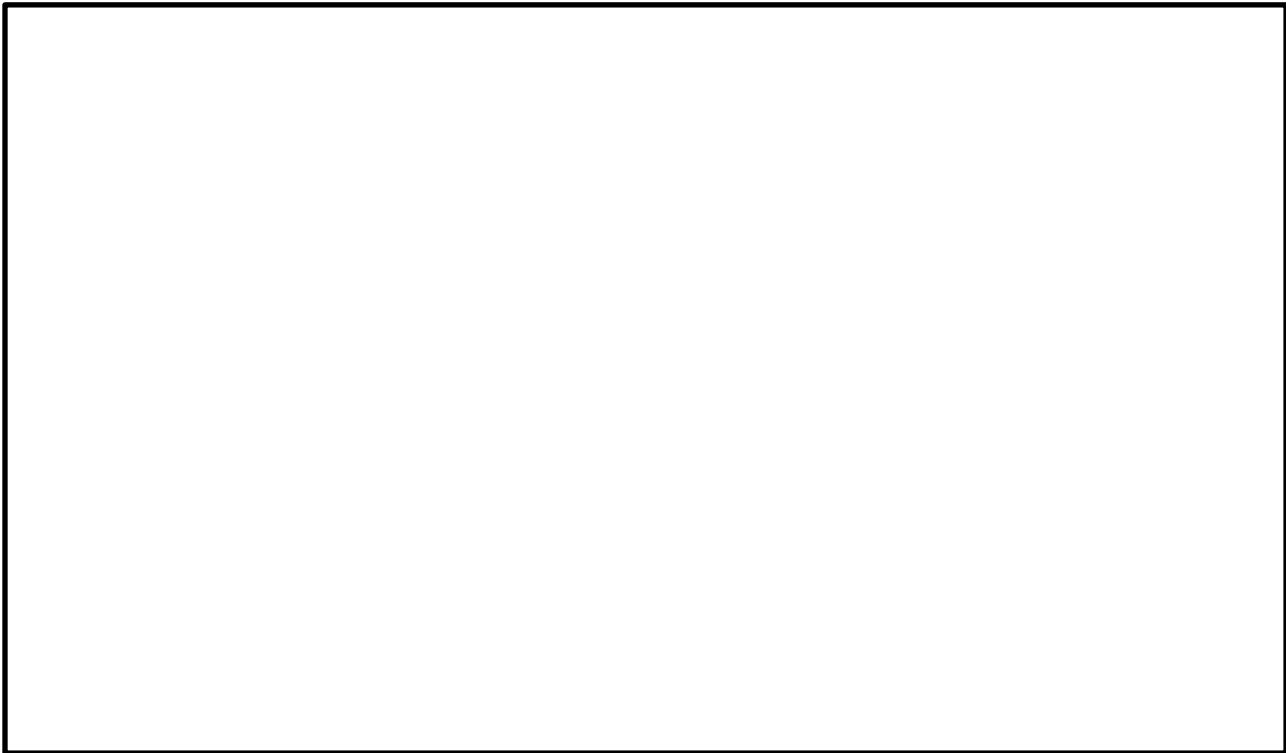


Abbildung 11. Verringerte Rxra-Expression führt zu einer schlechteren Vaskularisierung sowie Phagozytose im Infarktgebiet

(A) Repräsentative immunhistologische Färbungen zur Darstellung apoptotischer Zellen mit einem ApopTag Plus Fluorescein In Situ Apoptosis Detection Kit (grün) und der nukleären Gegenfärbung Hoechst (blau). (B) Quantifizierung apoptotischer Zellen pro Fläche im Herzen von Cx3cr1 Δ Rxra im Vergleich zu Kontrollmäusen an Tag 1 nach MI. (C) Repräsentative immunhistologische Färbungen zur Darstellung der kardialen Gefäßdichte mit einem CD31-Antikörper (rot). (D) Quantifizierung der kardialen Gefäßdichte in der Infarktgrenzzone am Tag 30 nach MI in Cx3cr1 Δ Rxra im Vergleich zu Kontrollmäusen. Dargestellt ist Mittelwert \pm SD. Modifiziert nach Räuber, ..., Weinberger 2022.

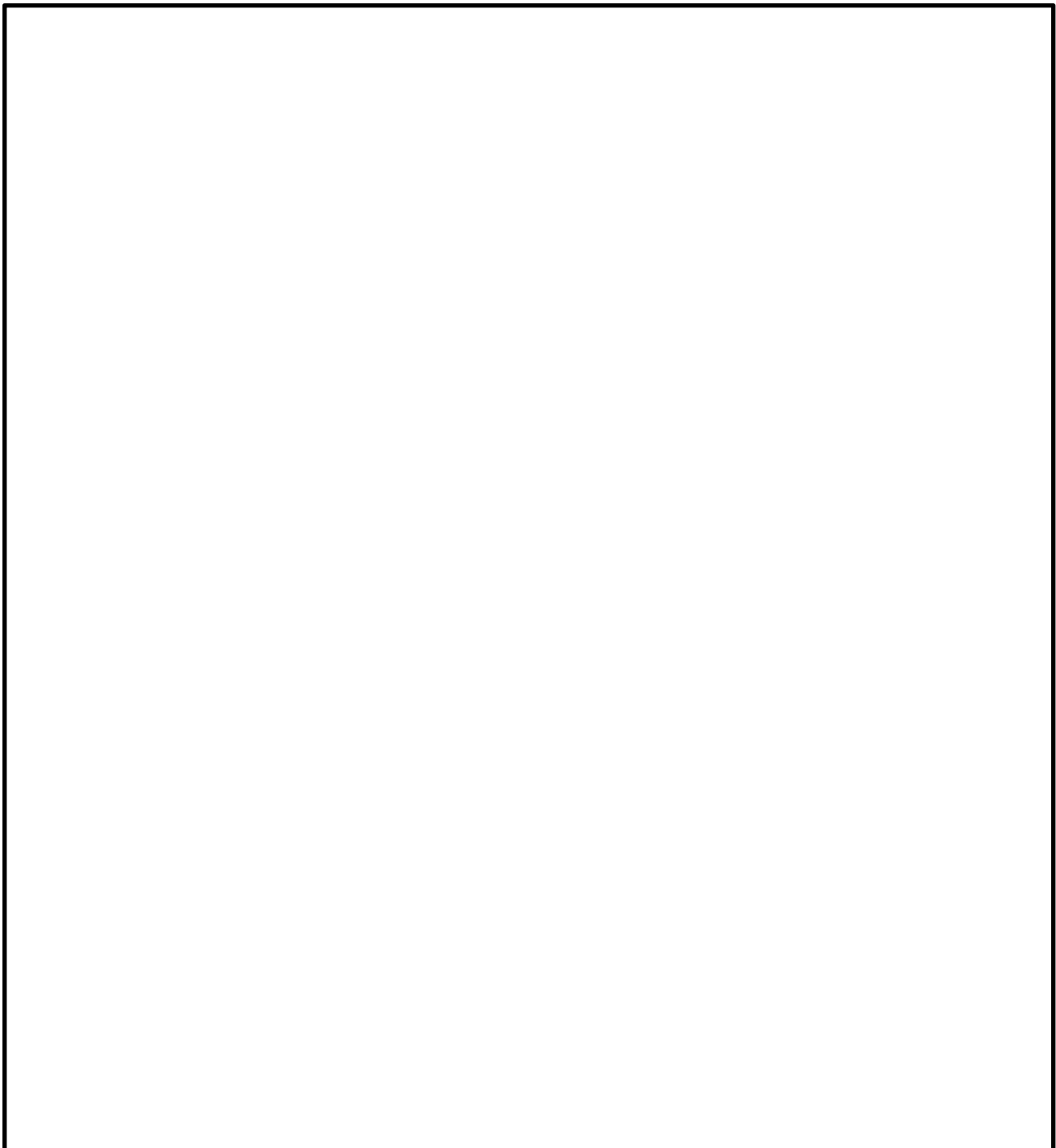
Mithilfe eines Proteome ProfilerTM Mouse XL Cytokine Array (Methoden) führten wir zudem eine umfassende Charakterisierung der kardialen Zytokin- und Chemokinprofile im Infarktgebiet an Tag 1 nach MI durch und verglichen deren Expression im ischämischen Gewebe von Cx3cr1 Δ Rxra- und Kontrollmäusen. Der Vergleich von 110 Zytokinen,

Chemokinen und Wachstumsfaktoren ergab jedoch keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen.

Zusammenfassend konnten wir zeigen, dass sich die gezielte Verringerung der $Rx\alpha$ -Expression in myeloischen Zellen negativ auf das kardiale Remodeling nach einem Myokardinfarkt auswirkt. Eine geringere Expression von $Rx\alpha$ förderte die Anhäufung apoptotischer Zellen im Myokard, reduzierte die Angiogenese in der Infarkttrandzone bzw. im Infarktgebiet und ist mit einem größeren Infarktvolumen verbunden. Diese Ergebnisse weisen auf eine relevante Funktion von $RXR\alpha$ in myeloischen Zellen während der Umbauprozesse nach einer akuten ischämischen Verletzung im Herzen hin und könnte somit als therapeutisches Ziel adressiert werden um die Heilung nach einem Myokardinfarkt zu verbessern.

2.5. Herkunft von arteriellen Makrophagen und deren Funktion in der vaskulären Homöostase und Inflammation

Wie im Herzen, stellen Makrophagen auch die häufigsten Immunzellen in der Gefäßwand dar. Um die Funktion und Herkunft von Gewebsmakrophagen in der Arterienwand im Ruhezustand sowie in der Inflammation besser zu verstehen, wendeten wir verschiedene Fate-Mapping-Mausmodelle sowie nicht-myeloablative Knochenmarkchimäre an und kombinierten diese mit Einzelzell-Transkriptom-Analysen. Untersuchungen an der bereits beschriebenen Rank-Cre-Mauslinie zeigten, dass Gewebsmakrophagen in der Aorta in Tieren im Alter von bis zu 45 Wochen von erythromyeloiden Progenitoren aus dem Dottersack abstammen (Abbildung 12 A-B). Im Alterungsprozess beobachteten wir eine Abnahme der EMP-stämmigen Makrophagen (im Alter von bis zu 90 Wochen) in der Adventitia, während deren Anteil z.B. im Gehirn in Form von Mikroglia stabil blieb. Analog hierzu kam es zu einer geringfügigen Zunahme der absoluten Anzahl von BMDMs in der Arterienwand, welche jedoch den Verlust der EMP-stämmigen Makrophagen nicht ausgleichen konnte. Insgesamt zeigt sich somit eine Verminderung der absoluten Zahl der Makrophagen in der Gefäßwand im Alter (Abbildung 12 C-D). Der Mechanismus hinter der Reduktion der gewebständigen Makrophagen ist bislang nicht gut verstanden, obwohl als möglicher Grund eine reduzierte Selbstproliferation aufgrund von Umweltstress oder metabolischen Veränderungen berichtet wird (van Beek, Van den Bossche et al. 2019). Dies könnte zu einer Erschöpfung der residenten Makrophagen im Alter führen.

**Abbildung 12. Herkunft von arteriellen Makrophagen im Alterungsprozess**

(A) Repräsentative durchflusszytometrische Darstellung der eYFP-Expression von Adventitia-Makrophagen (CD45+, lin-(CD11c, SiglecF, Ter119, Ly6g), CD11b+, F4/80+ Zellen) in *Rank^{Cre}Rosa26^{eYFP}*-Mäusen zu verschiedenen Zeitpunkten (postnataler Tag 3 (PND3); Woche (w) 8-11; w45; w90). (B) Prozentualer Anteil der eYFP-Expression in der adventitialen Makrophagen, Mikroglia des Gehirns und Monozyten. (C) Absolute Anzahl von eYFP+ und eYFP- Makrophagen in der Adventitia. (D) Repräsentative Immunfluoreszenzbilder (YFP(grün), F4/80 (rot)) der Arterienwand von *Rank^{Cre}Rosa26^{eYFP}*-Mäusen. Mittelwert \pm SD ist angegeben. Modifiziert nach Weinberger et al. 2020.

Transkriptomanalysen auf Einzelzellebene zeigten, dass der Ursprung der Makrophagen auch einen Einfluss auf deren Genexpression hat. Die Sequenzierung von Immunzellen aus der Adventitia von *Rank^{Cre}Rosa^{eYFP}* Tieren bestätigte zum einen, dass Makrophagen der häufigste Immunzelltyp im Ruhezustand in der Arterienwand sind und zum anderen, dass sie zum Großteil embryonalen Ursprungs sind. Interessanterweise zeigten EMP-stämmige adventitiale Makrophagen eine hohe Expression von Genen (u.a. des endothelialer Hyaluronsäurerezeptor 1 der Lymphgefäße (*Lyve-1*), *Stabilin- 1 (Stab1)*, *Growth-arrest-specific gene-6 (Gas6)* und *CD163*), welche mit antiinflammatorischen Funktionen von Zellen verbunden sind und eine wichtige Rolle in der Gewebemöostase spielen (Abbildung 13).

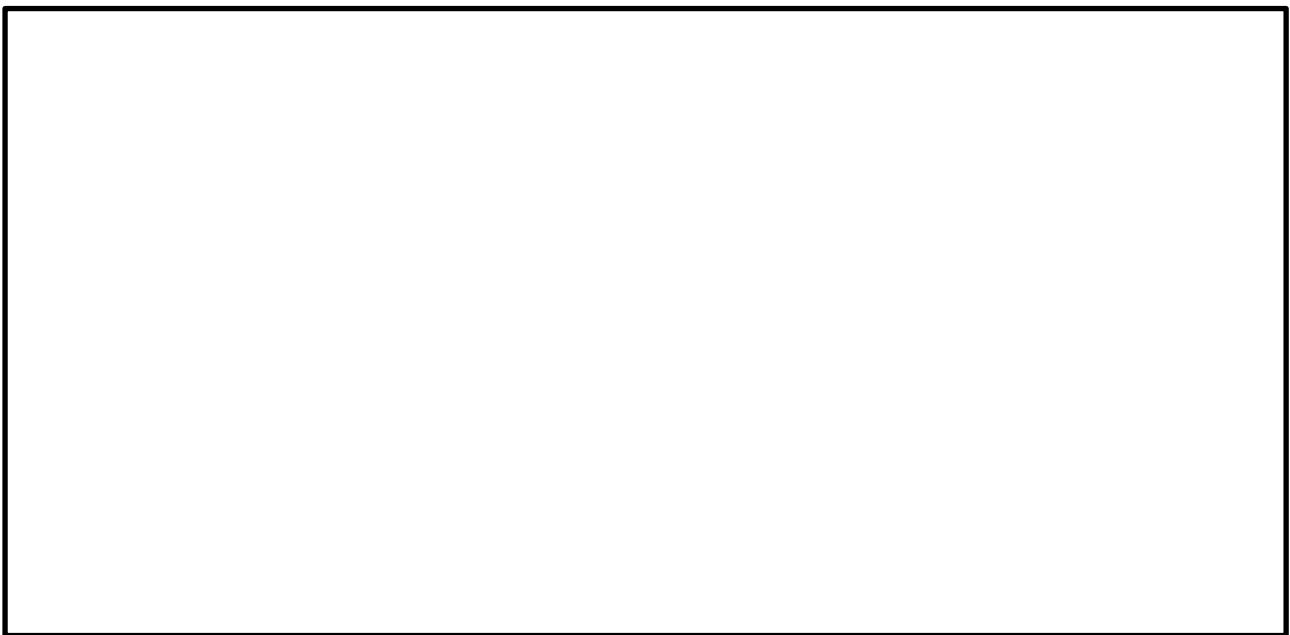


Abbildung 13. Einzelzellsequenzierung von Immunzellen der Adventitia

(A) Versuchsaufbau und UMAP-Darstellung der Genexpression in einzelnen CD45+-Zellen, die aus Aorten von *Rank^{Cre}Rosa26^{eYFP}*-Mäusen entnommen wurden. Die Zellen gruppieren sich in 5 verschiedene Cluster, nämlich verschiedene Makrophagen-Subtypen, B- und T-Lymphozyten und NK-Zellen. (B) Kreisdiagramme, die den Anteil der verschiedenen Leukozytenpopulationen in der Adventitia (linkes Feld) und den Anteil der eYFP-exprimierenden Zellen innerhalb der adventitialen Makrophagen (rechtes Feld) darstellen. (C) Geigenplots, die die Expression spezifischer Marker von homöostatischen (Cluster 0), antigenpräsentierenden (Cluster 3) und entzündlichen (Cluster 4) Makrophagen darstellen. Modifiziert nach Weinberger et al. 2020.

Darüber hinaus wurde in dieser Studie das Zusammenspiel von EMP-abgeleiteten Makrophagen und BMDMs in der Entzündung mithilfe eines AngiotensinIII-induzierten vaskulären Inflammationsmodels untersucht. Zur Auslösung der vaskulären Entzündung wird den Tieren hierbei über eine implantierte osmotische Pumpe für den gewünschten Zeitraum AngiotensinIII bzw. Kochsalzlösung subkutan verabreicht. Die Herkunft der

Makrophagen wurde in diesen Analysen mithilfe der *Flt3^{Cre}Rosa26^{eYFP}*-Reportermaus bestimmt, in der knochenmarksstämmige Zellen markiert werden. Die Entzündungsreaktion war initial durch eine ausgeprägte Infiltration von BMDMs charakterisiert. In der chronischen Inflammation nach einer 28-tägigen Behandlung mit AngiotensinII fanden wir jedoch eine ähnliche Verteilung der Makrophagen bezüglich ihrer Herkunft wie im Ruhezustand, sodass es sich hierbei nur um eine transiente Rekrutierung von BMDM handelt. Die residenten Makrophagen zeigten zudem eine deutlich gesteigerte Proliferation im Vergleich zu eingewanderten Makrophagen (Abbildung 14).

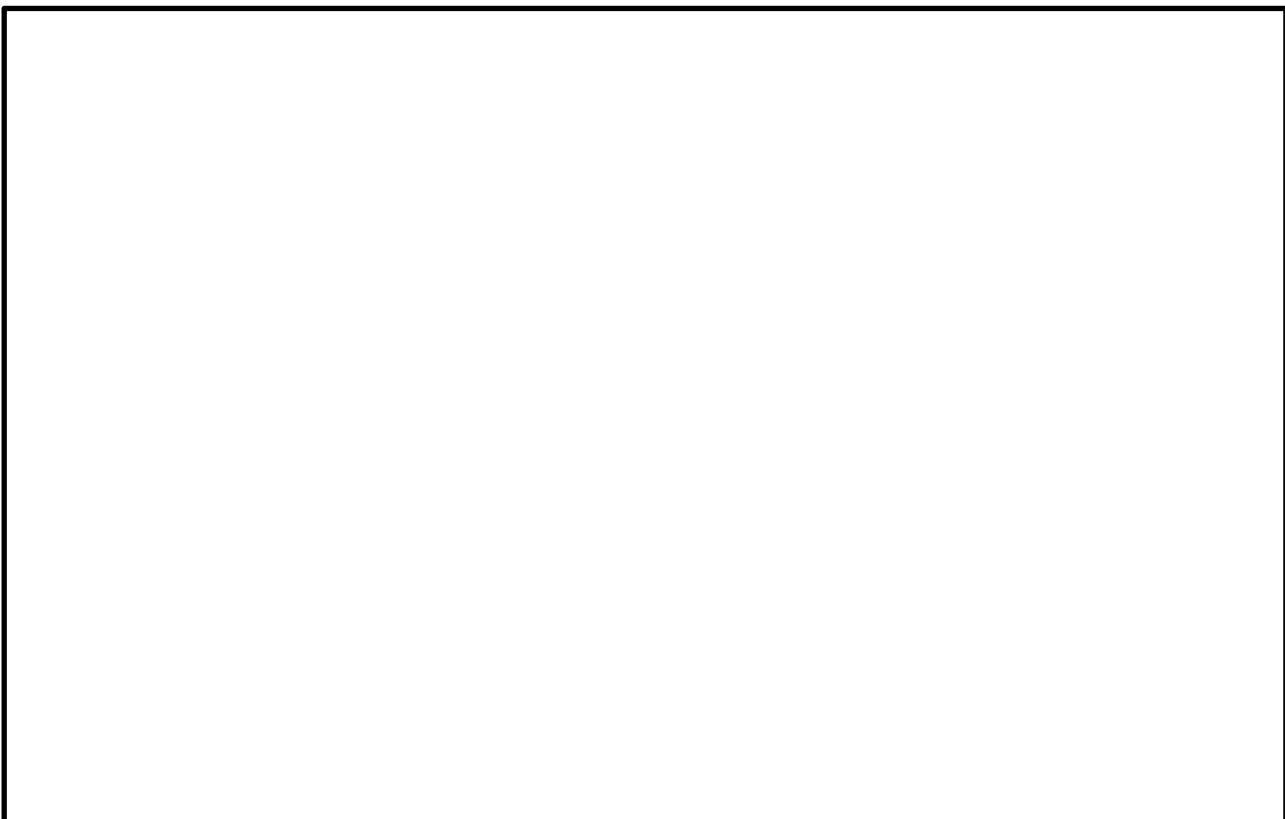


Abbildung 14. Rekrutierung sowie Proliferation residenter Makrophagen als Reaktion auf eine Behandlung mit AngiotensinII

(A) Schematische Darstellung der AngII-Verabreichung durch eine osmotische Pumpe, die entweder 10 oder 28 Tage lang in *Flt3^{Cre}Rosa26^{eYFP}*-Mäuse implantiert wurden. Gezeigt wird der Prozentsatz der eYFP+-Makrophagen in der Adventitia. (B) Schematische Darstellung zur Analyse des proliferativen Verhaltens von Makrophagen als Reaktion auf AngII durch wiederholte Injektion von EdU i.p. 1, 3 und 5 Tage vor der Organentnahme. Dargestellt ist die Quantifizierung der proliferierenden eYFP- und eYFP+-Makrophagen in den jeweiligen Gruppen. (C) repräsentative Immunhistologie der proliferierenden arteriellen Makrophagen in Reaktion auf AngII. Balken 50µm. Dargestellt ist der Mittelwert ± SD. Modifiziert nach Weinberqer et al. 2020.

Einzelzell-Tanskriptom-Analysen der gesamten Immunzellpopulation der Adventitia von *Rank^{Cre}Rosa^{eYFP}*-Tieren wiesen ein deutlich heterogeneres Bild an adventitialen

Immunzellen in der Inflammation im Vergleich zum Ruhezustand auf. Neben einer Vielzahl an verschiedenen Makrophagenpopulationen fanden wir in der Inflammation unter anderem dendritische Zellen, neutrophile Granulozyten sowie T- und B-Lymphozyten in der Gefäßwand. Die EMP-stämmigen Zellen (eYFP+ Zellen) waren vornehmlich im homöostatischen Makrophagencluster angesiedelt (Abbildung 15 A-B) und zeigten eine hohe Expression von Genen, die mit der Gewebekomplexität (u.a. *Lyve-1*, *Stab1*, *Gas6*, *Cd163*, und *Pf4*) verbunden sind. BMDM zeigten ein deutlich heterogeneres Expressionsprofil und konnten in inflammatorische (erhöhte Expression von z.B. *Ifit1*, *Ifi211*, *Ifit2*, *Ifit3* und *Irf7*), antiinflammatorische (z.B. *Ear2*, *Retnla*, *MiK67*) sowie reparative (z.B. durch *Spp1*, *Arg1*, *Chil3* und *Tgfb*) Cluster eingeteilt werden (Abbildung 15 C). Diese Daten bestätigen das breite funktionelle Spektrum der arteriellen Makrophagen und ihre Heterogenität, die in anderen Modellen vaskulärer Erkrankungen beobachtet wurden.

Zusätzlich zur differenziellen Analyse der Makrophagen-Cluster verglichen wir auch die Transkriptionsprofile aller EMP-stämmigen Makrophagen mit den nicht-EMP-stämmigen Makrophagen in der arteriellen Inflammation. EMP-stämmige Makrophagen exprimierten in hohem Maße homöostasebezogene Gene. Diese Homöostase-assoziierten Gene sind mit biologischen Signalwegen assoziiert, die an der VEGF-Produktion, der negativen Regulation apoptotischer Prozesse und der Regeneration beteiligt sind. Zusätzlich analysierten wir Signalwege, die mit der sekretorischen Funktion von Makrophagen assoziiert sind. Unter entzündlichen Bedingungen exprimierten EMP-stämmige Makrophagen hohe Mengen an Chemokinen, die andere Immunzellen wie Monozyten, Neutrophile und Lymphozyten anlocken (*Ccl2*, *Ccl7* und *Ccl12*). Weiterhin waren Gene der Komplementkaskade (*C1qa*, *C1qb* und *C1qc*) in EMP-stämmigen Makrophagen hochreguliert. Auf der anderen Seite exprimierten BMDMs Gene, die mit der Zytokinsekretion assoziiert sind und sowohl mit proinflammatorischen (z.B. *Il1b* und *Thbs1*) als auch mit anti-inflammatorischen Prozessen (z.B. *Chil3* und *Plac8*) in Verbindung stehen (Abbildung 15 D).

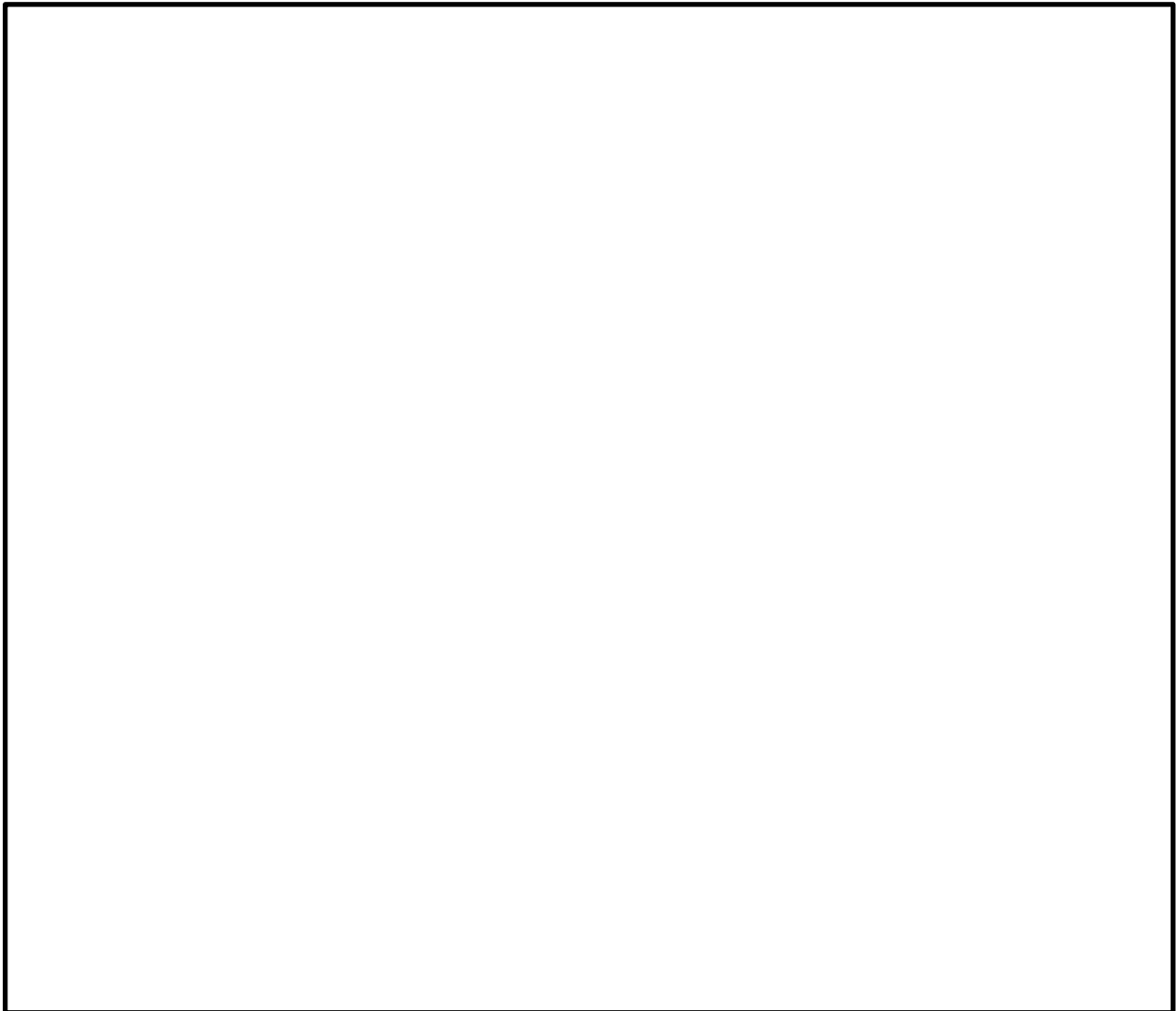


Abbildung 15. Einzelzellanalysen von Immunzellen in der vaskulären Inflammation

Die Transkriptomanalyse einzelner Zellen zeigt die Heterogenität der Leukozytenpopulationen im Rahmen der Inflammation. (A) UMAP-Visualisierung der Genexpression von CD45⁺-Zellen in den Adventitia von *Rank^{Cre}Rosa26^{eYFP}*-Mäusen, die 10 Tage lang mit Angiotensin II behandelt wurden. Darstellung von 13 verschiedenen Zelltypen, darunter 5 verschiedene Makrophagen-Subtypen. (B) Feature- (oberes Feld) und Violin-Plots (unteres Feld) zeigen die Expression von eYFP in adventitialen Leukozyten. Die Expression von eYFP wird hauptsächlich in der Gruppe der homöostatischen Makrophagen (Gruppe 2) festgestellt (C) Heatmap mit den 30 wichtigsten Markergenen in jeder Makrophagen-Untergruppe. Die Expressionsskala ist Veränderung der Genexpression im entsprechenden Cluster im Vergleich zu allen anderen Makrophagen-Clustern. Repräsentative Marker der einzelnen Subtypen sind dargestellt. (D) Vergleich der Genexpression der beschriebenen Gene in EMP-stämmigen und knochenmarksstämmigen Makrophagen. Modifiziert nach Weinberger et al. 2020.

Zusammenfassend konnten wir nachweisen, dass arterielle Makrophagen insbesondere in der Inflammation von heterogener Natur sind. Ihre unterschiedlichen Entwicklungsursprünge tragen zu dieser Heterogenität bei und sind mit unterschiedlichen Mustern der Genexpression und unterschiedlichen Reaktionen auf homöostatische Signale und Entzündungsreize verbunden. EMP-stämmige Makrophagen stellen die Hauptpopulation von Makrophagen in gesunden erwachsenen Mäusen dar, die entzündungshemmende und homöostatische Funktionen erfüllen. Sie werden im Alter durch noch nicht definierte Mechanismen vermindert, und ihr Verlust wird nicht durch BMDMs kompensiert. Im Rahmen einer arteriellen Inflammation dringen BMDMs in die entzündete Gefäßwand ein und zeigen heterogene Transkriptionsprofile, die sowohl mit entzündlichen als auch mit reparativen Funktionen verbunden sind. Residente EMP-Makrophagen reagierten mit einer Induktion von Signalwegen, die mit der Geweberegeneration, Chemotaxis, Apoptoseregulation und der Modulation verschiedener sekretorischer Proteine verbunden war.

3. Zusammenfassung und Ausblick

In der beschriebenen Habilitationsarbeit wurden verschiedene Aspekte der innate Immunantwort im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen beleuchtet. Auf verschiedenen Ebenen konnte gezeigt werden, dass immunologische Prozesse bei der Entstehung und Erhaltung einer arteriellen Thrombose, der arteriellen Inflammation und auch bei der Heilung eines Herzinfarkts eine Rolle spielen.

Die arterielle Thrombose, welche ursächlich für den Myokardinfarkt ist, wird maßgeblich durch neutrophile Granulozyten unterhalten. Hier spielt vor allem die Freisetzung von NETs, Netzwerke von extrazellulären DNA-Strängen die von Neutrophilen freigesetzt werden und stark prokoagulatorisch wirken, eine wichtige Rolle. Diese Strukturen können sowohl in murinen als auch in humanen Thromben nachgewiesen werden, und zeigen auch bezüglich der Kinetik der NET-Bildung ein ähnliches Bild. Die generelle Komposition von Immunzellen in Thromben ist vergleichbar in beiden Spezies, sodass das Mausmodell die humane Situation adäquat widerspiegelt. Dies ist vor allem im Fe₃Cl-induzierten Thrombosemodell der Fall. Die Thrombusbildung und auch die Thrombusstabilität kann durch eine Inhibition der NET-Formation deutlich reduziert werden und diese Veränderung der Thrombusbeschaffenheit geht auch mit einer verminderten Leukozytenzahl, Faktor XII und Fibrinogen im Thrombus einher. Die Inhibition der NETose hat schlussendlich auch einen positiven Effekt auf den Heilungsprozess eines akuten Myokardinfarktes im Mausmodell und verbessert sowohl die Infarktgröße als auch die kardiale Pumpfunktion deutlich.

In diesen Untersuchungen wurde das Myokardinfarktmodell mittels Ischämie/Reperfusionsschaden gewählt, da bei diesem Modell auch die intravaskuläre Thrombose eine Rolle spielt (Wang, Anderson et al. 1995), die bei der chronischen Ligatur aufgrund des permanenten chirurgischen Arterienverschlusses nicht maßgeblich an den pathophysiologischen Vorgängen beteiligt ist. Neben diesem grundlegenden Unterschied, unterscheiden sich die beiden Modelle auch wesentlich bezüglich der inflammatorischen Prozesse die in Gang gesetzt werden, dem Ausmaß des Schadens als auch dem Heilungsverlauf. In der aktuellen Literatur werden die beiden Methoden jedoch oft als äquivalent dargestellt. In einem kürzlich publizierten Perspektivenartikel (Lindsey, de Castro Bras et al. 2021) wird die Notwendigkeit einer Unterscheidung dieser beiden Modelle und die richtige Auswahl zur Beantwortung von verschiedenen wissenschaftlichen Fragestellungen hervorgehoben. Unsere Untersuchungen stellen den jeweils induzierten Schaden, Heilungsverlauf und Metabolismus in den beiden Methoden gegenüber, zeigen Ähnlichkeiten und Unterschiede auf und bestätigen den großen diagnostischen Nutzen einer sequentiellen PET-

Untersuchung zur Analyse der Folgen des induzierten Infarktes. Insbesondere erlaubt diese Methode auch die Überwachung des Myokardschadens im Rahmen des IR-Modells, der, verglichen mit dem Goldstandard der histologischen Untersuchung, präzise dargestellt werden kann. Als großer Vorteil im Vergleich mit der histologischen Untersuchung kann die PET u.a. die Infarktgröße sowie die kardiale Funktion intraindividuell im Zeitverlauf abbilden, was für eine Untersuchung von therapeutischen Ansätzen einen wichtigen Aspekt darstellt. Zudem birgt die PET-Untersuchung zusätzlich den diagnostischen Nutzen des LVMV, der als Surrogatparameter der linksventrikulären Masse gilt (Todica, Beetz et al. 2018). Im chronischen Infarkt, und in etwas geringerer Ausprägung im IR-Schaden, zeigt sich jeweils eine Reduktion des LVMV in der akuten Phase und eine signifikante Erholung im Verlauf. Dies könnte einen Hinweis auf die ablaufenden Kompensationsmechanismen (z.B. Hypertrophie des Myokards) im kardialen Remodeling darstellen, die etwas ausgeprägter im chronischen Infarktmodell von statten gehen. Dies ist unter anderem durch die deutlich schlechtere LV-Funktion in diesem Modell begründet, welche sich im IR-Modell im Vergleich zu den Ruhebedingungen kaum ändert. Diese Studie liefert somit neue Erkenntnisse über die Herzfunktion in der longitudinalen PET-Bildgebung in zwei Mausmodellen mit Myokardinfarkt sowie dem davon abgeleiteten LVMV.

Einer der wichtigsten Immunzelltypen, die an der Ausheilung eines Myokardinfarktes beteiligt ist, sind Makrophagen. Unter anderem sind diese Zellen von besonderem Interesse, da sie verschiedene Polarisierungen aufweisen können. In der Literatur werden Makrophagen oft in M1- und M2-Makrophagen unterteilt. M1-Makrophagen können z.B. durch TNFalpha oder Interferone aktiviert werden und eher proinflammatorische Chemo- und Zytokine exprimieren. M2-Makrophagen werden z.B. durch IL-4 oder IL-10 aktiviert und wirken eher immunsuppressiv. Zwar wird diese binäre Einteilung in letzter Zeit immer mehr verlassen, da die Polarisierung der Makrophagen eher einem Kontinuum entspricht, jedoch zeigt diese Unterteilung eindrücklich wie unterschiedlich Makrophagen unter verschiedenen Stimuli reagieren können. Diese Eigenschaft zeigt sich auch in unseren Untersuchungen der Expression verschiedener Oberflächenantigene im zeitlichen Verlauf und der anatomischen Verteilung von Makrophagen nach einem Myokardinfarkt. Interessanterweise änderte sich nicht nur das Expressionsprofil von Makrophagen die in das Infarkt- sowie Remotegebiet aus dem Blutkreislauf einwanderten, sondern auch das von residenten Makrophagen, was den Einfluss der Umgebung (in unserem Falle der Untergang von Herzmuskelzellen und der dadurch entstehenden Inflammation) auf den Phänotyp dieser

Zellen unterstreicht. Bei der Population der eingewanderten Makrophagen zeigte sich neben diesen phänotypischen Veränderungen auch eine Zunahme der phagozytotischen Aktivität, eine essentielle Funktion von Makrophagen im Infarkt um nekrotische und apoptotische Zelle abzuräumen.

Die mannigfaltigen Funktionen von Makrophagen und Monozyten werden unter anderem durch den RXR α , der zur Superfamilie der nukleären Steroid- und Schilddrüsenhormone gehört, reguliert. Hierzu gehören insbesondere Funktionen wie deren vaskulogenetische sowie phagozytotische Funktionen. Die Ausschaltung von RXR α in myeloiden Zellen wirkt sich negativ auf die Infarktheilung aus, was sich insbesondere durch eine vergrößerte Infarktgröße manifestiert. Als Ursache hierfür zeigt sich vor allem eine verschlechterte Vaskularisierung der Infarkt-Grenzzone. Zudem verbleiben eine vermehrte Anzahl an apoptotischen Zellen nach einem Myokardinfarkt in der Infarktzone, was mit einer verminderten phagozytotischen Funktion von Makrophagen einhergeht. Die fehlende Regulation durch RXR α in myeloiden Zellen hat somit einen relevanten Einfluss auf verschiedene pathophysiologische Vorgänge nach Myokardinfarkt und könnte daher ein attraktives Ziel darstellen um deren reparative Funktion im Infarkt positiv zu beeinflussen und somit das Outcome zu verbessern. Unklar ist weiterhin ob hierbei residente und rekrutierte Makrophagen unterschiedlich reguliert sind.

In der arteriellen Inflammation hat die Herkunft von Makrophagen einen deutlichen Einfluss auf deren Funktion. EMP-stämmige Makrophagen aus dem Dottersack tragen wesentlich zu den adventitialen Makrophagen im Ruhezustand bei und bilden eine transkriptionell unterschiedliche Gruppe zu rekrutierten Makrophagen. Einzelzelltranskriptomanalysen zeigen, dass EMP-stämmige Zellen vor allem Gene exprimieren, die mit der Gewebshomöostase assoziiert sind. Inflammatorischen Makrophagen in der Gefäßwand stammen nahezu ausschließlich aus dem Knochenmark. Die Population von EMP-Makrophagen ist bis in das Erwachsenenalter stabil, nimmt jedoch während des Alterns zahlenmäßig ab und wird nicht in ausreichendem Maße durch Makrophagen aus dem Knochenmark ersetzt. Als Reaktion auf eine vaskuläre Inflammation kommt es zur Zunahme der adventitialen Makrophagen durch eine Rekrutierung von BMDMs. Insgesamt ändert sich die Zusammensetzung der Leukozyten in der Gefäßwand in der Inflammation deutlich und es sind auch z.B. T- und B-Lymphozyten, NKs und dendritische Zellen zu finden. Zudem ist die Makrophagenpopulation unter inflammatorischen Bedingungen deutlich heterogener und besteht aus 5 verschiedenen Makrophagenclustern. Zusätzlich zur Rekrutierung von Makrophagen proliferieren EMP-stämmigen Makrophagen lokal und zeigen eine

transkriptionelle Reaktion, die mit der Geweberegeneration in Zusammenhang steht. Das Transkriptionsprofil der rekrutierten Makrophagen ist deutlich heterogener und zeigt sowohl pro- als auch antiinflammatorische Markergene auf. In welcher Weise embryonale Makrophagen die vaskuläre Inflammation und die damit verbundenen Veränderungen der Gefäßwand beeinflussen werden zukünftige Studien zeigen, in denen diese Zellart spezifisch ausgeschaltet werden.

Weitestgehend unklar ist zudem, wie die Anzahl und die Verteilung von residenten EMP-stämmigen Makrophagen im Gewebe reguliert werden. *In vitro* Untersuchungen legen eine enge Verbindung von Fibroblasten zu Makrophagen nahe. Durch die Wahrnehmung der Gewebsdichte regulieren Fibroblasten die Makrophagendichte durch die Expression von *Csf1*, dem linienspezifischen Wachstumsfaktor für Makrophagen, über einen Enhancer von *Csf1*, der speziell in Fibroblasten aktiv ist (Zhou, Franklin et al. 2022). *In vivo* Untersuchungen müssen zeigen, ob dieses zelluläre Zusammenspiel auch in kardiovaskulären Geweben zutrifft.

Zukünftige Untersuchungen zur Antwort residenter Makrophagen auf eine Ischämie des Herzens und deren Interaktion mit anderen Zellen des Immunsystems in der Heilungsphase werden wichtige Ergebnisse liefern, inwieweit dieser Zelltyp ein gutes Ziel für etwaige therapeutische Interventionen darstellt. Da sie unter anderem als antigenpräsentierende Zellen fungieren, liegt unter anderem auch ein Einfluss auf das adaptive Immunsystem sowie andere rekrutierte Immunzellen nahe. Hierfür sind Studien notwendig, die Mauslinien untersuchen, in denen gewebsständige Makrophagen ohne Auslösung einer Inflammation ausgeschaltet werden können und so deren Eigenschaften im Ruhezustand sowie in verschiedenen Phasen nach einem Myokardinfarkt auf transkriptioneller sowie funktioneller Ebene untersucht werden können.

Ein zusätzlicher wichtiger Aspekt der Funktion von Makrophagen, der in den aktuellen Studien zur Immunantwort in kardiovaskulären Erkrankungen wenig Beachtung findet, ist die veränderte Immunantwort im Alter (Inflammaging). Da jedoch kardiovaskuläre Erkrankungen insbesondere PatientInnen mit höherem Alter betreffen, werden Untersuchungen an gealterten Tieren zeigen müssen, inwieweit sich deren inflammatorische Prozesse zu jungen Tieren unterscheiden. Dieser Vergleich ist essentiell, um etwaige therapeutische Ziele (z.B. Modulation der Funktion von verschiedenen Immunzellpopulationen) auf das Alter von PatientInnen anzupassen und eine verbesserte, personalisierte Behandlung zu ermöglichen.

Zusammenfassend wird in der vorliegenden Habilitationsschrift die bedeutende Rolle von Immunzellen in der kardiovaskulären Gewebshomöostase sowie in verschiedenen kardiovaskulären Erkrankungen aufgezeigt. Weiterführende Untersuchungen, die auf eine Modulation der verschiedenen Immunzelltypen (insbesondere rekrutierte und residente Makrophagen) zunächst im Kleintier- und anschließend im Großtiermodell abzielen, sind von großem Interesse um weitere Therapiemöglichkeiten von kardiovaskulären Erkrankungen zu erschließen.

4. Abkürzungsverzeichnis

%ID/g	Prozentsatz der injizierten Herzdosis pro Gramm
Arg1	Arginase 1
BMDM	knochenmarksstämmiger Makrophage
C1	Complement component 1
Ccl	CC-chemokine ligand
CCR2	C-C Chemokinrezeptor Typ 2
Chil3	Chitinase-like 3
Csf1	Colony Stimulating Factor 1
CX3CR1	C-X3-C-Chemokinrezeptor 1
Ear2	Nukleärer Rezeptor Subfamilie 2 Gruppe F6
EDV	Enddiastolisches Volumen
EF	Ejektionsfraktion
EMP	erythromyeloide Vorläuferzelle
ESV	Endsystolisches Volumen
FDG	Fluorodeoxyglucose
Gas6	Growth-arrest-specific gene-6
I/R	Ischämie-Reperfusionsschaden
Ifit1	Interferon-induziertes Protein mit Tetratricopeptid Repeats
Il1b	Interleukin 1 beta
KHK	Koronare Herzkrankheit
LAD	Vorderwandarterie
LVMV	linksventrikuläres Stoffwechselvolumen
Lyve-1	endothelialer Hyaluronsäurerezeptor 1 der Lymphgefäße
MHC-II	Major-Histokompatibilitäts-Komplex II
MI	Myokardinfarkt
MiK67	Marker Of Proliferation Ki-67
MRT	Magnetresonanztomographie

NE	<i>neutrophile Elastase</i>
NETs	<i>Neutrophile extrazelluläre Fallen</i>
PAD	<i>Peptidylarginin-Deiminase</i>
PCI	<i>Perkutane Koronarintervention</i>
PET	<i>Positronen-Emissionstomographie</i>
<i>Pf4</i>	<i>Plättchenfaktor 4</i>
<i>Plac8</i>	<i>Placenta Associated 8</i>
<i>Retnla</i>	<i>Resistin-like alpha</i>
RXR	<i>Retinoid-X-Rezeptor</i>
<i>Spp1</i>	<i>Secreted Phosphoprotein 1</i>
<i>Stab1</i>	<i>Stabilin- 1</i>
<i>Tgfβ</i>	<i>Transforming growth factor Beta</i>
<i>Thbs1</i>	<i>Thrombospondin 1</i>
Tissue Factor	<i>Tissue Factor</i>
VEGF	<i>Vascular endothelial growth factor</i>

5. Verzeichnis der Publikationen der Habilitationsleistung

Novotny J*, Chandraratne S*, **Weinberger T***, Philippi V, Stark K, Ehrlich A, Pircher J, Konrad I, Oberdieck P, Titova A, Hoti Q, Schubert I, Legate KR, Urtz N, Lorenz M, Pelisek J, Massberg S, von Brühl ML, Schulz C. Histological comparison of arterial thrombi in mice and men and the influence of Cl-amidine on thrombus formation. PLoS One. 2018 Jan 2;13(1):e0190728. doi: 10.1371/journal.pone.0190728. PMID: 29293656; PMCID: PMC5749862.

Weinberger T, Esfandyari D, Messerer D, Percin G, Schleifer C, Thaler R, Liu L, Stremmel C, Schneider V, Vagnozzi RJ, Schwanenkamp J, Fischer M, Busch K, Klapproth K, Ishikawa-Ankerhold H, Klösges L, Titova A, Molkentin JD, Kobayashi Y, Engelhardt S, Massberg S, Waskow C, Perdiguero EG, Schulz C. Ontogeny of arterial macrophages defines their functions in homeostasis and inflammation. Nat Commun. 2020 Sep 11;11(1):4549. doi: 10.1038/s41467-020-18287-x. PMID: 32917889; PMCID: PMC7486394.

Fischer M*, **Weinberger T***, Messerer D, Zacherl MJ, Schulz C, Massberg S, Bartenstein P, Lehner S, Boening G, Todica A. Comparison of transient and permanent LAD ligation in mice using 18F-FDG PET imaging. Ann Nucl Med. 2022 Jun;36(6):533-543. doi: 10.1007/s12149-022-01734-8. Epub 2022 Mar 30. PMID: 35355159; PMCID: PMC9132804.

Räuber S, Fischer M, Messerer D, Wimmeler V, Konda K, Todica A, Lorenz M, Titova A, Schulz C, **Weinberger T**. Modulation of Rxr α Expression in Mononuclear Phagocytes Impacts on Cardiac Remodeling after Ischemia-Reperfusion Injury. Biomedicines. 2022; 10(6):1274. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10061274>

Weinberger T, Räuber S, Schneider V, Messerer D, Fischer M, Rudi WS, Kobayashi Y, Schulz C. Differential MHC-II expression and phagocytic functions of embryo-derived cardiac macrophages in the course of myocardial infarction in mice. Eur J Immunol. 2021 Jan;51(1):250-252. doi: 10.1002/eji.202048560. Epub 2020 Aug 27. PMID: 32761616

6. Literaturverzeichnis

- Bajpai, G., A. Bredemeyer, W. Li, K. Zaitsev, A. L. Koenig, I. Lokshina, J. Mohan, B. Ivey, H. M. Hsiao, C. Weinheimer, A. Kovacs, S. Epelman, M. Artyomov, D. Kreisel and K. J. Lavine (2019). "Tissue Resident CCR2- and CCR2+ Cardiac Macrophages Differentially Orchestrate Monocyte Recruitment and Fate Specification Following Myocardial Injury." Circ Res **124**(2): 263-278.
- Brunner, S., A. Todica, G. Boning, S. G. Nekolla, M. Wildgruber, S. Lehner, M. Sauter, C. Ubleis, K. Klingel, P. Cumming, W. M. Franz and M. Hacker (2012). "Left ventricular functional assessment in murine models of ischemic and dilated cardiomyopathy using [18 F]FDG-PET: comparison with cardiac MRI and monitoring erythropoietin therapy." EJNMMI Res **2**(1): 43.
- Casanova-Acebes, M., M. P. Menendez-Gutierrez, J. Porcuna, D. Alvarez-Errico, Y. Lavin, A. Garcia, S. Kobayashi, J. Le Berichel, V. Nunez, F. Were, D. Jimenez-Carretero, F. Sanchez-Cabo, M. Merad and M. Ricote (2020). "RXRs control serous macrophage neonatal expansion and identity and contribute to ovarian cancer progression." Nat Commun **11**(1): 1655.
- Chinetti-Gbaguidi, G., S. Colin and B. Staels (2015). "Macrophage subsets in atherosclerosis." Nat Rev Cardiol **12**(1): 10-17.
- Crea, F. and G. Liuzzo (2013). "Pathogenesis of Acute Coronary Syndromes." J Am Coll Cardiol **61**(1): 1-11.
- Daniel, B., G. Nagy, N. Hah, A. Horvath, Z. Czimmerer, S. Poliska, T. Gyuris, J. Keirsse, C. Gysemans, J. A. Van Genderachter, B. L. Balint, R. M. Evans, E. Barta and L. Nagy (2014). "The active enhancer network operated by liganded RXR supports angiogenic activity in macrophages." Genes Dev **28**(14): 1562-1577.
- Dawson, M. I. and Z. Xia (2012). "The retinoid X receptors and their ligands." Biochim Biophys Acta **1821**(1): 21-56.
- de Boer, O. J., X. Li, P. Teeling, C. Mackaay, H. J. Ploegmakers, C. M. van der Loos, M. J. Daemen, R. J. de Winter and A. C. van der Wal (2013). "Neutrophils, neutrophil extracellular traps and interleukin-17 associate with the organisation of thrombi in acute myocardial infarction." Thromb Haemost **109**(2): 290-297.
- De Villiers, C. and P. R. Riley (2020). "Mouse models of myocardial infarction: comparing permanent ligation and ischaemia-reperfusion." Dis Model Mech **13**(11).
- DeBerge, M., X. Y. Yeap, S. Dehn, S. Zhang, L. Grigoryeva, S. Misener, D. Procissi, X. Zhou, D. C. Lee, W. A. Muller, X. Luo, C. Rothlin, I. Tabas and E. B. Thorp (2017). "MerTK Cleavage on Resident Cardiac Macrophages Compromises Repair After Myocardial Ischemia Reperfusion Injury." Circ Res **121**(8): 930-940.
- Dutta, A., T. Sen and A. Chatterjee (2010). "All-trans retinoic acid (ATRA) downregulates MMP-9 by modulating its regulatory molecules." Cell Adh Migr **4**(3): 409-418.
- Engelmann, B. and S. Massberg (2013). "Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity." Nature reviews. Immunology **13**(1): 34-45.
- Ensan, S., A. Li, R. Besla, N. Degousee, J. Cosme, M. Roufaiel, E. A. Shikatani, M. El-Maklizi, J. W. Williams, L. Robins, C. Li, B. Lewis, T. J. Yun, J. S. Lee, P. Wieghofer, R. Khattar, K. Farrokhi, J. Byrne, M. Ouzounian, C. C. Zavitz, G. A. Levy, C. M. Bauer, P. Libby, M. Husain, F. K. Swirski, C. Cheong, M. Prinz, I. Hilgendorf, G. J. Randolph, S. Epelman, A. O. Gramolini, M. I. Cybulsky, B. B. Rubin and C. S.

Robbins (2016). "Self-renewing resident arterial macrophages arise from embryonic CX3CR1(+) precursors and circulating monocytes immediately after birth." Nat Immunol **17**(2): 159-168.

Epelman, S., K. J. Lavine, A. E. Beaudin, D. K. Sojka, J. A. Carrero, B. Calderon, T. Brija, E. L. Gautier, S. Ivanov, A. T. Satpathy, J. D. Schilling, R. Schwendener, I. Sergin, B. Razani, E. C. Forsberg, W. M. Yokoyama, E. R. Unanue, M. Colonna, G. J. Randolph and D. L. Mann (2014). "Embryonic and adult-derived resident cardiac macrophages are maintained through distinct mechanisms at steady state and during inflammation." Immunity **40**(1): 91-104.

Frodermann, V. and M. Nahrendorf (2017). "Neutrophil-macrophage cross-talk in acute myocardial infarction." Eur Heart J **38**(3): 198-200.

Furie, B. and B. C. Furie (2007). "In vivo thrombus formation." J Thromb Haemost **5 Suppl 1**: 12-17.

Furie, B. and B. C. Furie (2008). "Mechanisms of Thrombus Formation." N Engl J Med **359**(9): 938-949.

Gerber, Y., S. A. Weston, M. Enriquez-Sarano, C. Berardi, A. M. Chamberlain, S. M. Manemann, R. Jiang, S. M. Dunlay and V. L. Roger (2016). "Mortality Associated With Heart Failure After Myocardial Infarction: A Contemporary Community Perspective." Circ Heart Fail **9**(1): e002460.

Ginhoux, F., M. Greter, M. Leboeuf, S. Nandi, P. See, S. Gokhan, M. F. Mehler, S. J. Conway, L. G. Ng, E. R. Stanley, I. M. Samokhvalov and M. Merad (2010). "Fate mapping analysis reveals that adult microglia derive from primitive macrophages." Science **330**(6005): 841-845.

Ginhoux, F. and M. Guilliams (2016). "Tissue-Resident Macrophage Ontogeny and Homeostasis." Immunity **44**(3): 439-449.

Gomez Perdiguero, E., K. Klapproth, C. Schulz, K. Busch, E. Azzoni, L. Crozet, H. Garner, C. Trouillet, M. F. de Bruijn, F. Geissmann and H. R. Rodewald (2015). "Tissue-resident macrophages originate from yolk-sac-derived erythro-myeloid progenitors." Nature **518**(7540): 547-551.

Heusch, G. (2020). "Myocardial ischaemia-reperfusion injury and cardioprotection in perspective." Nat Rev Cardiol **17**(12): 773-789.

Horckmans, M., L. Ring, J. Duchene, D. Santovito, M. J. Schloss, M. Drechsler, C. Weber, O. Soehnlein and S. Steffens (2017). "Neutrophils orchestrate post-myocardial infarction healing by polarizing macrophages towards a reparative phenotype." Eur Heart J **38**(3): 187-197.

Lambert, J. M., E. F. Lopez and M. L. Lindsey (2008). "Macrophage roles following myocardial infarction." Int J Cardiol **130**(2): 147-158.

Lavine, K. J., S. Epelman, K. Uchida, K. J. Weber, C. G. Nichols, J. D. Schilling, D. M. Ornitz, G. J. Randolph and D. L. Mann (2014). "Distinct macrophage lineages contribute to disparate patterns of cardiac recovery and remodeling in the neonatal and adult heart." Proc Natl Acad Sci U S A **111**(45): 16029-16034.

Libby, P. (2012). "Inflammation in atherosclerosis." Arterioscler Thromb Vasc Biol **32**(9): 2045-2051.

Lindsey, M. L., L. E. de Castro Bras, K. Y. DeLeon-Pennell, N. G. Frangogiannis, G. V. Halade, C. C. O'Meara, F. G. Spinale, Z. Kassiri, J. A. Kirk, P. Kleinbongard, C. M.

Ripplinger and K. R. Brunt (2021). "Reperused vs. nonreperused myocardial infarction: when to use which model." Am J Physiol Heart Circ Physiol **321**(1): H208-H213.

Mass, E., I. Ballesteros, M. Farlik, F. Halbritter, P. Gunther, L. Crozet, C. E. Jacome-Galarza, K. Handler, J. Klughammer, Y. Kobayashi, E. Gomez-Perdiguero, J. L. Schultze, M. Beyer, C. Bock and F. Geissmann (2016). "Specification of tissue-resident macrophages during organogenesis." Science **353**(6304).

Massberg, S., L. Grahl, M. L. von Bruehl, D. Manukyan, S. Pfeiler, C. Goosmann, V. Brinkmann, M. Lorenz, K. Bidzhekov, A. B. Khandagale, I. Konrad, E. Kennerknecht, K. Reges, S. Holdenrieder, S. Braun, C. Reinhardt, M. Spannagl, K. T. Preissner and B. Engelmann (2010). "Reciprocal coupling of coagulation and innate immunity via neutrophil serine proteases." Nature medicine **16**(8): 887-896.

Massberg, S., C. Schulz and M. Gawaz (2003). "Role of platelets in the pathophysiology of acute coronary syndrome." Semin Vasc Med **3**(2): 147-162.

Michael, L. H., M. L. Entman, C. J. Hartley, K. A. Youker, J. Zhu, S. R. Hall, H. K. Hawkins, K. Berens and C. M. Ballantyne (1995). "Myocardial ischemia and reperfusion: a murine model." Am J Physiol **269**(6 Pt 2): H2147-2154.

Molawi, K., Y. Wolf, P. K. Kandalla, J. Favret, N. Hagemeyer, K. Frenzel, A. R. Pinto, K. Klapproth, S. Henri, B. Malissen, H. R. Rodewald, N. A. Rosenthal, M. Bajenoff, M. Prinz, S. Jung and M. H. Sieweke (2014). "Progressive replacement of embryo-derived cardiac macrophages with age." J Exp Med **211**(11): 2151-2158.

Moore, K. J., F. J. Sheedy and E. A. Fisher (2013). "Macrophages in atherosclerosis: a dynamic balance." Nat Rev Immunol **13**(10): 709-721.

Moreno, P. R., E. Falk, I. F. Palacios, J. B. Newell, V. Fuster and J. T. Fallon (1994). "Macrophage infiltration in acute coronary syndromes. Implications for plaque rupture." Circulation **90**(2): 775-778.

Nahrendorf, M., F. K. Swirski, E. Aikawa, L. Stangenberg, T. Wurdinger, J. L. Figueiredo, P. Libby, R. Weissleder and M. J. Pittet (2007). "The healing myocardium sequentially mobilizes two monocyte subsets with divergent and complementary functions." J Exp Med **204**(12): 3037-3047.

Nicolas-Avila, J. A., A. V. Lechuga-Vieco, L. Esteban-Martinez, M. Sanchez-Diaz, E. Diaz-Garcia, D. J. Santiago, A. Rubio-Ponce, J. L. Li, A. Balachander, J. A. Quintana, R. Martinez-de-Mena, B. Castejon-Vega, A. Pun-Garcia, P. G. Traves, E. Bonzon-Kulichenko, F. Garcia-Marques, L. Cusso, A. G. N, A. Gonzalez-Guerra, M. Roche-Molina, S. Martin-Salamanca, G. Crainiciuc, G. Guzman, J. Larrazabal, E. Herrero-Galan, J. Alegre-Cebollada, G. Lemke, C. V. Rothlin, L. J. Jimenez-Borreguero, G. Reyes, A. Castrillo, M. Desco, P. Munoz-Canoves, B. Ibanez, M. Torres, L. G. Ng, S. G. Priori, H. Bueno, J. Vazquez, M. D. Cordero, J. A. Bernal, J. A. Enriquez and A. Hidalgo (2020). "A Network of Macrophages Supports Mitochondrial Homeostasis in the Heart." Cell **183**(1): 94-109 e123.

Nunez, V., D. Alameda, D. Rico, R. Mota, P. Gonzalo, M. Cedenilla, T. Fischer, L. Bosca, C. K. Glass, A. G. Arroyo and M. Ricote (2010). "Retinoid X receptor alpha controls innate inflammatory responses through the up-regulation of chemokine expression." Proc Natl Acad Sci U S A **107**(23): 10626-10631.

Palabrica, T., R. Lobb, B. C. Furie, M. Aronovitz, C. Benjamin, Y. M. Hsu, S. A. Sajer and B. Furie (1992). "Leukocyte accumulation promoting fibrin deposition is mediated in vivo by P-selectin on adherent platelets." Nature **359**(6398): 848-851.

Panizzi, P., F. K. Swirski, J. L. Figueiredo, P. Waterman, D. E. Sosnovik, E. Aikawa, P. Libby, M. Pittet, R. Weissleder and M. Nahrendorf (2010). "Impaired infarct healing in atherosclerotic mice with Ly-6C(hi) monocytosis." Journal of the American College of Cardiology **55**(15): 1629-1638.

Roszer, T., M. P. Menendez-Gutierrez, M. Cedenilla and M. Ricote (2013). "Retinoid X receptors in macrophage biology." Trends Endocrinol Metab **24**(9): 460-468.

Roszer, T., M. P. Menendez-Gutierrez, M. I. Lefterova, D. Alameda, V. Nunez, M. A. Lazar, T. Fischer and M. Ricote (2011). "Autoimmune kidney disease and impaired engulfment of apoptotic cells in mice with macrophage peroxisome proliferator-activated receptor gamma or retinoid X receptor alpha deficiency." J Immunol **186**(1): 621-631.

Sanz, M. J., F. Albertos, E. Otero, M. Juez, E. J. Morcillo and L. Piqueras (2012). "Retinoid X receptor agonists impair arterial mononuclear cell recruitment through peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation." J Immunol **189**(1): 411-424.

Savchenko, A. S., J. I. Borissoff, K. Martinod, S. F. De Meyer, M. Gallant, L. Erpenbeck, A. Brill, Y. Wang and D. D. Wagner (2014). "VWF-mediated leukocyte recruitment with chromatin decondensation by PAD4 increases myocardial ischemia/reperfusion injury in mice." Blood **123**(1): 141-148.

Schulz, C., E. Gomez Perdiguero, L. Chorro, H. Szabo-Rogers, N. Cagnard, K. Kierdorf, M. Prinz, B. Wu, S. E. Jacobsen, J. W. Pollard, J. Frampton, K. J. Liu and F. Geissmann (2012). "A lineage of myeloid cells independent of Myb and hematopoietic stem cells." Science **336**(6077): 86-90.

Schulz, C. and S. Massberg (2012). "Platelets in atherosclerosis and thrombosis." Handbook of experimental pharmacology(210): 111-133.

Shao, M., L. Lu, Q. Wang, L. Ma, X. Tian, C. Li, C. Li, D. Guo, Q. Wang, W. Wang and Y. Wang (2021). "The multi-faceted role of retinoid X receptor in cardiovascular diseases." Biomed Pharmacother **137**: 111264.

Stark, K. and S. Massberg (2021). "Interplay between inflammation and thrombosis in cardiovascular pathology." Nat Rev Cardiol **18**(9): 666-682.

Swirski, F. K. and M. Nahrendorf (2013). "Leukocyte behavior in atherosclerosis, myocardial infarction, and heart failure." Science **339**(6116): 161-166.

Tabas, I. and K. E. Bornfeldt (2016). "Macrophage Phenotype and Function in Different Stages of Atherosclerosis." Circ Res **118**(4): 653-667.

Ting, S. M., X. Zhao, G. Sun, L. Obertas, M. Ricote and J. Aronowski (2020). "Brain Cleanup as a Potential Target for Poststroke Recovery: The Role of RXR (Retinoic X Receptor) in Phagocytes." Stroke **51**(3): 958-966.

Todica, A., N. L. Beetz, L. Gunther, M. J. Zacherl, U. Grabmaier, B. Huber, P. Bartenstein, S. Brunner and S. Lehner (2018). "Monitoring of Cardiac Remodeling in a Mouse Model of Pressure-Overload Left Ventricular Hypertrophy with [(18)F]FDG MicroPET." Mol Imaging Biol **20**(2): 268-274.

van Amerongen, M. J., M. C. Harmsen, N. van Rooijen, A. H. Petersen and M. J. van Luyn (2007). "Macrophage depletion impairs wound healing and increases left ventricular remodeling after myocardial injury in mice." Am J Pathol **170**(3): 818-829.

van Beek, A. A., J. Van den Bossche, P. G. Mastroberardino, M. P. J. de Winther and P. J. M. Leenen (2019). "Metabolic Alterations in Aging Macrophages: Ingredients for Inflammation?" Trends Immunol **40**(2): 113-127.

Vasudevan, P., R. Gabel, J. Stenzel, J. Forster, J. Kurth, B. Vollmar, B. J. Krause, H. Ince, R. David and C. I. Lang (2020). "(18)F-FDG PET-Based Imaging of Myocardial Inflammation Following Acute Myocardial Infarction in a Mouse Model." Int J Mol Sci **21**(9).

Wang, W. Z., G. Anderson and J. C. Firrell (1995). "Arteriole constriction following ischemia in denervated skeletal muscle." J Reconstr Microsurg **11**(2): 99-106.

Wang, X., C. Allen and M. Ballow (2007). "Retinoic acid enhances the production of IL-10 while reducing the synthesis of IL-12 and TNF-alpha from LPS-stimulated monocytes/macrophages." J Clin Immunol **27**(2): 193-200.

Weinberger, T. and C. Schulz (2015). "Myocardial infarction: a critical role of macrophages in cardiac remodeling." Front Physiol **6**: 107.

Willemsen, L. and M. P. de Winther (2020). "Macrophage subsets in atherosclerosis as defined by single-cell technologies." J Pathol **250**(5): 705-714.

Xu, J., P. D. Storer, J. A. Chavis, M. K. Racke and P. D. Drew (2005). "Agonists for the peroxisome proliferator-activated receptor-alpha and the retinoid X receptor inhibit inflammatory responses of microglia." J Neurosci Res **81**(3): 403-411.

Xu, Z., J. Alloush, E. Beck and N. Weisleder (2014). "A murine model of myocardial ischemia-reperfusion injury through ligation of the left anterior descending artery." J Vis Exp(86).

Yan, X., A. Anzai, Y. Katsumata, T. Matsushashi, K. Ito, J. Endo, T. Yamamoto, A. Takeshima, K. Shinmura, W. Shen, K. Fukuda and M. Sano (2013). "Temporal dynamics of cardiac immune cell accumulation following acute myocardial infarction." J Mol Cell Cardiol **62**: 24-35.

Zhou, X., R. A. Franklin, M. Adler, T. S. Carter, E. Condiff, T. S. Adams, S. D. Pope, N. H. Philip, M. L. Meizlish, N. Kaminski and R. Medzhitov (2022). "Microenvironmental Sensing by Fibroblasts Controls Macrophage Population Size." bioRxiv.

7. Danksagung

Mein Dank gilt vor Allem meinen Eltern und meiner Familie, die mir meinen beruflichen Weg, sowohl klinisch als auch wissenschaftlich, ermöglicht hat. Meiner zukünftigen Frau Alisma möchte ich insbesondere für die Unterstützung in den Jahren der Habilitation und für den gemeinsamen Aufenthalt in Paris im Rahmen meines Post-Docs danken, der mein wissenschaftliches Denken und Arbeiten entscheidend geprägt hat.

Ich möchte mich zudem bei Steffen Massberg bedanken, der mir nicht nur die Freiräume zur Forschung gegeben hat, sondern auch meine Blickweise auf wissenschaftliche und klinische Fragestellungen maßgeblich mitgeformt hat. Christian Schulz möchte ich dafür danken, dass er meinen wissenschaftlichen Werdegang seit Anfang meiner ärztlichen Tätigkeit unterstützt und fördert, und mir die Freude an der Forschung vermittelt hat.

Zuletzt möchte ich mich bei den Mitarbeitern bedanken, die einen wesentlichen Teil zum Erfolg der beschriebenen wissenschaftlichen Projekte beigetragen haben: Vanessa Schneider, Denise Messerer, Saskia Räuber, Max Fischer, Sue Chandraratne, Susanne Sauer, Michael Lorenz, Anna Titova, Zeljka Sisic, Elisabeth Raatz, Sebastian Helmer und Nicole Blount.