

Aus der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin B
(Direktor: Prof. S. Felix)
der medizinischen Fakultät der
Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Thema:

**Prävalenz kardiotroper Antikörper bei Patienten mit
Dilatativer Kardiomyopathie**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin
(Dr.med.)
der
Medizinischen Fakultät
der
Ernst-Moritz-Arndt-Universität
Greifswald
2009

vorgelegt von:

Franziska Wehr

geb am:

07.10.1981

in:

Eberswalde/Finow

Dekan: Prof. Dr. H. K. Kroemer

1. Gutachter: Prof. Dr. A. Staudt

2. Gutachter: Prof. Dr. Verena Stangl

Ort, Raum: Seminarraum, Klinik für Innere Medizin B, Universitätsklinikum Greifswald

Tag der Disputation: 17.09.2009

I	EINLEITUNG	5
I.1.	Definition Dilatative Kardiomyopathie	5
I.2.	Epidemiologie	6
I.3.	Ätiologie und Pathogenese	6
I.3.1.	Geläufige Ursachen	6
I.3.2.	Inflammation und Infektion: Myokarditis und Kardiotrope Viren	7
I.3.3.	Autoimmunität: Kardiale Autoantikörper	11
I.4.	Klinisches Erscheinungsbild, Diagnostik und Krankheitsverlauf	13
I.5.	Therapiemöglichkeiten	15
I.5.1.	Konservative Therapie	15
I.5.2.	Immunadsorption	17
I.6.	Fragestellung dieser Arbeit	19
II	MATERIAL & METHODEN	20
II.1.	Chemikalien	20
II.2.	Tiere	21
II.3.	Patienten	21
II.4.	Probengewinnung	22
II.6.	Zellisolation	23
II.6.1.	Organentnahme und Präparation	24
II.6.2.	Perfusion und enzymatische Isolation	25
II.6.3.	Zellzählung	26
II.6.4.	Befüllung und Anfärbung	26
II.7.	Messung der Zellverkürzung und des Kalziumtransienten	27
II.7.1.	Die Messvorrichtung	27
II.7.2.	Der Messablauf	28
II.8.	Statistische Auswertung	28
III	ERGEBNISSE	30
III.1.	Allgemeine Charakteristika der Patienten	30
III.1.1.	Alter und Geschlecht	30
III.1.2.	Klinische und hämodynamische Charakteristika	30
III.1.3.	Infektions- und Inflammationsstatus	31
III.2.	Untersuchung der kardiotropen Wirkung des Patientenplasmas	33
III.2.1.	Inotropie bei DCM- und Kontrollpatienten	33
III.2.2.	Inotropie in Abhängigkeit vom Geschlecht	34
III.2.3.	Inotropie in Abhängigkeit vom Alter	35
III.2.4.	Inotropie in Abhängigkeit von der Krankheitsdauer	36
III.2.5.	Inotropie in Abhängigkeit von der Ejektionsfraktion	37
III.2.6.	Inotropie in Abhängigkeit von einer viralen Infektion	38
III.2.7.	Inotropie in Abhängigkeit vom Inflammationsstatus	39
III.2.8.	Inotropie bei Kombination von Infektions- und Inflammationsstatus	40
IV	DISKUSSION	42
IV.1.	Dilatative Kardiomyopathie und negative Inotropie	42
IV.2.	Negative Inotropie in Folge von Autoimmunität	44
IV.3.	Autoimmunität durch Infektion und Inflammation	46

IV.4. Bedeutung neuer Therapiemethoden	49
IV.4.1. Immunmodulatorische Therapien	49
IV.4.1.1. Antivirale Therapie	49
IV.4.1.2. Immunglobulintherapie	50
IV.4.1.3. Immunsuppression	50
IV.4.2. Immunadsorption	52
V ZUSAMMENFASSUNG	56
VI QUELLENVERZEICHNIS	58
VII ANHANG	71
VII.1 Eidesstattliche Erklärung	71
VII.2 Lebenslauf	72
VII.3 Danksagung	73

I EINLEITUNG

Gemäß den Richtlinien der World Health Organisation werden Kardiomyopathien als Erkrankungen des Myokards in Verbindung mit kardialer Dysfunktion definiert (1).

Klassischerweise wird zwischen der dilatativen, der hypertrophen, der restriktiven, der arrhythmogenen-rechtsventrikulären Kardiomyopathie und den nicht näher klassifizierbaren Kardiomyopathien unterschieden (2). Seit 1995 verwendet man zusätzlich den Begriff der spezifischen Kardiomyopathie für Herzmuskelerkrankungen als Folge spezifischer kardialer oder systemischer Defekte. Mittlerweile ist jedoch die Einteilung in primäre und sekundäre Kardiomyopathien aktueller (3). Zu den primären zählen sowohl die mit genetischem Hintergrund und im Rahmen einer Infektion oder Inflammation erworbenen Kardiomyopathien als auch solche, die teils genetisch bedingt und teils erworben sind, wie die dilatative Kardiomyopathie. Sekundäre Kardiomyopathien umfassen jene, die im Zusammenhang mit systemischen Erkrankungen, Medikamenten, Muskeldystrophien, neuromuskulären Erkrankungen oder Intoxikationen stehen (1, 3, 4).

I.1. Definition Dilatative Kardiomyopathie

Eine der häufigsten Kardiomyopathien ist die Dilatative Kardiomyopathie (DCM). Sie wird als eine gestörte systolische Pumpfunktion mit Erweiterung des linken, des rechten oder beider Ventrikel in Kombination mit einer reduzierten Ejektionsfraktion definiert. Hinzu kommt oft eine zusätzliche diastolische Funktionsstörung, welche sich in einer verspäteten oder eingeschränkten Relaxation äußert (1, 5, 6).

Bei der Entstehung der DCM spielen viele verschiedene Einflüsse eine Rolle. Es handelt sich dabei vor allem um genetische, infektiöse, (auto)immune und metabolisch-toxische Faktoren (2, 4, 7, 8).

Entsprechend der Tokyo-Klassifikation lässt sich die DCM in die Stadien I bis IV einteilen. Während im Stadium I die Ejektionsfraktion noch mehr als 55 % erreicht und lediglich segmentale Kontraktionsstörungen des Myokards vorliegen, folgt bei Fortschreiten der Erkrankung eine kontinuierliche Abnahme der Ejektionsfraktion bis auf weniger als 25 %, begleitet von einer Ausbreitung der Kontraktionsstörung bis ins Prä-/Transplantationsstadium des Patienten.

I.2. Epidemiologie

Die epidemiologischen Daten sind in der Literatur unterschiedlich. In den USA und Europa erkranken jährlich etwa 7 von 100.000 Menschen an DCM, die Prävalenz liegt bei zirka 36,5 von 100.000 Menschen (4, 6). Dabei sind Männer 3-mal häufiger betroffen als Frauen (5, 9). In 25-30% der Fälle liegt eine genetisch bedingte DCM vor (4). Die mittlere Lebenserwartung symptomatischer Patienten beträgt in Abhängigkeit von der Ätiologie etwa 5 Jahre (4, 9). Dabei haben Patienten mit idiopathischer DCM eine bessere Prognose als Patienten mit einer DCM in Folge von HIV-Infektion, Kollagenosen oder Zytostatika-Therapie (4).

I.3. Ätiologie und Pathogenese

I.3.1. Geläufige Ursachen

Entsprechend ihrer Ätiologie unterscheidet man idiopathische Kardiomyopathien von denen mit bekannter Ursache. Den Kardiomyopathien mit idiopathischer Genese wird vor allem ein genetischer Hintergrund zugesprochen, so dass bei über 25 % aller an DCM erkrankten Patienten dieser Zusammenhang zu vermuten ist (4). Bislang am häufigsten beobachtet wurde der autosomal-dominante Erbgang. Momentan kennt man mehr als 15 verschiedene Genorte, welche für die familiäre DCM von Bedeutung sind. Die wichtigsten potentiellen Krankheitsgene kodieren vor allem für die kardiale β -Myosin-Schwerkette, Troponin T und C sowie für Desmin, Lamin A/C und δ -Sarcoglycan (4, 10). Mutationen in diesen Genen haben eine geminderte Produktion oder eine gestörte Weiterleitung der kontraktilen Kraft im Sarkomer zur Folge. Ein gestörtes Lamin-A/C-Gen kann außerdem zur Minderung der Anzahl von Kardiomyozyten und damit zu einer geringeren Kraftentwicklung führen (11-13).

Von geringerer Bedeutung sind der autosomal-rezessive und der x-chromosomal-rezessive Erbgang sowie der mitochondriale Vererbungsmodus und Mutationen der mitochondrialen DNA (11, 13).

Da sich eine DCM jedoch meist nach dem 30. Lebensjahr, oftmals in einem variablen klinischen Bild, manifestiert und in den Industrieländern eher die kleine Familie dominiert,

ist es mitunter schwer, in Einzelfällen die Vererbbarkeit der Erkrankung nachzuweisen (4, 6, 7, 14).

Die bislang bekannten Ursachen umfassen einerseits andere kardiovaskuläre Erkrankungen wie Herzklappenfehler, hypertensive Herzerkrankungen oder die Folgen eines akuten Myokardinfarktes, durch deren Remodeling-Prozesse es zu einer Überlastung der bis dahin nicht in Mitleidenschaft gezogen Myokardabschnitte kommen kann. Weiterhin wird auch der Einfluss koronarer Mikrospasmen auf die Krankheitsentstehung diskutiert (15, 16).

Zum anderen können auch systemische Erkrankungen wie Kollagenosen, Granulomatosen, neuromuskuläre Erkrankungen, sowie Stoffwechselstörungen an eine Kardiomyopathie geknüpft sein (3). Weitere Ursachen sind Intoxikationen, in erster Linie durch Alkohol und Medikamente, Neoplasien und physikalische Einflüsse wie etwa Elektrizität und ionisierende Strahlung. Das Auftreten einer Linksherzinsuffizienz gegen Ende der Schwangerschaft (17) und nicht zuletzt extreme Ernährungsgewohnheiten sind zwar seltene, aber ebenfalls mögliche Anstöße für das Entstehen einer Kardiomyopathie.

I.3.2 Inflammation und Infektion: Myokarditis und Kardiotrope Viren

Seit einiger Zeit zeigen sich vermehrt Hinweise auf ein inflammatorisches Geschehen in der Pathogenese der DCM (18-20). So wurde nachgewiesen, dass 50 % der an einer Myokarditis erkrankten Patienten im späteren Verlauf eine DCM entwickeln (21).

Bei der Myokarditis handelt es sich im Wesentlichen um eine Gruppe entzündlicher myokardialer Erkrankungen, welche sowohl die Kardiomyozyten als auch die Gefäße und das Interstitium betreffen können. Auch hier gibt es unterschiedliche epidemiologische Daten. So schwankt die Inzidenz zwischen 1 und 10 pro 100.000 Einwohner im Jahr. Die 1-Jahres-Mortalität liegt bei 20 %, die 4-Jahres-Mortalität bei 56 % (21).

Man unterscheidet zwischen infektiösen und nicht-infektiösen Ursachen. Zu den ersteren zählen zum einen etliche Bakterien, Pilze, Protozoen und Parasiten und zum anderen das breite Spektrum kardiotroper Viren. Obwohl bislang nur bei 1-5 % von Patienten mit einem Virusinfekt eine kardiale Mitbeteiligung nachgewiesen werden konnte, werden doch fast 50 % der Myokarditiden einem vermuteten Infekt zugeschrieben (21). Hinzu kommt, dass in einigen Studien schon in bis zu 70 % der Myokardbiopsien von DCM-Patienten virale DNA nachgewiesen werden konnte (22). Das Spektrum der identifizierten Viren variiert dabei stark in Abhängigkeit von der geographischen Region, dem Alter und

Immunstatus der Patienten, zusätzlichen Erkrankungen sowie vorausgegangenen Therapien (18).

Bislang wurde dabei die Aufmerksamkeit vor allem auf Enteroviren, speziell das Coxsackievirus B3 (23-27) und Adenoviren gerichtet (22). Die Durchseuchung der Bevölkerung mit Entero- und Adenoviren ist sehr hoch, etwa 50 % der gesunden Erwachsenen besitzen Antikörper gegen Coxsackie-B-Viren und annähernd 100 % gegen verschiedene Serotypen von Adenoviren (18, 28). Weiterhin wurde ein Rezeptor entdeckt, der humane Coxsackie-Adenovirus-Rezeptor (hCAR), welcher von beiden Viren zur Integration in die Wirtszelle genutzt wird und bei DCM in erhöhter Anzahl auf der sarkolemmlen Membran der Kardiomyozyten exprimiert wird (18, 29).

Dennoch scheinen Entero- und Adenoviren in der Pathogenese der DCM eher eine untergeordnete Rolle zu spielen. Vor allem dem Parvovirus B19 wird eine viel entscheidendere Bedeutung in der Krankheitsentstehung zugeschrieben. So wurde bei 30 bis 50 %, z.T. sogar bei 67 % der Endomyokardbiopsien von Patienten mit DCM oder Myokarditis entsprechende virale DNA identifiziert (18, 22, 28). Und auch bei Mehrfachinfektionen mit kardiotropen Viren überwiegen Kombinationen mit PVB 19 (28). Ein weiteres, in seiner Bedeutung ebenfalls bislang unterschätztes Virus ist das Humane Herpes Virus 6 (30). Bei über 20 % untersuchter DCM-Patienten konnte es in den Biopsien nachgewiesen werden (28). Die Mechanismen, mit deren Hilfe HHV 6 die Entstehung bzw. Progression einer DCM fördern kann, sind zum Teil schon bekannt. Es schädigt sowohl direkt durch seine zytotoxischen Eigenschaften als auch indirekt, indem es eine autoimmune Reaktion des Körpers über eine veränderte Zytokin-Ausschüttung bewirkt. Weiterhin ist es in der Lage, Membranrezeptoren so zu verändern, dass eine lokale Entzündung ausgelöst wird, ebenfalls mit autoimmunen Folgen und einer möglichen Unterdrückung der viralen Clearance (28). Hinzu kommt, dass durch HHV 6 auch bislang latente Infektionen mit anderen kardiotropen Viren wie beispielsweise PVB 19 oder EBV (re-)aktiviert werden können (31). Doch auch ohne direkt das Myokard zu schädigen, können sowohl HHV 6 als PVB19 über entsprechende Rezeptoren Entzündungen in den Endothelien, speziell der Koronarien, auslösen und somit die Bedingungen für den Patienten weiterhin verschlechtern. Selbst eine minimale Viruspersistenz kann eine weitere Schädigung verursachen (32), beispielsweise über zytotoxische virale Proteine, eine erhöhte Zytokin-Ausschüttung und eine lokale inflammatorische Reaktion. Auch in solchen Fällen kardialer Dysfunktion, in denen kein Infektionserreger nachgewiesen werden konnte, ist eine vorhergehende virale Infektion möglich, welche einen derart irreversiblen Schaden des

Myokards hervorgerufen haben kann, dass eine ständige Abnahme der systolischen Leistung und eine zunehmende Dilatation des Ventrikels folgen können (28).

Weitere für die Pathogenese bedeutsame Viren sind das Ebstein-Barr-Virus mit 2 % iger und das Cytomegalie-Virus mit 3 % iger Prävalenz, beide sind ebenfalls breit in der Bevölkerung gestreut (18, 28). In einzelnen Fällen wurde eine schlechtere Prognose bei mit Influenza-Virus befallenen Patienten beobachtet, wenn zuvor eine kardiale Vorschädigung bestand, 0,5 % der DCM-Patienten sind mit Influenza-Viren infiziert. Auch bei Hepatitis-C-Viren wird eine kardiotope Wirkung vermutet, welche in seltenen Fällen zu fulminanter Myokarditis mit Hypotension und Herzversagen führen kann. Bei etwa 10 % der mit HIV infizierten Patienten kommt es zur klinischen Manifestation in Form von linksventrikulärer Dysfunktion und Dilatation (18).

Die multiplen Virusinfektionen ergeben sich größtenteils aus Kombinationen von Enteroviren, Adenoviren, dem Parvovirus B19, dem Humanen Herpes Virus 6 und dem Ebstein-Barr-Virus. Immerhin 27 % der DCM-Patienten sind mit zwei oder mehr Viren infiziert. Diese multiplen Infektionen werden durch gemeinsam genutzte Rezeptoren ermöglicht, wie z. B. dem schon erwähnten hCAR. Trotzdem ist der Infektionsmechanismus der meisten Viren noch weitestgehend unbekannt (28).

Die nichtinfektiösen Ursachen der Myokarditiden umfassen systemische Erkrankungen wie Kollagenosen, Sarkoidose und Lupus erythematodes. Eher selten wird die Myokarditis als Folge einer Hypersensitivitätsreaktion auf bestimmte Medikamente wie beispielsweise trizyklischen Antidepressiva, einigen Antibiotika und Clozapin angesehen(21, 33).

Das klinische Bild der Myokarditis wird in den meisten Fällen von der Herzinsuffizienz, welcher ein grippeähnlicher Symptomenkomplex vorausgehen kann, geprägt. Sie kann sich auch als akuter Thoraxschmerz und daher oft mit einem akuten Koronarsyndrom verwechselt, in Form von Herzrhythmusstörungen oder im kardiogenen Schock als Erstmanifestation präsentieren (21). Ebenso ist ein völlig asymptomatischer Verlauf möglich, welcher lediglich von elektrokardiographischen Abweichungen begleitet werden kann.

Histologisch unterscheidet die Dallas-Klassifikation die akute Myokarditis von der Borderline-Myokarditis, welche sich im Gegensatz zur Ersteren durch eine geringere entzündliche Infiltration und fehlende kardiomyozytäre Nekrose auszeichnet. Eine Inflammation liegt definitionsgemäß vor, wenn sich in der Myokardbiopsie mehr als 14

Lymphozyten und Makrophagen pro mm² nachweisen lassen (18). Das inflammatorische Infiltrat wird weiter differenziert in lymphozytär, eosinophil oder granulomatös. Und auch die entzündliche Reaktion wird als mild, mittelschwer oder schwer eingestuft, ihre Ausbreitung als fokal, konfluierend oder diffus. Unter zusätzlicher Berücksichtigung klinisch-pathologischer Kriterien wie der Prodromalsymptomatik, dem Krankheitsbeginn und dem Vorhandensein einer ventrikulären Funktionsstörung resultiert die Unterscheidung zwischen fulminanter, akuter und chronischer Myokarditis (21, 33).

Die Diagnose wird anhand des klinischen Erscheinungsbildes sowie dem laborchemischen, elektro- und echokardiographischen Befund gestellt (21, 34). Ergänzend werden ursächliche Infektionen oder begleitende systemische Erkrankungen abgeklärt. Zur histologischen Klassifizierung wird eine Myokardbiopsie herangezogen. Mit ihrer Hilfe können zusätzlich ein myokardialer Virusbefall oder entzündliche Veränderungen nachgewiesen werden (28, 34, 35). Letztendlich können eine Kardio-MRT-Untersuchung oder die Antimyosin-Antikörper-Szintigraphie zur weiteren Bildgebung genutzt werden (21, 33, 36, 37).

Ein Großteil der Myokarditiden heilt spontan aus, ohne Langzeitschäden zu hinterlassen. Eher selten entwickeln sich behandlungsbedürftige Herzrhythmusstörungen und nur bei einem geringen Anteil von Patienten manifestiert sich ein kardiogener Schock mit Herzversagen. Dennoch verbleibt ein recht großer Prozentsatz an Betroffenen, bei denen die Entzündung nicht vollständig ausheilt und in ein chronisches Stadium übergeht (21).

Man geht davon aus, dass das vor allem diejenigen betrifft, deren Myokarditis aufgrund eines Virusinfektes entstanden ist. Dabei durchläuft die Erkrankung mehrere Stadien (19).

Nachdem das Virus in der akuten Phase der Infektion über den Gastrointestinaltrakt, die Atemwege oder eine andere Erregerpforte in den Wirtsorganismus eingedrungen ist, wird es zum Teil über Rezeptor-vermittelte Endozytose in die Kardiomyozyten aufgenommen, um dort seine Proteinsynthese zu beginnen. Die primäre Schädigung des Myokards geschieht durch die direkte zytotoxische Wirkung des Virus.

Gleichzeitig jedoch werden zirkulierende Krankheitserreger zu den Zellen und Organen des Immunsystems transportiert, um dort die erste immunologische Reaktion zu initiieren. Eine indirekte Aktivierung des Immunsystems findet ebenfalls über die Präsentation der viralen Proteine via MHC auf der Oberfläche der Kardiomyozyten statt. Die erste Reaktion des Organismus äußert sich in der Invasion von unspezifischen Immunzellen wie NK-Zellen und Makrophagen. Es folgt die Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine wie

Interleukin-1, Interleukin-2, TNF und Interferon- γ , wodurch eine weitere Immunantwort in Form von kontinuierlich erhöhten Zytokin-Spiegeln, Rekrutierung von Entzündungszellen und eine Aktivierung der NO-Synthetase eingeleitet wird. NO kontrolliert einerseits das Ausmaß der Immunreaktion, ist aber andererseits auch an der Beseitigung von Krankheitserregern beteiligt. Wie der Tumor-Nekrose-Faktor (TNF) wird es mit einer schädigenden Wirkung auf das Myokard in Zusammenhang gebracht (38). Im nächsten Schritt werden die Virus-infizierten Zellen durch die Antigenpräsentation von den T-Zellen erkannt und über erneute Ausschüttung von Zytokinen oder Perforin-vermittelte Zytolyse eliminiert. Im Rahmen der Antigenbeseitigung, aber auch schon als Zeichen der beginnenden Autoimmunität, werden B-Lymphozyten aktiviert und damit die Produktion von Antikörpern getriggert (39).

I.3.3 Autoimmunität: Kardiale Autoantikörper

Bislang konnten bei einer Vielzahl von DCM- und Myokarditis-Patienten Antikörper gegen verschiedene kardiale Strukturen nachgewiesen werden (18, 35). Der funktionelle Effekt dieser Autoantikörper ließ sich ebenfalls mehrfach in tierexperimentellen Untersuchungen bestätigen (40-44). Der Entstehungsmechanismus dieser autoimmunen Reaktion ist noch weitgehend ungeklärt. Es wird einerseits vermutet, dass aufgrund ähnlicher Aminosäure-Sequenzen der eingedrungenen Viren und der organismuseigenen Proteine eine molekulare Mimikry stattfindet und die ursprünglich zur Eliminierung der Viren gebildeten Antikörper sich gegen körpereigene Strukturen richten (27, 45). Andererseits stellen auch die durch die Eliminierung der virusbefallenen Kardiomyozyten freiwerdenden intrakardialen Proteine einen Antigenpool dar und werden dementsprechend dem Abwehrsystem präsentiert und von diesem wie Fremdkörper behandelt (8, 19, 39, 45).

Zudem wird seit kurzem die Bedeutung des Fc-Fragmentes der Antikörper für den von ihnen hervorgerufenen negativ inotropen Effekt diskutiert (46-48). In Immunfluoreszenzuntersuchungen konnte nachgewiesen werden, dass auf menschlichen und tierischen Kardiomyozyten Fc-Rezeptoren exprimiert werden. Unter der Vermutung, dass die Antikörper über ihre F(ab)₂-Fragmente an spezifische kardiale Proteine binden und durch die Bindung des Antigen-Antikörper-Komplexes an den Fc-Rezeptor der Kardiomyozyten über das Fc-Fragment die vielfach beobachteten negativ inotropen Effekte auslösen, wurden die Fc-Rezeptoren blockiert sowie das Fc-Fragment enzymatisch abgespalten. Resultierend ließ sich ein Ausbleiben der negativ inotropen Reaktion

verzeichnen. Somit lässt sich die gemeinsame Wirkung der vielen unterschiedlichen kardialen Autoantigene möglicherweise über diesen Mechanismus und den gemeinsamen Weg über den Fc-Rezeptor der Kardiomyozyten erklären.

Die größte Bedeutung wird bisher den β 1-Adrenozeptor-Autoantikörpern (β 1-AAK) zugeschrieben (18). Ihr Vorkommen bei den DCM-Patienten schwankt zwischen 30 und 80 % (49-51). Bei weniger als 12 % der Betroffenen wurden auch β 2-Adrenozeptor-Autoantikörper identifiziert, ihnen konnte jedoch noch kein Einfluss auf den Krankheitsverlauf zugeschrieben werden (50). Die β 1-AAK wirken an den Rezeptoren wie Agonisten und bewirken somit eine adrenerge Dauerstimulation. Die normalerweise daraus resultierende physiologische Down-Regulation der β -Rezeptoren tritt bei DCM-Patienten erst verzögert ein. Der sympathischen Überstimulation können metabolische und elektrophysiologische myokardiale Störungen mit zum Teil letalen Herzrhythmusstörungen folgen. Der primäre Effekt dieser Antikörper besteht in einer Erhöhung von cAMP und damit einer gesteigerten Aktivität der cAMP-abhängigen Proteinkinase A. Es kommt zu einer vermehrten Freisetzung von Ca^{2+} -Ionen aus dem Sarkoplasmatischen Retikulum mit einem daraus resultierenden positiv inotropen Effekt (49, 51-54), der jedoch in einer linksventrikulären Hypertrophie und letztendlich durch Herzversagen in Folge von Arrhythmien letal enden kann. Außerdem ist bei Patienten mit β 1-AAK eine erhöhte Apoptoserate der Kardiomyozyten beobachtet worden, welche auf die gesteigerte Aktivität der Proteinkinase A zurückgeführt wird (55).

In vergleichbarer Häufigkeit finden sich bei DCM-Patienten agonistische Autoantikörper gegen muskarinerge Acetylcholin-Rezeptoren. Sie reduzieren den Ca^{2+} -Einstrom und wirken daher negativ inotrop. Auch ihre Expression auf der myozytären Oberfläche wird erst mit zeitlicher Verzögerung reduziert (51).

Ein weiterer nicht unbedeutender Faktor ist möglicherweise die sog. PD-1-Defizienz. In diesem Zusammenhang konnte im Tierversuch ein vermehrtes Auftreten kardialer Dysfunktion und Dilatation aufgezeigt werden (56). Dafür verantwortlich sind scheinbar im Rahmen der Defizienz gebildete Autoantikörper der IgG-Klasse, welche sich gegen ein zunächst nicht näher bestimmbares herzspezifisches Protein richten. In späteren Studien konnte dieses Protein dann als kardiales Troponin I identifiziert werden. Auf pathophysiologischer Ebene wird ein anhaltender Einstrom von Kalzium-Ionen in die Kardiomyozyten vermutet, welcher eine Erschöpfung der Zellen nach sich zieht und in Dysfunktion sowie Dilatation des Herzmuskels endet (57).

Weitere wichtige Autoantigene sind das kardiale Myosin und der mitochondriale ADP-ATP-Carrier. Antikörper gegen schwere Myosinketten induzieren eine so genannte Myosin-Myokarditis mit myokardialer Degeneration und Nekrose sowie einer Fibrose im chronischen Stadium (58). Autoimmunität gegen das ADP-ATP-Transportprotein ist ausschließlich herzspezifisch. Sie bewirkt einen gestörten Nukleotid-Austausch an der inneren mitochondrialen Membran durch direkte Blockade des Carriers, Störung der Signaltransduktion und Neutralisation posttranslationaler Zwischenstufen des Rezeptorproteins (59).

Es werden noch weitere mögliche autoantigene Strukturen unterschieden wie z.B. die sarkolemmale Na-K-ATPase, Hitze-Schock-Proteine, Aktin und Tubulin (18, 49, 60), sie spielen bislang jedoch nur eine untergeordnete Rolle.

Die anhaltende Schädigung der Kardiomyozyten durch Zytokin-vermittelte oder direkte T-Zell-initiierte Zytolyse zieht eine fortschreitende Reduktion der Anzahl kontraktionsfähiger Herzmuskelzellen nach sich. Dies resultiert in einer verminderten Kontraktilität des Herzens und einer Einleitung von Remodeling-Prozessen. Die weiterhin erhöhten Zytokin-Spiegel bedingen über die Aktivierung von Matrixmetalloproteinkinasen wie Gelatinase, Elastase und Kollagenase ein Fortschreiten der Erkrankung (61). Möglicherweise können kardiotope Viren auch auf direktem Weg über eigene Proteasen den Krankheitsprozess vorantreiben. Außerdem vermutet man im chronischen Stadium eine mehr oder weniger diskrete Viruspersistenz, welche zum einen weiterhin unmittelbare Zytotoxizität bedeutet, zum anderen die immunologische Reaktion des Organismus und damit die Inflammation mit ihren Folgen aufrechterhält und letztendlich auch eine Apoptose der Kardiomyozyten mit einer progredienten Abnahme von kontraktilen Gewebe induzieren kann. Es folgt ein fließender Übergang in die Dilatative Kardiomyopathie.

I.4. Klinisches Erscheinungsbild, Diagnostik und Krankheitsverlauf

Das Manifestationsalter der DCM schwankt zwischen dem 20. und 70. Lebensjahr (9), oftmals verläuft die Erkrankung auch lange Zeit asymptomatisch.

Erste Symptome sind häufig Belastungsdyspnoe, Palpitationen sowie pectanginöse Beschwerden und Synkopen unklarer Genese (1, 4, 5). Das klinische Bild ist vielfach mit

mehr oder weniger symptomatischen Herzrhythmusstörungen verbunden, welche in einzelnen Fällen einen plötzlichen Herztod als Erstmanifestation bedingen können (1).

Bei der DCM handelt es sich in erster Linie um eine Ausschlussdiagnose (4). Wie schon bei der Myokarditis stützt sich die Diagnosestellung auf das klinische Bild, welches vorrangig durch die bestehende Herzinsuffizienz geprägt wird. Echokardiographisch lassen sich die veränderten Dimensionen sowie die reduzierte Auswurffraktion darstellen (7). Zum Ausschluss einer ischämischen Ursache der Herzinsuffizienz ist stets eine Koronarangiographie notwendig. Im Anschluss wird eine Rechtsherzkatheteruntersuchung in Kombination mit einer Myokardbiopsie zur histologischen und immunhistochemischen Klassifikation vorgenommen. Zur zusätzlichen Bildgebung können wie auch bei der Myokarditis Röntgen- und MRT-Untersuchung genutzt werden (9, 21, 33, 37). Laborchemisch lässt sich der Schweregrad der Herzinsuffizienz über den Parameter nt-pro-BNP (brain natriuretic peptide) ebenfalls beurteilen und verfolgen (9, 62). Weiterhin bietet sich die Suche nach Autoantikörpern, wie beispielsweise dem β 1-Adrenorezeptor-Autoantikörper an (18, 28). Weitere diagnostische Maßnahmen umfassen die Suche nach familiären Zusammenhängen (14) sowie die Ermittlung systemischer Erkrankungen und sonstiger möglicher bereits erwähnter ätiologischer Faktoren (4).

Durch Fortschreiten der Erkrankung kommt es zunächst zur Linksherzinsuffizienz mit Rückwärtsversagen-bedingtem Lungenödem sowie zerebralen Funktionsstörungen und Leistungsminderung aufgrund des Vorwärtsversagens. Im Verlauf entwickelt sich das breite symptomale Spektrum der Globalinsuffizienz (4).

Die bestehende Herzinsuffizienz lässt sich nach subjektiven und objektiven Kriterien gemäß der NYHA-Klassifikation einteilen. Die vier Stadien, die man dabei unterscheidet, sind durch die jeweiligen Beschwerden des Patienten, seine Belastbarkeit, sein aktuelles Herzzeitvolumen und die maximal mögliche Sauerstoffaufnahme unter Belastung charakterisiert. Während der Patient im NYHA-Stadium I beschwerdefrei und normal körperlich belastbar ist, steigt im Verlauf die Einschränkung des täglichen Lebens bis hin zu bereits im Ruhezustand bestehender Beschwerdesymptomatik. Entsprechend sinken ebenfalls die gemessene Belastbarkeit sowie die mögliche Sauerstoffaufnahme und das Herzzeitvolumen.

Die Prognose ist in erster Linie abhängig vom bestehenden NYHA-Stadium. Entgegen früherer Annahmen scheinen das Alter des Patienten, die Dauer der Herzinsuffizienzsymptomatik sowie die Ejektionsfraktion nur eine untergeordnete Rolle zu spielen (63). Als prognostisch ungünstig gilt die Anwesenheit kardiotroper Viren, was vermutlich auf die daraus folgende persistierende Inflammation zurückzuführen ist (63). Die veränderte myokardiale Funktionsfähigkeit kann Arrhythmien provozieren, welche in jedem Stadium der Erkrankung auftreten und einen plötzlichen Herztod bedingen können (1, 63). Bei einem geringen Anteil an Patienten kann eine spontane Besserung der hämodynamischen Parameter beobachtet werden (64). Die 10-Jahresüberlebensrate beträgt 10-20% mit einer jährlichen Mortalität von 10% (4, 9).

I.5. Therapiemöglichkeiten

I.5.1 Konservative Therapie

Die konservative Therapie der dilatativen Kardiomyopathie erfolgt entsprechend den Richtlinien der allgemeinen Herzinsuffizienztherapie. Demzufolge ist neben adäquater körperlicher Bewegung und dem Meiden kardiotoxischer Faktoren ein pharmakologisches Standardregime unabdingbar (65-67).

Einen prognostisch günstigen Einfluss auf den Krankheitsverlauf haben vor allem ACE (Angiotensin-Converting-Enzyme)-Hemmer. Über eine Reduktion hämodynamisch ungünstiger Remodeling-Prozesse wird die Herzinsuffizienzsymptomatik gemindert und die individuelle Belastbarkeit entsprechend erhöht, wodurch eine Senkung sowohl der Morbidität als auch der Mortalität resultiert (66, 68-71).

Obwohl lange umstritten, sind Betarezeptor-Blocker, vor allem in Kombination mit ACE-Hemmern, heute ein wesentlicher Bestandteil einer effektiven Herzinsuffizienztherapie. Durch eine Abschirmung des erkrankten Herzens gegen den pathologisch erhöhten Sympathikotonus, welcher eine Reduktion von β -Rezeptoren und damit eine Progredienz der Herzmuskelschwäche nach sich ziehen würde, verbessern sie die hämodynamischen Verhältnisse und damit die Kontraktilität. Insbesondere wird β -Rezeptor-Blockern eine Senkung plötzlicher Herztodesfälle zugeschrieben (66, 69, 72-78).

Des Weiteren werden Diuretika standardmäßig eingesetzt. Sie wirken in erster Linie symptomatisch, indem sie die Ödeme, welche oft das Bild der Herzinsuffizienz bestimmen,

reduzieren. Sie sind jedoch ebenfalls unbedingt in Kombination mit anderen Medikamenten einzusetzen (66).

Gleiches gilt für die ergänzende Gabe von Aldosteronantagonisten. In niedriger Dosis eingesetzt, verstärken sie die diuretische Wirkung und wirken einer zunehmenden Morbidität und Mortalität durch progredientes Pumpversagen entgegen (79).

Als sinnvolle Alternative bei ACE-Hemmer-Unverträglichkeit werden AT1-Blocker (sog. Sartane) verwendet. Sie bewirken vergleichbare positive Effekte und können zusätzlich auch in direkter Kombination mit einem ACE-Hemmer eingesetzt werden (71).

Der Einsatz von Herzglykosiden hingegen ist heute nur noch eine Therapieoption zweiter Wahl. Aufgrund der hohen Nebenwirkungsrate dienen sie in erster Linie als Reservemedikament in niedriger Dosierung (80, 81).

Weitere Präparate wie beispielsweise vasodilatative Substanzen, α -Blocker oder Antiarrhythmika sind nicht zu empfehlen, da sie zu einer erhöhten Inzidenz behandlungsassoziierter Komplikationen führen können (66).

Auch der Einsatz einer antikoagulatorischen Therapie ist hinsichtlich der Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse mittlerweile nur bei chronischer Herzinsuffizienz in Verbindung mit Vorhofflimmern, bei linksventrikulären Thromben oder nach stattgefundenen thrombembolischen Ereignissen sowie bei höchstgradig reduzierter Pumpfunktion empfehlenswert (66), ein definitiver Nachweis für den positiven Effekt dieser Therapie durch Studien besteht jedoch nicht.

Werden mit der herkömmlichen Therapie nur unzureichende Ergebnisse erzielt, stellen operative Verfahren eine weitere Behandlungsoption dar.

Neben der Mitralklappenrekonstruktion, welche in einigen Fällen bei sekundärer Mitralklappeninsuffizienz und fortgeschrittener linksventrikulärer Dysfunktion schon zu einer Besserung der Symptomatik verhelfen konnte (66, 82), nimmt vor allem die Schrittmacherchirurgie eine führende Rolle ein. Vor allem bei Patienten mit reduzierter Ejektionsfraktion ($<35\%$), nachgewiesener ventrikulärer Arrhythmie und breiten QRS-Komplexen (≥ 120 ms), deren Symptomatik auch bei optimal eingestellter medikamentöser Therapie schwer zu beherrschen ist, kann ein biventrikulärer Schrittmacher eine Senkung sowohl der Beschwerden als auch der Mortalität bewirken (83-85). Auch implantierbare Kardioverter/Defibrillatoren (ICD) sind geeignet, die Überlebenszeit herzinsuffizienter Patienten zu verbessern. Die gilt vor allem nach überlebtem plötzlichem Herztod, symptomatischen ventrikulären Tachykardien und bei schwerer systolischer Dysfunktion

(66). Bei DCM-Patienten konnte dieser positive Effekt bislang leider nicht eindeutig nachgewiesen werden (86, 87).

In einem weit fortgeschrittenen Stadium der Erkrankung und nach Ausschöpfung der medikamentösen Maßnahmen stellt eine Herztransplantation meist die letzte Möglichkeit die Therapie dar (88-90). Nach erfolgreicher Transplantation liegt die 5-Jahres-Überlebensrate bei 70-80 %, welche jedoch nach weiteren 5 Jahren auf 50 % sinkt (66). Limitierend ist vor allem die notwendige lebenslange Immunsuppression mit ihren charakteristischen Nebenwirkungen. Da die Zahl entsprechender Spenderorgane ebenfalls begrenzt ist, muss auf maschinelle Methoden zur Überbrückung der Wartezeit zurückgegriffen werden. Hierbei können ventrikuläre Assist-Systeme, sog. Kunstherzen, zum Einsatz kommen (66, 91). Sie bewirken eine hämodynamische Unterstützung des Herz-Kreislaufsystems, sind jedoch aufgrund des erhöhten Komplikationsrisikos wie Blutungen, Embolien und Infektion mit einer erhöhten Mortalität verbunden (66).

Weitere operative Verfahren sowie die Stammzelltherapie sind derzeit noch Inhalte laufender Forschung und können somit noch nicht zur Therapie der dilatativen Kardiomyopathie empfohlen werden (66).

Daher ist die Prognose betroffener Patienten nach wie vor unbefriedigend, woraus sich die Notwendigkeit weiterer Therapieoptionen ergibt, welche nicht nur die bereits bestehende Symptomatik behandeln, sondern vor allem in den Prozess der Krankheitsentstehung eingreifen können.

I.5.2 Immunadsorption

Unter dem Aspekt der Autoimmunität, welche eine entscheidende Rolle in der Ätiologie der dilatativen Kardiomyopathie zu spielen scheint, haben sich neue Therapieansätze entwickelt. Neben der Gabe von Immunglobulinen (92), der Immunsuppression (93) und der antiviralen Therapie (84-86), hat sich in den vergangenen Jahren vor allem die Immunadsorption als eine viel versprechende Behandlungsoption etabliert (46, 48, 97).

Sie stellt ein Verfahren zur extrakorporalen Elimination von Antikörpern dar. Das Plasma der Patienten wird dabei über Protein-A-Adsorptionssäulen geleitet, welche die Fähigkeit besitzen, Immunglobuline über deren Fc-Fragment zu binden. Dabei besteht in erster Linie eine hohe Affinität zu den Immunglobulinen der Klasse IgG 1, IgG 2 und IgG 4. Die Affinität zu IgG 3 ist zehnmal niedriger, daher waren in früheren Studien die

hämodynamischen Effekte der Immunadsorption nur gering ausgeprägt (98). Die durch die negative Inotropie verursachte Symptomatik von DCM-Patienten wird jedoch in erster Linie durch Autoantikörper der Klasse IgG 3 verursacht (44). Dies ließ sich mit Hilfe von Anti-IgG-Adsorptionssäulen, welche unspezifisch an alle IgG-Gruppen, also auch an IgG 3 binden, nachweisen. Da Protein A aus Staphylokokken gewonnen werden kann, bietet es gegenüber Anti-IgG den Vorteil einer unkomplizierten und ökonomischeren Produktion und erscheint somit für die Durchführung der Immunadsorption geeigneter. Aus diesem Grund sind die Protein-A-Säulen modifiziert worden, so dass durch eine verlängerte Passagezeit nach Sättigung der Säule mit IgG 1, 2 und 4 auch IgG 3 aus dem Patientenplasma extrahiert wird (98). Der Ablauf kann variieren, zu Beginn der Immunadsorption wurden die Patienten insgesamt vier Therapiezyklen im einmonatigen Abstand zu je 3 Tagen im ersten Zyklus und zwei Tagen in den folgenden Zyklen unterzogen. In späteren Studien ist dem ein abgewandeltes Therapieschema mit nur einem Zyklus von fünftägiger Dauer gegenübergestellt worden, dabei konnte eine vergleichbare Wirkung beobachtet werden (99).

Durch die Immunadsorption wird vor allem eine Verbesserung der kardiovaskulären Funktion erreicht, dies zeigt sich in einer Zunahme der Ejektionsfraktion, einer Verbesserung des Herzindex und des NYHA-Stadiums. Gleichzeitig scheint eine Abnahme der Inflammation zu resultieren, was sich mit Hilfe von Myokardbiopsien vor und nach der Therapie durch die Reduktion der entzündlichen Zellen feststellen ließ (97). Dementsprechend konnte zusätzlich die kardiodepressive Wirkung des erhaltenen Patienteneluats nachgewiesen werden. Dazu wurde dessen Wirkung auf isolierte Rattenkardiomyozyten geprüft, wobei sich ein negativ inotroper Effekt in einer Abnahme sowohl der Kontraktilität als auch des Kalziumtransienten zeigte, welcher auf die aus dem Patientenplasma entfernten Antikörper schließen lässt (47, 100).

Bislang konnten die positiven Effekte der Immunadsorption auch nach über zwei Jahren noch verzeichnet werden (101). Dies bezieht sich in erster Linie auf den polyzyklischen Ablauf. Ob dieser Erfolg auch nach nur einem Zyklus langfristig anhält, werden kommende Studien zeigen.

Im Anschluss an jeden Zyklus erhalten die Patienten 0,5 g/kg polyklonales IgG, um einer Immundefizienz infolge der unspezifischen Antikörperextraktion vorzubeugen (97).

Noch ist es zwar nicht gelungen, alle Mechanismen der Immunadsorption genau zu klären und bei allen DCM-Patienten eine Besserung der Krankheitssymptomatik zu erzielen,

dennoch stellt sie eine viel versprechende Therapieoption zur Herausforderung oder sogar zur Verhinderung einer Herztransplantation dar (41-43, 102, 103).

I.6. Fragestellung dieser Arbeit

Die Frage nach der Ätiologie der dilatativen Kardiomyopathie konnte bisher nicht vollständig beantwortet werden. Neben einer genetischen Disposition ergeben sich auch Anzeichen für einen immunologischen Hintergrund. Der Zusammenhang zwischen einer Infektion mit kardiotropen Viren, der möglicherweise daraus resultierenden Myokarditis und sich in deren Verlauf entwickelnde Autoimmunität, welche letztlich das Krankheitsbild zu bestimmen scheint, steht nach wie vor offen im Raum.

In der vorliegenden Arbeit soll der Einfluss von Autoantikörpern auf die Funktionsfähigkeit von Kardiomyozyten überprüft werden. Darüber hinaus stellt sich die Frage nach einem Zusammenhang zwischen einer möglichen negativ inotropen Wirkung und anderen klinischen Parametern, der Erkrankungsdauer sowie einer begleitenden myokardialen Infektion oder Inflammation.

Zu diesem Zweck wurden Kardiomyozyten von Ratten aus dem Zellverband isoliert und dem Plasma von DCM-Patienten ausgesetzt. Mit Hilfe von Fluoreszenzmikroskopie sind die resultierenden Veränderungen der Kontraktilität und des Kalziumtransienten der einzelnen Zellen ermittelt worden. Bei der statistischen Auswertung wurden sowohl klinische Parameter der Patienten wie Alter, Geschlecht, Erkrankungsdauer und Ejektionsfraktion gegenübergestellt, als auch die immunhistologische Befunde der Myokardbiopsien hinsichtlich einer zum Messzeitpunkt vorliegenden Infektion oder Inflammation des Myokards berücksichtigt.

Durch die Ergebnisse soll der Einfluss kardiotroper Antikörper auf die Pathogenese der DCM weiter verdeutlicht werden.

II MATERIAL & METHODEN

Der nachfolgend beschriebene Versuchsaufbau diente der Isolierung von Ratten-Kardiomyozyten aus dem Zellverband unter Verwendung einer modifizierten Langendorff-Anlage. Mittels Fluoreszenzmikroskopie wurde die Reaktion dieser Zellen auf die IgG-Fraktion, welche aus dem Plasma von DCM-Patienten eluiert worden ist, gemessen. Die Ergebnisse umfassten dabei Veränderungen der Kontraktilität und des Kalzium-Transienten der Kardiomyozyten.

II.1. Chemikalien

Je nach Anforderung wurden vor Beginn der Messungen verschiedene Pufferlösungen bereitgestellt. In der folgenden Tabelle werden die enthaltenen Substanzen und deren Hersteller zusammengefasst.

Substanz	Versuchspuffer	Hepes-Perfusions-Puffer	Hersteller
NaCl	117 mM	110 mM	Roth, Karlsruhe, Germany
KCl	2,8 mM	2,6 mM	Merck, Darmstadt, Germany
MgCl ₂	0,6 mM	-	Merck, Darmstadt, Germany
MgSO ₄	-	1,2 mM	Merck, Darmstadt, Germany
KH ₂ PO ₄	1,2 mM	1,2 mM	Merck, Darmstadt, Germany
CaCl ₂	1,2 mM	-	Merck, Darmstadt, Germany
Glucose	20 mM	11 mM	Merck, Darmstadt, Germany
Hepes	10 mM	25 mM	Merck, Darmstadt, Germany
pH	7,3 mit NaOH	7,4 mit NaOH	

Tab. II.1.1 Verwendete Chemikalien I; Hepes - Hydroxyethylpiperazinylethansulfonsäure

Der Perfusionspuffer wurde ausschließlich für die Zellisolation verwendet, während der Versuchspuffer neben der Versorgung der isolierten Zellen auch als externe Kalziumquelle diente.

Außer den Pufferlösungen wurden weitere Chemikalien verwendet, welche ebenfalls nachfolgend aufgelistet sind:

Substanz	Hersteller
Trapanal® (Thiopental)	Byk Gulden, Konstanz, Germany
BSA (Bovines Serum Albumin)	Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany
Kollagenase Typ CLS 2	Cell Systems, Worthington, Lakewood, USA
Laminin	Harbor Bio Products, Norwood, MA, USA
Fura-2-AM	Sigma-Aldrich, Steinheim, Germany

Tab. II.1.2. Verwendete Chemikalien II

II.2. Tiere

Für die Isolation der Kardiomyozyten wurden Tiere der Rasse Albino-Wistar verwendet. Sie waren ausschließlich weiblich und stammten aus der Schönwalder Zucht bei Berlin. Ihr Gewicht zum Zeitpunkt der Organentnahme betrug 180 bis 200 g, ihr Alter lag zwischen 6 und 8 Wochen.

II.3. Patienten

Die für die Messungen verwendeten IgG-Fraktionen wurden aus dem EDTA-Blut stationär aufgenommener Patienten der Klinik für Innere Medizin B (Kardiologie) Greifswald gewonnen. Bei allen Patienten war zuvor klinisch eine Dilatative Kardiomyopathie diagnostiziert worden.

Im Rahmen der klinischen Untersuchungen wurde bei allen Patienten sowohl eine Koronarangiographie zum Ausschluss einer koronaren Herzerkrankung durchgeführt als auch Myokardbiopsien aus dem interventrikulären Septum vom rechten Ventrikel aus

entnommen und anschließend sowohl histologisch als auch immunhistochemisch analysiert.

II.4. Probengewinnung

Das von den Patienten entnommene Blut wurde bei 3800 rpm 10 Minuten lang zentrifugiert. Anschließend wurde das abgetrennte Plasma miniadsorbiert. Die Adsorptionssäulen wurden mit Sepharose gefüllt, an welche gegen humanes IgG gerichtete Antikörper gekoppelt waren. Auf die Sepharose wurde zur Trennung von der Konservierungsflüssigkeit ein Filter gepresst. Sobald dieser luftblasenfrei saß, wurde die Säule nach unten geöffnet und die Konservierungsflüssigkeit floss durch die Sepharose hindurch ab. Anschließend spülte man sie mit der dreifachen Plasmamenge physiologischer NaCl. Im nächsten Schritt gab man das Plasma über die Säule. Die Schafsantikörper banden an die Antikörper im Plasma, so dass diese zunächst in der Sepharose-Schicht verblieben. Danach wurde die Säule erneut gewaschen. Eluiert wurden die Antikörper schließlich mit einer 0,2 M Glycin-Lösung. Durch deren sauren pH-Wert von 2,8 wurden die Bindungen zwischen den Schafsantikörpern und den Patientenantikörpern getrennt, welche dann durch die Säule fließen konnten. Anschließend musste der pH-Wert des Eluats auf 7,3 eingestellt werden, da das saure Milieu sonst die Antikörper denaturiert hätte.

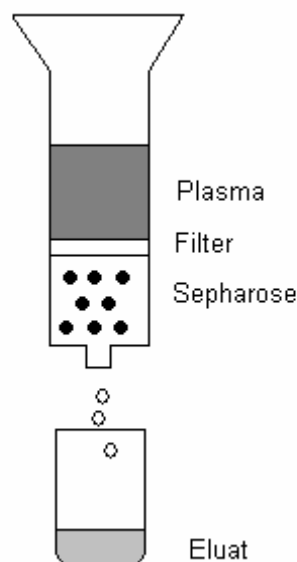


Abb. II.5.1 Miniadsorption (schematisch)

Im weiteren Verlauf wurde das Eluat gegen Versuchspuffer dialysiert, um die Elektrolytkonzentration und den pH-Wert der Probe den Bedürfnissen der Myokardiozyten für die späteren Messungen anzupassen. Die Proben wurden dazu in einen Dialyseschlauch aus Cellulose-Ester mit einer Molekulargewichtsgrenze (MWCO) von 100.000 Dalton gefüllt. Die Dialyse erfolgte in zwei Zyklen, 8 Stunden in einem 1l-Versuchspuffer, anschließend noch einmal 20 Stunden in 3l Versuchspuffer. Anschließend wurde die Probe für 30 Minuten in ein 57°C warmes Wasserbad gegeben, um mutmaßlich aktive Komplementfaktoren zu inaktivieren.

Ein kleiner Teil der Probe wurde zur IgG-Bestimmung ins Routinelabor geschickt, nach Erhalt des Befundes wurden die Immunglobuline mit Versuchspuffer auf eine Konzentration von 330 µg pro ml verdünnt, aliquotiert und bei -70°C für die späteren Messungen aufbewahrt.

II.6. Zellisolation

Für die Isolation der Kardiomyozyten wurde eine modifizierte Langendorff-Anlage verwendet. Sie setzte sich aus zwei Auffanggefäßen zusammen, welche sich in 90 cm Abstand voneinander befanden. Ihnen war eine Wendel zwischengeschaltet, welche zum einen die Temperatur konstant hielt, und zum anderen durch eine integrierte Blasenfalle das Entstehen von Luftembolien während der Perfusion verhinderte. Im oberen Auffanggefäß befand sich der Hapes-Puffer bzw. die Enzymlösung, im unteren Auffanggefäß wurde das Herz mittels Katheter fixiert. Das untere Gefäß wurde abgeschlossen, um eine ausreichende Luftfeuchtigkeit und -temperatur von 37°C für das Herz zu gewährleisten. Durch die Anordnung beider Gefäße entstand ein Druck von 90 cm Wassersäule, welcher durch eine Flussregulierung gesteuert werden konnte. Das aus dem Herz tropfende Perfusat konnte durch eine Pumpe wieder dem oberen Auffanggefäß zugeführt werden. Die auf diese Weise zirkulierende Hapes-Enzym-Lösung wurde ständig mit einem Sauerstoff-Carbogen-Gemisch begast und stand so immer wieder einer erneuten Perfusion zur Verfügung.

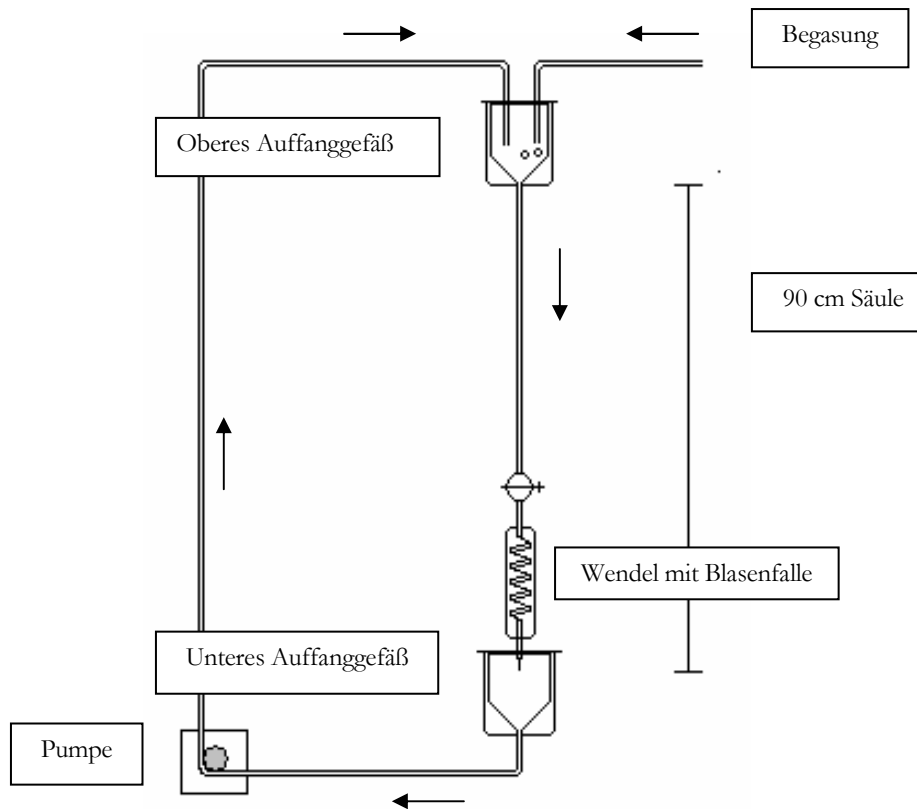


Abb. II.6.1 Langendorff-Anlage (schematisch)

II.6.1. Organentnahme und Präparation

Vor der Organentnahme wurde dem Tier eine Lösung, bestehend aus Trapanal zur Anästhesie (3,75g/kgKG) und Heparin, injiziert. Die Injektion erfolgte intraperitoneal. Sobald das Tier weder auf Berührungs- noch auf Schmerzreize reagierte, begann man mit der Präparation. Dazu entfernte man mit einer Schere das Fell vom Brust- und Bauchbereich. Anschließend setzte man einen transversalen Schnitt unterhalb der Zwerchfellebene. Durch einen weiteren entlang des Sternums verlaufenden Schnitt wurde der Thorax eröffnet. Das Herz wurde dann großzügig herausgenommen, indem man die ober- und unterhalb verlaufenden Gefäße absetzte, ohne jedoch den Aortenbogen oder das Herz selbst zu verletzen. Aus diesem Grund wurden sämtliche thorakale Organe noch am Präparat belassen und erst später unter freier Sicht wegpräpariert. Das Präparat wurde in eine eisgekühlte NaCl-Lösung gegeben, woraufhin es die im geöffneten Brustkorb noch zu beobachteten Kontraktionen rasch einstellte. Durch die letzten Kontraktionen wurde schließlich das Blut aus Ventrikeln und Koronarien gepumpt. Anschließend konnten unter freier Sicht restliche Organe wie Lunge, Speiseröhre und Thymus entfernt werden.

II.6.2. Perfusion und enzymatische Isolation

Das präparierte Herz wurde an der Aorta aufgehängt, und zwar so, dass die Aortenabgänge verschlossen waren, die Koronargefäße jedoch trotzdem frei blieben und die Aortenklappe nicht durchstoßen werden konnte. Auf diese Weise wurde die Versorgung des Herzens über die Koronarien bei gleichzeitiger Abdichtung des Präparates gesichert. Nach vollständiger Ausblutung wurde das Herz fixiert und für wenige Minuten mit Hepes-Puffer bei einer Geschwindigkeit von einem Tropfen pro Sekunde perfundiert. Im Anschluss gab man die Enzymlösung in das obere Auffanggefäß, welche sich aus 174 mg BSA, 26 mg Kollagenase und 22,5 µl einer 100nM CaCl₂-Lösung zusammensetzte. Durch die Kollagenase wurden die Kardiomyozyten voneinander gelöst, während das BSA lediglich als „Abfangsieb“ für beispielsweise freiwerdende Fettsäuren diente. Diese Enzymlösung durchfloss das Herz, wurde im unteren Gefäß aufgefangen und über die Pumpe wieder dem oberen Gefäß zugeführt. Diesen Prozess wiederholte man etwa eine halbe Stunde lang. Nachdem das Herz ausreichend lange perfundiert worden war, wurde es von der Kanüle abgenommen und in Enzymlösung gegeben. Dann wurden die Vorhöfe in Herzklappenebene sowie weiteres noch überschüssiges Gewebe entfernt. Die verbleibenden Ventrikel wurden mit Hilfe von Schere und Skalpell in etwa 1mm³ kleine Stücke zerteilt.

Die restliche Enzymlösung wurde aus dem oberen Auffanggefäß in das untere abgelassen, die Begasung ebenfalls auf das untere Gefäß umgestellt. Die zerkleinerten Zellen wurden in die Enzymlösung zurückgegeben und 10 Minuten lang durchmischt und begast.

Anschließend wurde diese Zellsuspension durch ein Netz mit einer Maschengröße von 200 µm filtriert. Das Filtrat wurde in mehreren Durchgängen bei 43 RCF zentrifugiert. In den ersten beiden Durchgängen von je 1 Minute Dauer wurden die Kardiomyozyten von anderen Zellen wie etwa Fibroblasten getrennt. Da sich die Muskelzellen am Boden absetzten, ließ sich der Überstand einfach abgießen. Das entstandene Pellet ließ sich dann durch leichtes Schütteln lösen. In zwei folgenden Durchgängen wurde die extrazelluläre Kalziumkonzentration durch Zufügen von CaCl₂-Lösung und Versuchspuffer erhöht, um die Kardiomyozyten rechtzeitig an das veränderte Milieu während des Messvorganges zu gewöhnen.

II.6.3. Zellzählung

Um beurteilen zu können, ob die Isolation erfolgreich war, wurden wenige μl der Suspension in eine Fuchs-Rosenthal-Kammer pipettiert und anschließend bei zehnfacher Vergrößerung unter dem Mikroskop betrachtet. Es wurden alle als intakt geltenden Zellen gezählt. Das umfasste alle diejenigen, welche eine längliche und viereckige Form, sowie die für Herzmuskelzellen typische Querstreifung aufwiesen. Alle Zellen mit rundlicher und zusammengezogener Form, ohne Querstreifung und schlecht abgrenzbaren Rändern wurden als abgestorben betrachtet und nicht mitgezählt. Die durchschnittliche Ausbeute einer erfolgreichen Isolation sollte 2 bis 3 Millionen Zellen betragen, wobei der Anteil der intakten Zellen zwischen 70 und 90 % liegen sollte.

Nach der Zellzählung wurde die Zellsuspension je nach Zelldichte mit Versuchspuffer verdünnt, wobei die Verdünnung stets noch einmal mit dem Mikroskop kontrolliert werden musste. Nur dann war eine überlagerungsfreie Messung der einzelnen Zellen möglich.

II.6.4. Befüllung und Anfärbung

Für die Durchführung der Messungen unter dem Fluoreszenzmikroskop wurden die Kardiomyozyten in entsprechende Mikroskopierkammern gefüllt, welche zuvor mit $10\mu\text{g/ml}$ Laminin beschichtet worden sind. Nachdem die Zelldichte durch entsprechende Verdünnung genügend herabgesetzt worden war, gab man etwa 5000 Zellen mit $600\mu\text{l}$ Versuchspuffer in die Mikroskopierkammern. Unter Berücksichtigung einer ausreichenden Luftfeuchtigkeit und Kühlung erfolgte nun die Festhaftung an den laminierten Kammerboden.

Zur späteren Betrachtung unter dem Mikroskop und Erfassung der Zellverkürzung und des Kalziumtransienten war die Markierung der Zellen mit einem fluoreszierenden Farbstoff notwendig. Dazu wurde das bereits oben aufgelistete Fura-2-AM verwendet, ein Acetonmethylester, welcher durch seine Lipophilie in der Lage war, die Zellen zu permeieren und so das intrazelluläre Kalzium zu erfassen. Durch Esterasen wurde der Farbstoff in zwei aktive polare Liganden gespalten, welche die Zelle nicht mehr verlassen konnten.

Von der Färbelösung wurden 500 µl in jede Kammer gegeben. Anschließend ließ man die Zellen für 10 Minuten auf einer Wippe inkubieren und wusch den überschüssigen Farbstoff anschließend in zwei Waschdurchgängen aus.

II.7. Messung der Zellverkürzung und des Kalziumtransienten

II.7.1. Die Messvorrichtung

Für die Messung von Veränderungen der Kontraktilität und des Kalziumtransienten der Kardiomyozyten wurde ein Fluoreszenzmikroskop (Leica DM IRB) verwendet. Es war mit einer Auflicht-Fluoreszenz-Anlage, einer Kamera (Myocam) zur Darstellung der Zelle auf dem Bildschirm des angeschlossenen Computers sowie mit einem Zellstimulator, um die Zellen durch elektrische Reize zur Kontraktion anzuregen, gekoppelt. Die angeschlossenen Geräte stammten von der Firma Ion Optix (Milton, MA, USA). Das Mikroskop selbst verfügte über eine Durchlicht-Halogen-Beleuchtung, eine Helligkeits- und Grob-Fein-Einstellung. Mit Hilfe eines Immersionsöl-Objektivs erreichte man eine 40-fache Vergrößerung des fokussierten Objekts. Dabei entstand eine reale, zweidimensionale, vergrößerte, umgekehrte Abbildung. Die Fluoreszenz-Anlage sendete Licht unterschiedlicher Wellenlängen aus, aus welchem die zur Anregung des Fluoreszenzfarbstoffes geeigneten Wellenlängen mittels Eingangssperrspiegel ausgewählt wurden. Anschließend traf der Lichtstrahl auf einen dichromatischen Spiegel, welcher wiederum nur Wellenlängen zwischen 360 und 380 nm durchließ, längere wurden reflektiert. Die herausgefilterten Wellenlängen wurden nun durch ein Objektiv zur Strahlenbündelung geschickt und trafen anschließend auf das Objekt, welches sich genau in der Fokusebene befand, in der die Anregungsintensität am höchsten war. Es wurden auch Objekte außerhalb der Fokusebene angeregt, diese wurden jedoch später ausgeblendet und somit nicht beachtet. Der in der Zelle befindliche Farbstoff wurde angeregt und emittierte dann längerwelliges Licht von etwa 515 nm. Dieser Lichtstrahl wurde wiederum durch das Objektiv auf den dichromatischen Spiegel gelenkt und dann so reflektiert, dass er vom Punktlichtdetektor der Kamera aufgenommen und an einen Photomultiplier weitergegeben wurde. Dieser maß die Emissionsintensität und gab die Signale an den Computer weiter, welcher sie letztendlich zusammenfasste. Durch eine Lochblende vor dem Punktlichtdetektor wurden emittierte Lichtstrahlen von Objekten außerhalb der

Fokusebene ausgeblendet, so dass nur Emissionen aus der Fokusebene direkt empfangen und ausgewertet werden konnten.

II.7.2. Der Messablauf

Vor Beginn der Messung wurde eine Mikroskopierkammer auf dem Mikroskopiertisch fixiert und in den Strahlengang eingebracht. Über ein zu- und ableitendes Pumpsystem wurden die Zellen in den Kammern kontinuierlich mit Versuchspuffer versorgt. Des Weiteren wurde in die Kammer die Elektrode des Zellstimulators eingeführt, um die Zellen mit einer Frequenz von 1 Hz, einer Spannung von 12 V und einer Impulsdauer von 5 ms zur Kontraktion anzuregen.

Die für die jeweilige Messung ausgewählte Zelle sollte regelmäßig und stark genug kontrahieren. Weiterhin sollte sie gut abgrenzbare Ränder haben, die typische Querstreifung aufweisen und sich möglichst nicht mit anderen Zellen überlagern. Störende Objekte in derselben Ebene blendete man mit einer manuell bedienbaren Lochblende aus. Dann fixierte man die seitlichen Zellränder mit Hilfe eines Markers im Messfeld. Anschließend wurde über die Shutter-control die Fluoreszenzintensität reguliert. Die Zelle wurde jeweils 10 Kontraktionen lang betrachtet, die erste Aufnahme zeigte den Ausgangszustand, die Baseline. Zeigten sich die Kontraktionen und der Kalziumtransient stabil, konnte man über das Pumpsystem die Probe über die Zelle geben, in diesem Fall die Antikörper aus dem aufbereiteten Patienten-Plasma. Nachdem das gesamte Material die Kammer passiert hatte, wurden die Pumpen abgeschaltet, um ein Ausschwemmen der Antikörper zu verhindern. Direkt im Anschluss wurde die akute Reaktion der Zellen erfasst. Die Veränderung der Kontraktilität konnte direkt beobachtet werden, während eine Änderung des Kalziumtransienten als Ratio aus dem Verhältnis von kalziumgebundenen zu nicht-kalziumgebundenen Fura-2-AM errechnet wurde. Es folgten weitere Messungen nach 2 und nach 5 Minuten. Zwischen den Messungen wurde die Beleuchtung immer wieder eingestellt, um das Bleaching des Fluoreszenzfarbstoffes zu verhindern.

II.8. **Statistische Auswertung**

Um die Ergebnisse der Messungen statistisch auswerten zu können, wurden die Patienten gemäß verschiedener Kriterien in mehrere Gruppen unterteilt. Patienten mit DCM wurden

Kontrollpatienten gegenübergestellt, ebenso männliche gegen weibliche Patienten sowie Patienten unterschiedlicher Altersgruppen und Erkrankungsdauer. Hinsichtlich klinischer Parameter wurden die Ejektionsfraktion, der Infektions- und Inflammationsstatus berücksichtigt. In Bezug auf eine zum Messzeitpunkt vorhandene Infektion oder Inflammation sind zusätzlich die Kombinationsmöglichkeiten der Befunde miteinander verglichen worden, so dass im Nachhinein zwischen Patienten mit und ohne Virusinfektion in Verbindung mit vorhandener oder nicht vorhandener Inflammation unterschieden werden konnte.

Zur Auswertung der Daten wurde das Analyse-Programm von Ion Optix verwendet, die statistische Berechnung und graphische Darstellung erfolgte mit Microsoft Excel.

Pro Patient wurden insgesamt 6 Messungen an unterschiedlichen Tagen durchgeführt, dabei sind die Baseline, also Ausgangskontraktilität und Kalziumtransient, die Akutreaktion nach Zugabe der Antikörper sowie die Reaktion nach 2 und 5 Minuten registriert worden. Von den Werten jeder Einzelmessung wurde der Mittelwert gebildet und ihre Abweichung von der jeweiligen Baseline errechnet. Die Ergebnisse der insgesamt 6 Messungen wurden dann erneut gemittelt, um eine repräsentative Aussage zur Reaktion in Bezug auf den jeweiligen Patienten treffen zu können. Als negativ inotrope Reaktion ist eine Abnahme der Kontraktilität um 10 % und mehr mit begleitender Reduktion des Kalziumtransienten gewertet worden. Die Angabe der Ergebnisse erfolgte schließlich in Prozentwerten. Zur Ermittlung der Signifikanz wurde der Chi-Quadrat-Test verwendet, das Signifikanzniveau wurde bei 0,05 festgelegt.

III ERGEBNISSE

III.1. Allgemeine Charakteristika der Patienten

III.1.1. Alter und Geschlecht

Das untersuchte Patientenkollektiv umfasste 128 Patienten mit klinisch gesicherter DCM und 64 Kontrollpatienten. Das mittlere Alter der DCM-Patienten lag bei 53, das der Kontrollpatienten bei 55 Jahren. Auch bei der Geschlechterverteilung beider Gruppen ließ sich kein signifikanter Unterschied finden, 70 % der Kontrollpatienten waren Männer und 30 % Frauen. Ähnlich verhielt es sich bei den DCM Patienten, hier waren 73 % männlichen und 27 % weiblichen Geschlechts.

III.1.2. Klinische und hämodynamische Charakteristika

Bei allen erkrankten Patienten ist klinisch und später auch histologisch nach Entnahme von Myokardbiopsien eine Dilatative Kardiomyopathie diagnostiziert worden. Die durchschnittliche Erkrankungsdauer betrug zum Zeitpunkt der Messungen 1,8 Jahre. Bei 37 Patienten konnte die Krankheitsdauer nicht genau bestimmt werden, da sich die DCM oftmals auch nur unspezifisch im Sinne von zunehmender Leistungsminderung manifestiert.

Alle Patienten wurden einer Echokardiographie und einem Rechtsherzkatheter unterzogen. Die dabei ermittelte linksventrikuläre Ejektionsfraktion betrug im Mittel 32 ± 9 %. Der linksventrikuläre enddiastolische und endsystolische Durchmesser ergaben durchschnittlich 67 ± 9 mm und 53 ± 7 mm.

Neben der Grunderkrankung wurden auch häufig vorkommende Nebenerkrankungen und Befunde dokumentiert. So zeigte sich im Rahmen der kardialen Erkrankung bei 8 % eine Trikuspidal- und bei 26 % eine Mitralklappeninsuffizienz jeweils I. bis II.°. Weitere 40 % litten an einer Dyslipoproteinämie, 38 % an einer manifesten arteriellen Hypertonie und 17 % an einem teils insulinpflichtigen Diabetes mellitus Typ II.

	DCM-Patienten	Kontrollen
Anzahl	128	64
Alter (Jahre)	53 +/-11	55 +/-17
Geschlecht (%)		
männlich	73	70
weiblich	27	30
Erkrankungsdauer (Jahre)	1,8 +/-4	-
Ejektionsfraktion (%)	32 +/-9	-
LVEDD (mm)	67 +/-9	-
LVESD (mm)	53 +/-7	-
Nebenbefunde/-erkrankungen (%)		
Dyslipoproteinämie	40	-
Arterielle Hypertonie	38	-
Diabetes mellitus	17	-
Mitralinsuffizienz	26	-
Trikuspidalinsuffizienz	8	-

Tab. III.1.1. Klinische Charakteristika der DCM- und Kontrollpatienten

III.1.3. Infektions- und Inflammationsstatus

Die bei einem Großteil der Patienten durchgeführte Myokardbiopsie lieferte Aussagen zu einem möglichen Virusbefall und bei den meisten von ihnen auch zum Inflammationsstatus des Herzmuskels.

Von 113 Fällen, in denen letztendlich ein Virusbefund vorlag, wiesen 45 % eine Infektion auf, während bei 55 % der Patienten kein Virus gefunden werden konnte. Die dabei vorherrschenden Viren waren das Parvovirus B19 bei 47 %, das Humane Herpesvirus bei 31% und das Ebstein-Barr-Virus bei 6 % der untersuchten Patienten. Nur gering vertreten waren Enteroviren und das Herpes-Simplex-Virus mit jeweils 2 %. Ein Zehntel der

Patienten litt unter einer Mischinfektion von PVB 19 und HHV6, weitere 2 % unter HHV6 und EBV.

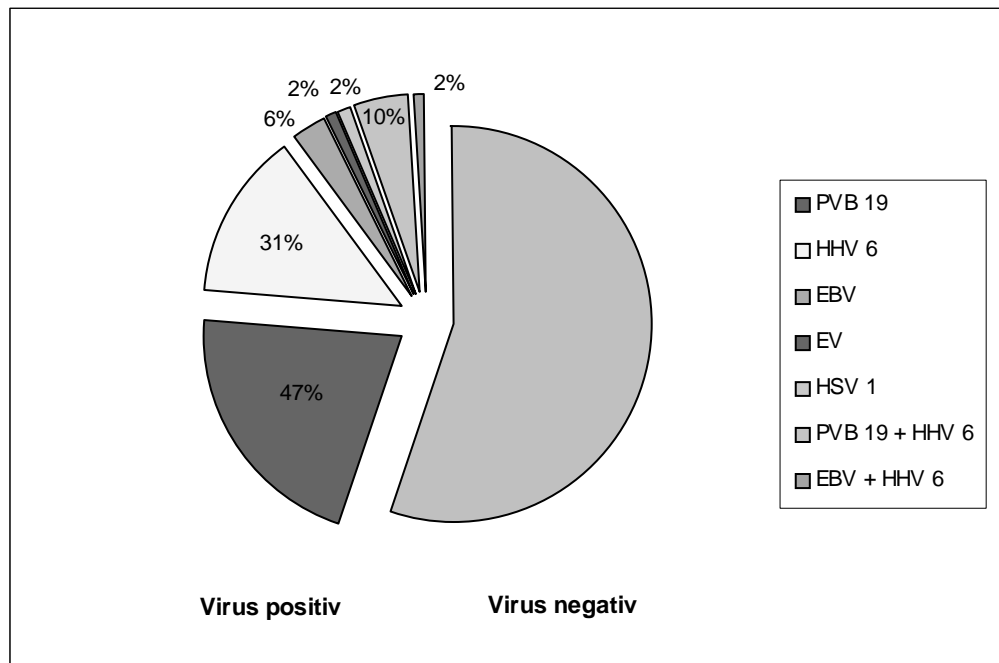


Abb. III.1.2. Häufigkeitsverteilung der kardiotropen Viren; PVB 19–Parvovirus B19, HHV 6–Humanes Herpesvirus 6, EBV–Ebstein-Barr-Virus, EV–Enteroviren,, HSV 1–Herpes Simplex Virus 1

In 110 Fällen konnten außerdem Aussagen zum Inflammationsstatus getroffen werden, bei 62 % der Patienten lag eine Entzündung vor. Demgegenüber standen 38 % inflammatorisch-negativer Befunde.

Darüber hinaus wurden die sich daraus ergebenden Kombinationen aus dem Virus- und Myokarditisbefund dokumentiert. Am häufigsten zeigte sich die Kombination aus virus-negativem und myokarditis-positivem Befund, gefolgt von virus-positiv und myokarditis-positiv.

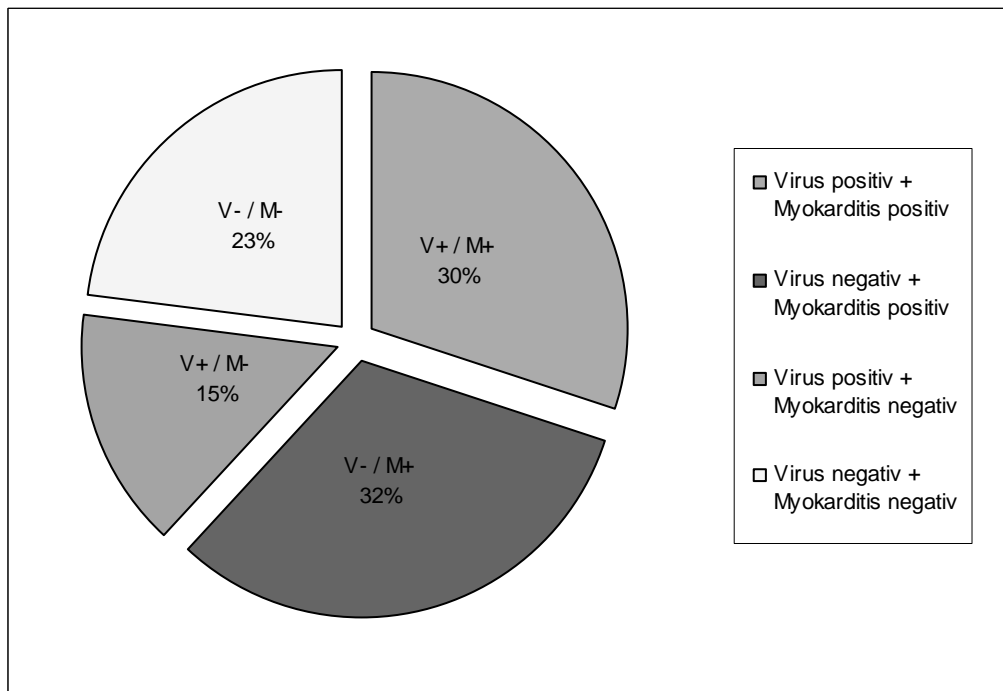


Abb. III.1.3. Kombinationen von Infektion und Inflammation

In Bezug auf die entzündliche Reaktion des Myokards konnte bei 91 Patienten auch die Anzahl der vorhandenen Entzündungszellen näher bestimmt werden. Die mittlere Dichte der CD68-Makrophagen lag bei 18 ± 8 Zellen pro mm^2 , die Dichte der CD3-T-Zellen war zwischen 0 und 10 stark gestreut, der Mittelwert lag bei $1,4 \pm 2,6$ Zellen pro mm^2 . Auch der Grad der MHC-Klasse-II-Antigene, welche charakteristischerweise auf körpereigenen Zellen im Rahmen einer Autoimmunreaktion exprimiert werden, variierte zwischen 0 und 2.

III.2. Untersuchung der kardiotropen Wirkung des Patientenplasmas

III.2.1. Inotropie bei DCM- und Kontrollpatienten

Bei den Messungen wurde eine Abnahme der Kontraktilität um mehr als 10% mit simultaner Abnahme des Kalziumtransienten Ausdruck einer negativ inotropen Reaktion der Kardiomyozyten auf die verabreichte IgG-Fraktion gewertet.

Bei den Messungen aller DCM-Patienten zeigte sich eine signifikante negativ inotrope Wirkung. So reagierten die Kardiomyozyten bei 61 % der Patienten mit einer Reduktion

der Kontraktilität und des Kalziumtransienten, während bei den restlichen 39 % keine Wirkung ersichtlich war.

Im Gegensatz dazu ließ sich nur bei 6 % der Kontrollpatienten eine entsprechende Reaktion in Hinblick auf eine Veränderung der Kontraktilität beobachten. Eine Reduktion des Kalziumtransienten resultierte hingegen sogar nur bei 4 % ($p < 0,001$ Kontrolle vs. DCM).

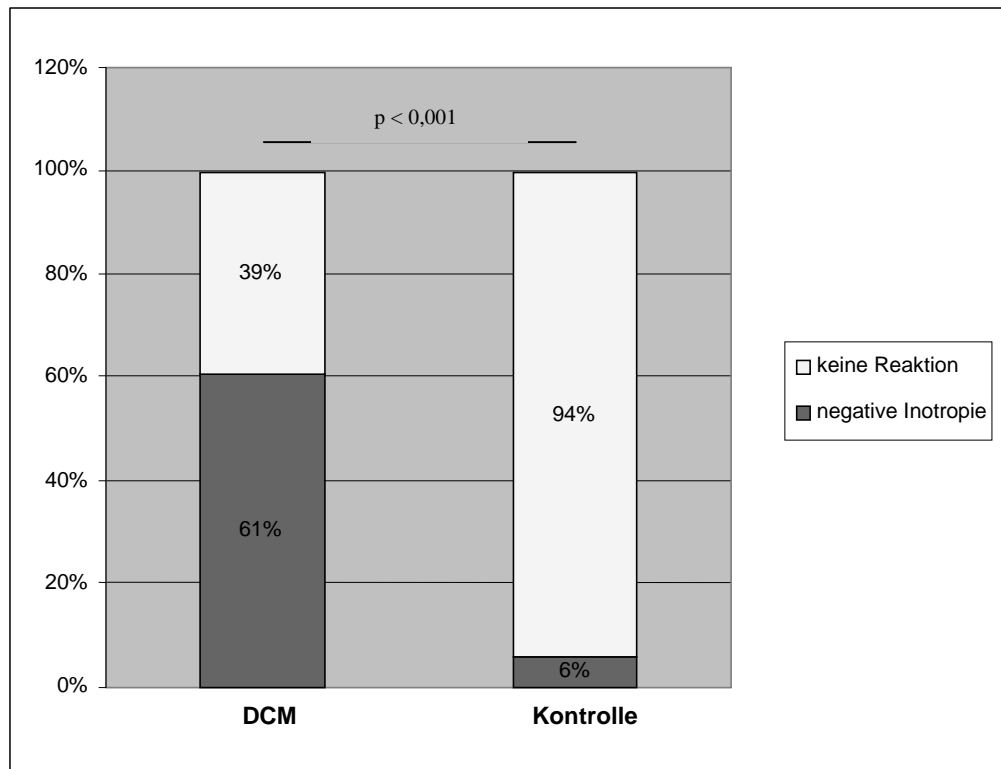


Abb. III.2.1. Wirkung der Patientenproben auf Kardiomyozyten, im Vergleich die Wirkung von Kontroll-Plasma
Es besteht offensichtlich ein Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Dilatativen Kardiomyopathie und der negativ inotropen Wirkung des Plasmas erkrankter Patienten auf Kardiomyozyten.

III.2.2. Inotropie in Abhängigkeit vom Geschlecht

Von den 128 untersuchten DCM-Patienten waren 93 männlichen und 35 weiblichen Geschlechts. Beim Probenmaterial der Männer zeigte sich eine stärkere Neigung zu einer negativ inotropen Reaktion als bei denen der Frauen. Auf die Proben der männlichen Patienten reagierten 67 % der Kardiomyozyten mit negativer Inotropie gegenüber 33 % ohne Reaktion. Im Vergleich löste das Plasma der Frauen nur bei 46 % eine Reduktion der Kontraktilität und des Kalziumtransienten aus, während sich bei 54 % gar keine Wirkung zeigte ($p < 0,05$ ♂ vs. ♀).

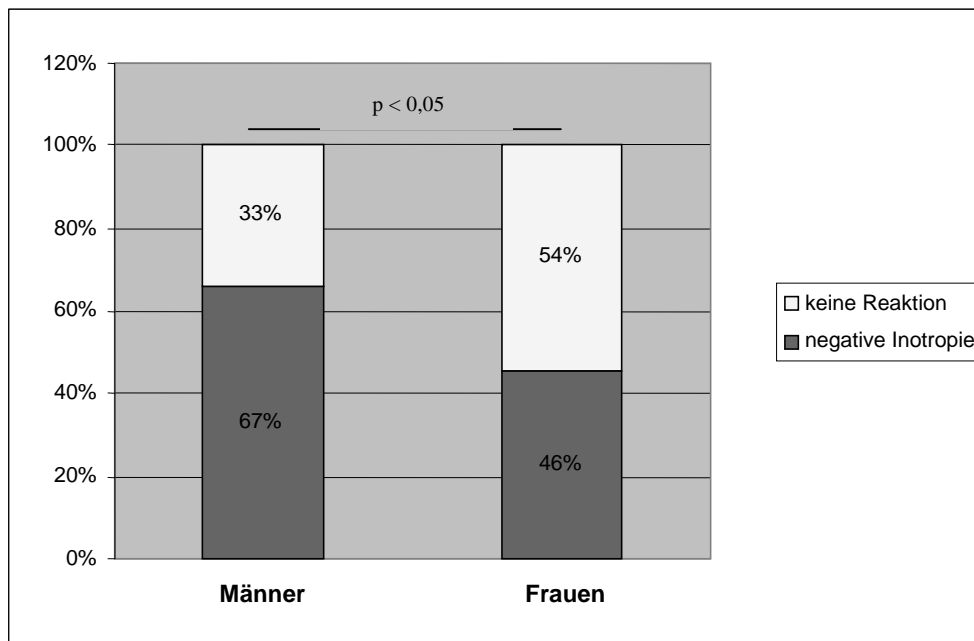


Abb. III.2.2. Auswirkung des Geschlechts auf die Reaktion der Kardiomyozyten
Bei männlichen Patienten mit Dilatativer Kardiomyopathie wird häufiger eine negativ inotrope Wirkung beobachtet als bei weiblichen Patienten.

III.2.3. Inotropie in Abhängigkeit vom Alter

Das Mindestalter des untersuchten Patientenkollektivs betrug 21 Jahre, das Höchstalter lag bei 81 Jahren. Der Altersmittelwert ergab 53 Jahre.

Die Patienten sind zunächst in zwei gleich starke Gruppen, entsprechend dem Mittelwert jünger und älter als 53 Jahre, unterteilt worden. Hierbei ergab sich jedoch kein signifikanter Unterschied bezüglich einer möglichen negativen Inotropie des Plasmas dieser Gruppen.

Eine erneute Unterteilung in zwei Patientengruppen, welche jeweils jünger bzw. 60 Jahre und älter als 60 Jahre waren, erbrachte dann im Gegensatz dazu jedoch einen signifikanten Unterschied zwischen den Messergebnissen der beiden Gruppen. In der Gruppe der bis einschließlich 60-Jährigen zeigten 60 % der Kardiomyozyten eine negativ inotrope Reaktion, bei 40 % war keine Wirkung ersichtlich. In der Gruppe der Über-60-Jährigen wiesen jedoch nur noch 18 % auf eine negative Inotropie hin, während bei den verbliebenen 82 % kein Effekt mehr nachzuweisen war ($p < 0,001$ Alter ≤ 60 J. vs. > 60 J.).

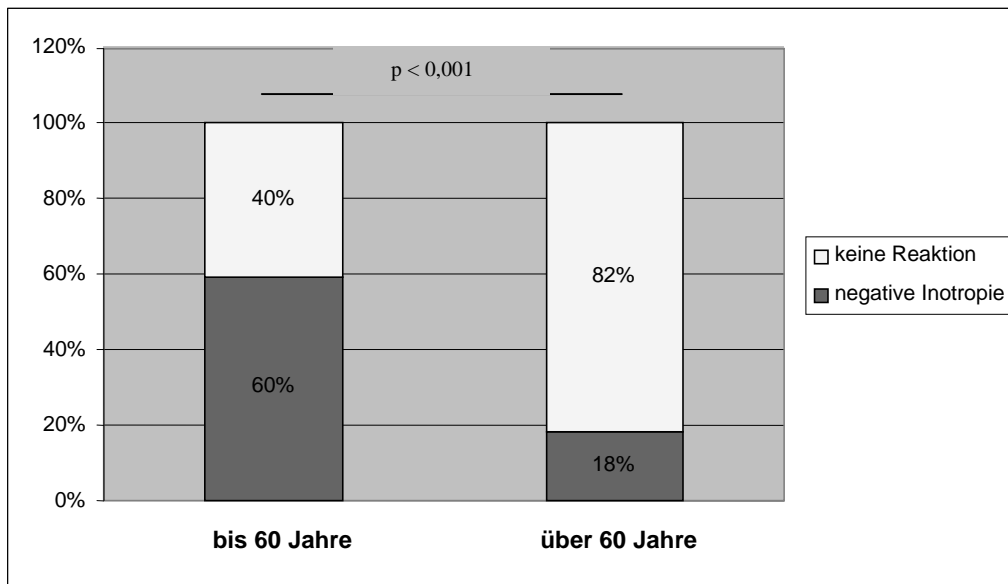


Abb. III.2.3. Auswirkung des Alters auf die Reaktion der Kardiomyozyten
Es scheint einen Zusammenhang zwischen der negativ inotropen Wirkung und dem Alter der Patienten zum Messzeitpunkt zu geben.

III.2.4 Inotropie in Abhängigkeit von der Krankheitsdauer

Die Krankheitsdauer der untersuchten Patienten variierte zwischen der erst kürzlich gestellten Erstdiagnose und dem Maximum von 27 Jahren. Die durchschnittliche Erkrankungsdauer zum Zeitpunkt der Messungen betrug 2,3 Jahre. Die Patienten sind entsprechend ihrer Anamnese in 3 Gruppen unterteilt worden. Die erste Gruppe umfasste die Patienten, deren Diagnose innerhalb des letzten Monats gestellt worden war. In der zweiten Gruppe wurden die Patienten mit einer Krankheitsdauer von über einem Monat, bis zu einem halben Jahr. Die letzte Gruppe beinhaltete schließlich alle diejenigen, deren Diagnosestellung schon über 6 Monate zurücklag.

Bei der vergleichenden Auswertung der Messergebnisse dieser 3 Gruppen ließ sich kein signifikanter Unterschied in Hinblick auf einen negativ inotropen Effekt beobachten. Von den Patienten mit der Erstdiagnose bewirkten 64 % eine negativ inotrope Wirkung auf die Kardiomyozyten, bei den Patienten mit einer Krankheitsdauer bis 6 Monaten waren es 74 %. Die Patienten, deren Erkrankung schon länger als ein halbes Jahr bekannt war, zeigten in 54 % der Fälle einen kardiodepressiven Effekt ($p > 0,05$ ED vs. ≤ 6 Monate vs. > 6 Monate).

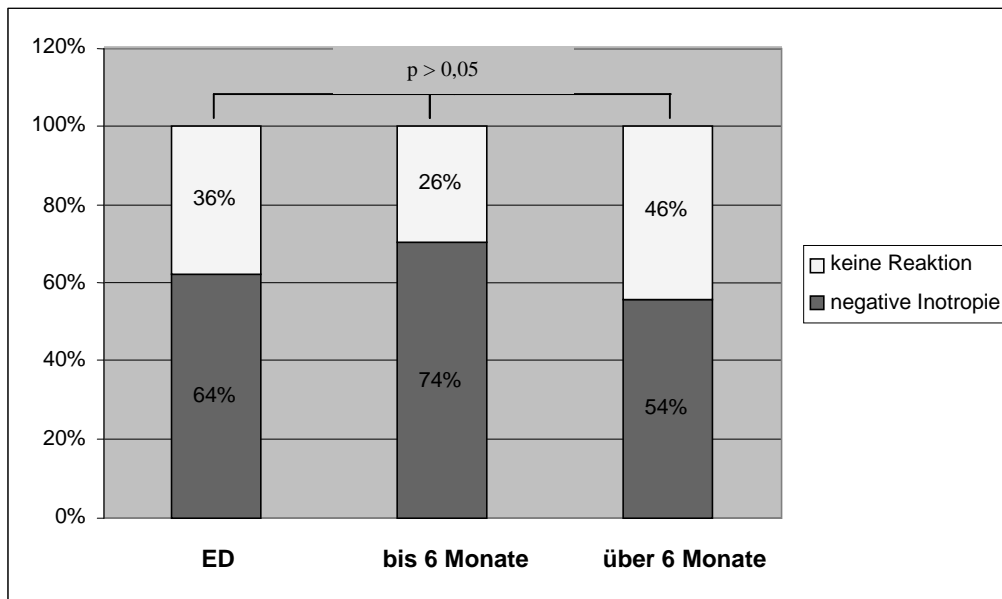


Abb. III.2.4. Auswirkung der Krankheitsdauer auf die Reaktion der Kardiomyozyten
Es gibt scheinbar keinen signifikanten Zusammenhang zwischen der Krankheitsdauer zum Messzeitpunkt und dem Auftreten eines negativ inotropen Effektes.

III.2.5 Inotropie in Abhängigkeit von der Ejektionsfraktion

Die Ejektionsfraktion, welche bei 126 der DCM-Patienten bekannt war, ergab einen Durchschnittswert von 32 ± 9 %. Der niedrigste Wert lag bei 10 %, während der höchste 51 % betrug. Um zu ermitteln, ob eine negativ inotrope Reaktion von der Größe der Ejektionsfraktion zum Zeitpunkt der Messung abhängt, sind auch hier die Patienten in zwei Gruppen aufgeteilt worden. Als Grenzwert wurde der mediane Ejektionsfraktionswert, welcher bei 31 % lag, genutzt. Die erste Gruppe umfasste 63 Patienten mit einer Ejektionsfraktion unter 31 %, der zweiten Gruppe wurden die restlichen 64 Patienten, deren Ejektionsfraktion 31 % und mehr erreichte, zugeordnet.

Die durchgeführten Messungen ergaben in der Gruppe mit der geringeren Auswurfleistung bei 51 % der Kardiomyozyten eine negativ inotrope Reaktion, die übrigen 49 % blieben unbeeinflusst. Im Gegensatz dazu riefen 71 % der Patienten, deren Ejektionsfraktion über 30 % lag, eine negativ inotrope Wirkung hervor, nur bei 29 % zeigte sich kein Effekt ($p < 0,05$ EF unter 31% vs. EF ab 31%).

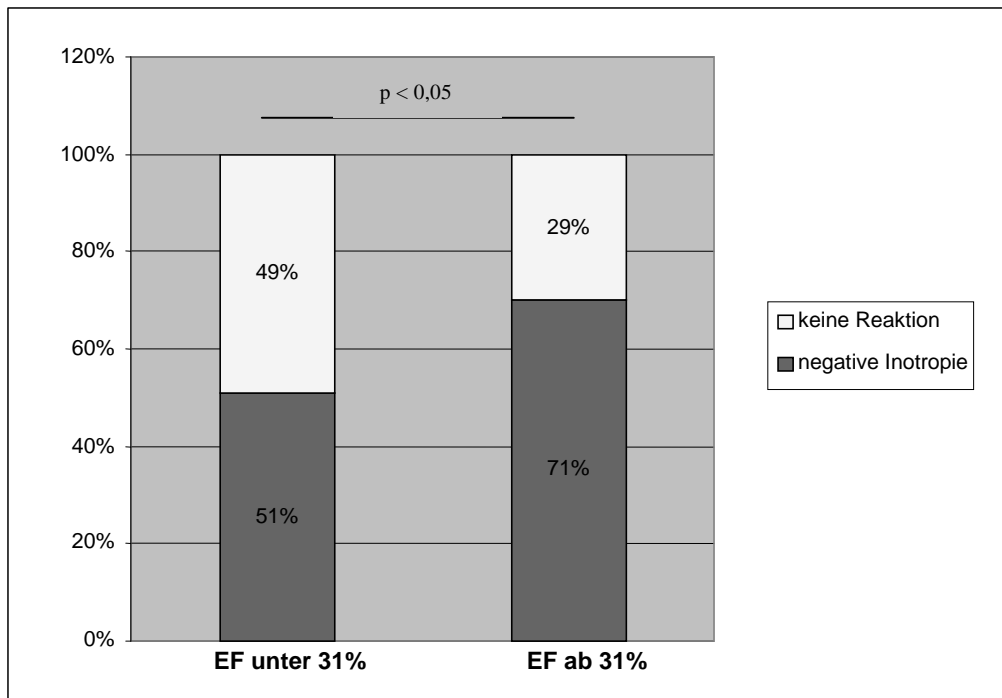


Abb. III.2.5. Auswirkung der Ejektionsfraktion auf die Reaktion der Kardiomyozyten; Bei DCM-Patienten mit höherer Ejektionsfraktion wird häufiger ein negativ inotroper Effekt festgestellt.

III.2.6. Inotropie in Abhängigkeit von einer viralen Infektion

Bei 113 von den 128 DCM-Patienten ist im Rahmen der Endomyokardbiopsie untersucht worden, ob der Herzmuskel zum Zeitpunkt der Messungen mit einem Virus infiziert war. Bei 51 von ihnen konnte ein Infektionserreger identifiziert werden. Deren Probenmaterial löste bei 57 % der Rattenkardiomyozyten eine positive Reaktion aus. Von den verbleibenden 62 Patienten, bei denen kein Virus gefunden wurde, bedingte ebenfalls die Mehrzahl von 63 % eine negativ inotrope Wirkung ($p > 0,05$ V+ vs. V-).

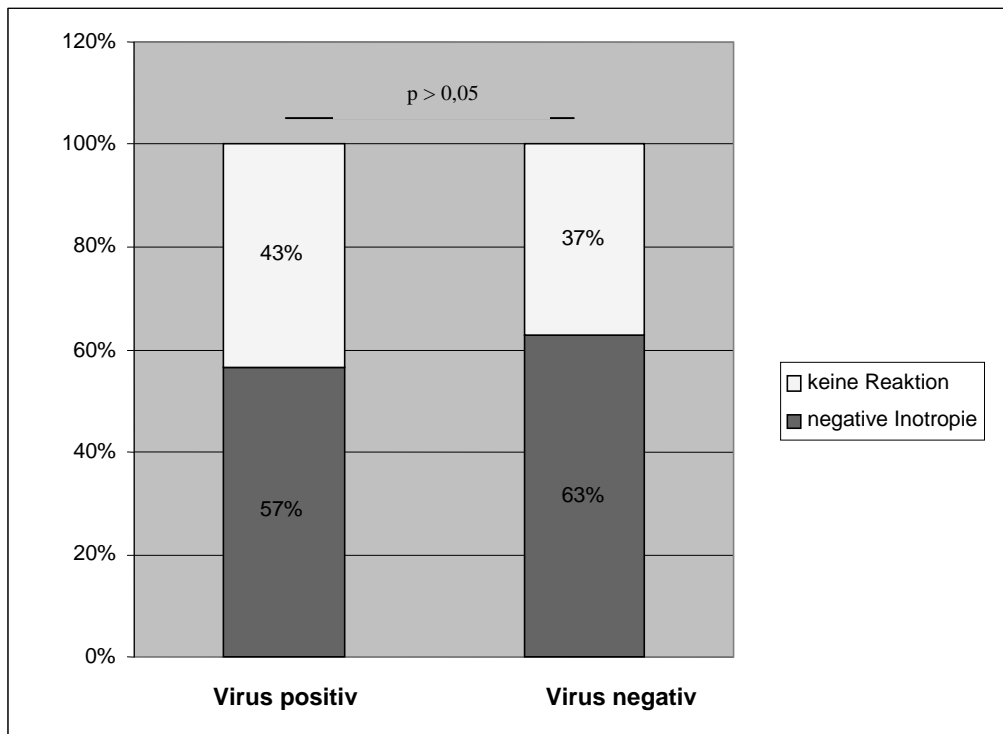


Abb. III. 2.6. Auswirkung einer Virusinfektion auf die Reaktion der Kardiomyozyten
Es scheint keinen signifikanten Unterschied bezüglich der negativ inotropen Wirkung von DCM-Plasma in Abhängigkeit von einer zum Messzeitpunkt vorhandenen Virusinfektion zu geben.

III.2.7. Inotropie in Abhängigkeit vom Inflammationsstatus

Neben dem Virusbefund lieferte die Myokardbiopsie bei 110 Patienten auch Aussagen zur entzündlichen Reaktion des Myokards. Bei 68 von ihnen konnte eine Inflammation festgestellt werden, während bei 42 Patienten keine Zeichen einer Entzündung angeführt worden sind.

65 % der Patienten mit einer dokumentierten Myokarditis bewirkten eine positive Reaktion der Zellen, bei 35 % von ihnen blieb dieser Effekt aus. Von den Patienten ohne nachgewiesene Inflammation zeigten 52 % eine negativ inotrope Wirkung gegenüber 48 % ohne Reaktion ($p > 0,05$ M+ vs. M-).

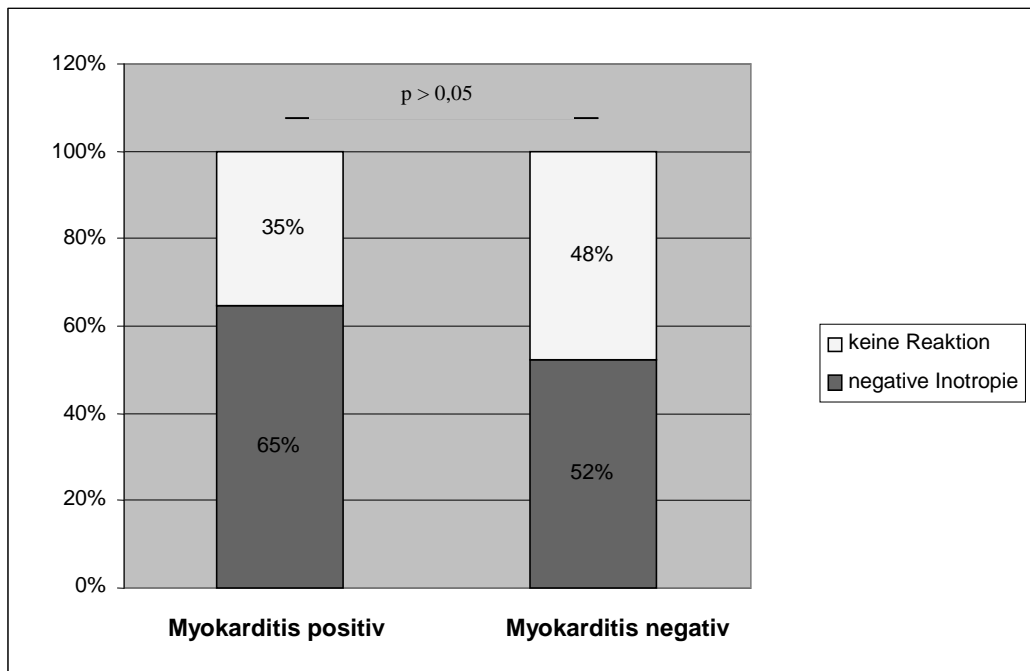


Abb. III.2.7. Auswirkung einer Myokarditis auf die Reaktion der Kardiomyozyten
Es scheint keinen signifikanten Zusammenhang bezüglich der negativ inotropen Wirkung von DCM-Plasma in Abhängigkeit von einer zum Messzeitpunkt bestehenden Myokarditis zu geben.

III.2.8. Inotropie bei Kombination von Infektions- und Inflammationsstatus

Durch die Aussagen der Myokardbiopsie über den Infektions- und Inflammationsstatus ließen sich die Befunde kombinieren, um einen möglichen Zusammenhang zwischen der jeweiligen Kombination und dem Messergebnis zu erkennen. Bei 33 Patienten war der Befund sowohl in Hinsicht auf eine Virusinfektion als auch auf eine entzündliche Reaktion positiv. Von ihnen bewirkten 64 % eine negativ inotrope Reaktion. 35 Patienten, bei denen eine Entzündung vorlag, ohne dass ein Virus nachweisbar war, lösten bei 66 % der Zellen eine Minderung der Kontraktilität und des Kalziumtransienten aus. Bei den Patienten, die zwar nicht unter einer Entzündung aber unter einer viralen Infektion litten, bewirkten nur 38 % von 16 Patienten einen sichtbaren Effekt, während die restlichen 63 % keine Wirkung auslösten. Die übrigen Betroffenen, denen weder eine Virusinfektion noch eine Myokarditis nachgewiesen werden konnte, reduzierten bei 60 % der Kardiomyozyten die Kontraktionsfähigkeit, 40 % blieben unbeeinflusst.

Im Vergleich der vier Gruppen untereinander konnte keiner Kombination der Befunde ein signifikanter Einfluss auf die Reaktion der Kardiomyozyten zugeschrieben werden ($p > 0,05$ V+M+ vs. V+M-; $p > 0,05$ V-M+ vs. V-M-; $p > 0,05$ M+V+ vs. M+V-; $p > 0,05$ M-V+ vs. M-V-; $p > 0,05$ V+/M+ vs. V+/M- vs. V-/M- vs. V-/M+).

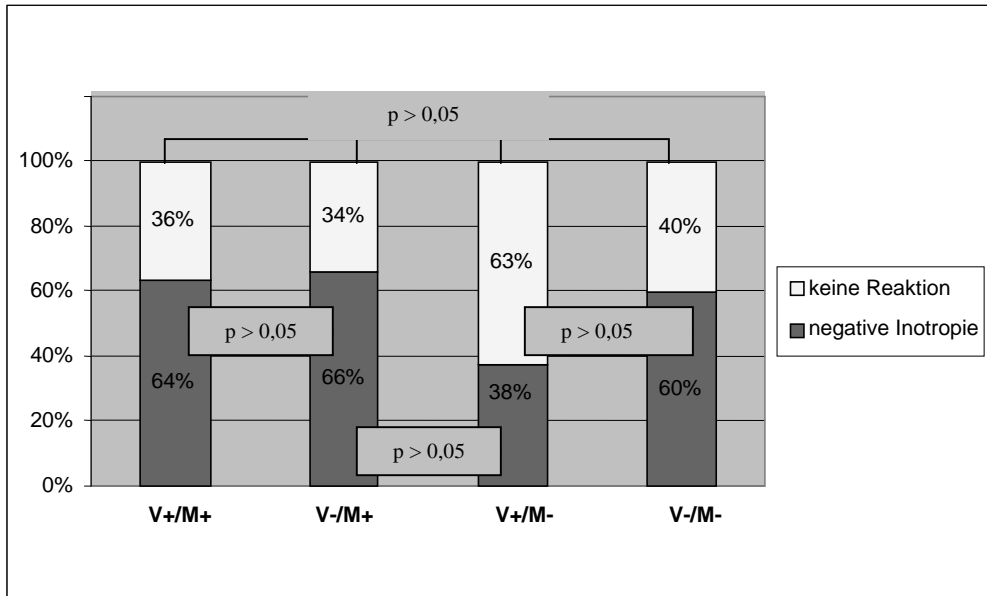


Abb. III.2.8. Auswirkung von kombiniertem Infektions- und Inflammationsstatus auf die Reaktion der Kardiomyozyten;
 Auch bei den Kombinationen von Infektion und Inflammation ist kein signifikanter Unterschied in der Wirkung des DCM-Plasmas auf die Kardiomyozyten ersichtlich.

IV DISKUSSION

IV.1. Dilatative Kardiomyopathie und negative Inotropie

Es wird bereits seit längerer Zeit angenommen, dass das Auftreten negativ inotrop wirkender Autoantikörper eine kardiodepressive Wirkung hervorruft und damit sowohl das Entstehen als auch die Progression einer Dilatativen Kardiomyopathie fördern kann (18, 35, 40, 45, 46, 49-61). Daraus haben sich neben der konservativen Therapie neue Behandlungsoptionen entwickelt (41-43, 47, 92-103), deren Wirksamkeit jedoch noch nicht optimiert werden konnte. Es war bisher nicht bei allen Patienten möglich, eine subjektiv empfundene sowie objektiv messbare Verbesserung der Krankheitssymptomatik zu erzielen. Ein Grund dafür scheint die nach wie vor nicht eindeutig geklärte Prozess der Krankheitsentstehung zu sein. In dieser Arbeit wird daher versucht, die Rolle der Autoantikörper bei der Pathogenese der DCM zu verdeutlichen.

Unter Einsatz einer modifizierten Langendorff-Anlage wurden hierfür Kardiomyozyten von adulten Wistar-Ratten aus dem Zellverbund gelöst und mit dem Plasma von DCM-Patienten in Kontakt gebracht. Mittels Fluoreszenzmikroskopie sind dadurch bedingte Veränderungen der Kontraktilität und des Kalzium-Transienten aufgezeichnet worden. Dabei ließ sich eindeutig ein kardiodepressiver Effekt des Plasmas auf die Funktionsfähigkeit der Kardiomyozyten nachweisen. 61 % der Kardiomyozyten reagierten auf das Patientenplasma mit einer Abnahme ihrer Kontraktilität und einer Reduktion des Kalzium-Transienten. Im Vergleich von männlichen und weiblichen Patienten zeigte sich ein Überwiegen der negativ inotropen Wirkung mit 67 % auf Seiten der Männer, während im Gegensatz dazu nur 46 % der Frauen diesen Effekt hervorriefen. Auch die Gegenüberstellung von Patienten unterschiedlichen Alters zeigte Unterschiede in der Kardiodepressivität. Verglichen wurden Patienten bis einschließlich 60 Jahren und Patienten über dem 60. Lebensjahr. In der jüngeren Altersgruppe resultierte in 60 % der Fälle eine Minderung der Kontraktionsfähigkeit, diese Beobachtung ließ sich hingegen nur bei 18 % der älteren Patienten machen. Auch die Berücksichtigung der Ejektionsfraktion zum Messzeitpunkt lieferte signifikante Unterschiede. Betrachtet man Patienten mit einer Pumpfunktion von unter 31 %, so bewirkte ihr Plasma bei nur 51 % der isolierten Herzmuskelzellen einen kardiodepressiven Effekt, während dies bei Patienten mit einer Pumpfunktion von mehr als 31 % in 71 % der Fälle zutraf. Ein weiterer Vergleich der

Krankheitsdauer zeigte hingegen keinen signifikanten Unterschied. So resultierte bei Patienten mit neu diagnostizierter DCM in 64 % der Messungen eine negativ inotrope Wirkung, bei Patienten mit einer Krankheitsdauer von bis zu einem halben Jahr ergaben sich 74 %, und bei denen seit mehr als 6 Monaten Erkrankten reagierten 54 % der Kardiomyozyten mit einer reduzierten Kontraktilität.

Die hier beobachtete Wirkung des Plasmas von DCM-Patienten ist bereits vorher schon beschrieben worden (40). Auf der Grundlage, dass Autoantikörper diesen Effekt bedingen, basieren viele der alternativen Therapiemethoden, wobei besonders die Ergebnisse der Immunadsorption diese Annahme noch weiter stützen. Die Arbeitsgruppe von Staudt et al. hat sich intensiv mit dieser Problematik beschäftigt und schon in vorangehenden Studien unter anderem sowohl die negativ inotrope Wirkung des Plasmas von Patienten mit DCM als auch des mit Hilfe der Immunadsorption gewonnenen Eluats von DCM-Patienten an isolierten Rattenkardiomyozyten nachweisen können (40, 100). Die Immunadsorption als Therapiealternative bei bislang nur konservativ behandelten DCM-Patienten führte zu einer subjektiven und objektiven Verbesserung der Krankheitssymptomatik (46, 47, 97-100), die sich auch schon in einigen Langzeitstudien bestätigen ließ (99, 101-103).

Der Einfluss klinischer Charakteristika wie Geschlecht, Alter, Krankheitsdauer und Ejektionsfraktion lässt sich aus verschiedener Sicht deuten. Frauen scheinen einen Vorteil im Formenkreis der kardiovaskulären Erkrankungen zu haben, dies spiegelt sich wiederholt in den epidemiologischen Daten wieder (5, 9). Die Bedeutung des Alters der Patienten zum Untersuchungszeitpunkt liegt möglicherweise in der Chronifizierung der Erkrankung mit zunehmendem Alter und einer entsprechenden Abnahme der inflammatorischen Aktivität. Die, wenn auch nur als Trend bewertbare, überwiegende Kardiodepressivität bei Patienten mit einer Erkrankungsdauer von bis zu einem halben Jahr lässt sich in ähnlicher Weise interpretieren. Unter Umständen reflektiert dies den bereits vorangeschrittenen, akut entzündlichen Prozess, während sich Patienten mit längerer Krankheitsgeschichte bereits im Stadium der Chronifizierung befinden. Die Ejektionsfraktion, welche bei den Patienten mit überwiegender negativ inotropen Wirkung höhere Werte erreichte als bei Patienten mit geringerer Kardiodepressivität, stützt ebenfalls diese Vermutung, denn auch sie spricht für den akuten entzündlichen Zustand zu Beginn der Erkrankung, dem somit möglicherweise die entscheidende Bedeutung für den weiteren Krankheitsverlauf zu Grunde liegt. Dies sind jedoch nur Vermutungen, die sich aus den Ergebnissen dieser Arbeit ergeben und der Bestätigung durch weitere Studien bedürfen.

IV.2. Negative Inotropie in Folge von Autoimmunität

Es gibt bereits zahlreiche Studien, welche darauf hinweisen, dass die Ursache für die Entstehung oder Progression der DCM in einer gestörten Immunantwort zu suchen ist. Etliche Autoantikörper mit mehr oder weniger großer Bedeutung für den Krankheitsverlauf konnten schon nachgewiesen werden (18, 49-60).

Dem β 1-Adrenorezeptor-Antikörper wird aufgrund seiner pathogenen Wirkung der bisher für die Krankheitsentwicklung größte Einfluss zugeschrieben. Der Arbeitsgruppe von Jahns et al. gelang es, ihn bei 25 % aller untersuchten DCM-Patienten nachzuweisen (50). In späteren Studien konnte dann gezeigt werden, dass durch diesen Autoantikörper die Funktionsfähigkeit von Kardiomyozyten beeinflusst werden kann (54). In diesem Zusammenhang wurden Ratten gegen den β 1-Adrenorezeptor immunisiert, woraufhin sie die entsprechenden Antikörper in Verbindung mit einer progredienten linksventrikulären Dysfunktion und Dilatation entwickelten. Die gleiche Symptomatik zeigte sich bei nicht immunisierten Tieren, denen die Antikörper injiziert worden waren. Magnusson et al. gelang es, die mit den Autoantikörpern verbundenen negativen Auswirkungen auf das kardiovaskuläre System aufzuzeigen (52). Sie nutzen die sowohl aus dem Blut von DCM-Patienten als auch von immunisierten Kaninchen gewonnenen Autoantikörper und setzten ihnen neonatale Ratten-Kardiomyozyten aus. In beiden Fällen resultierte zunächst eine Steigerung der Funktionsfähigkeit der Zellen, welche jedoch unphysiologisch lange anhielt, da unter pathologischen Bedingungen eine verzögerte Down-Regulation der β 1-Rezeptoren folgt und so eine Überstimulation des Myokards mit daraus resultierender Erschöpfung folgt. In einer früheren Studie war zudem die durch den β 1-Adrenorezeptor-Antikörper bedingte Überproduktion von cAMP und eine dadurch gesteigerte Aktivität der Proteinkinase A aufgezeigt worden (54). Staudt, Y. et al. stützten diese These durch den Nachweis einer erhöhten Apoptoserate von Kardiomyozyten durch Zugabe der Antikörper von zuvor immunisierten Tieren (55). Der Nachweis dieses Prozesses gelang durch die anschließende Blockade der cAMP-Proteinkinase-A-Signalkaskade mittels eines Proteinkinase-A-Inhibitors, woraufhin die apoptotische Reaktion ausblieb. Beinahe alle Studien bezüglich des β 1-Adrenorezeptor-Antikörpers scheinen sich in der Hinsicht einig zu sein, dass seine pathogenen Effekte durch eine selektive β 1-Blockade antagonisierbar sind. Neben ähnlichen Ergebnissen (53) beschrieb die Arbeitsgruppe von Wallukat et al. einen Autoantikörper gegen den muskarinen Acetylcholinrezeptor (51), welcher in der Lage ist, die positiv inotrope Wirkung von β 1-Agonisten zu mindern. Dies ließ sich an

isolierten Kardiomyozyten von Meerschweinchen beobachten, welche bei Antikörper-Kontakt mit einer Abnahme des Kalzium-Einstromes sowie einer Zunahme des Kalium-Ausstromes reagierten. Analog zum β 1-Adrenorezeptor-Antikörper ließen sich auch hier eine Dauerstimulation und verzögerte Down-Regulation der Rezeptoren nachweisen.

Weitere bereits bekannte Autoantigene sind die kardialen Myosin-Schwerketten sowie der ADP-ATP-Carrier. Zhaohui et al. gelang es, bei annähernd 50 % von DCM- und Myokarditis-Patienten Anti-Myosin-Antikörper nachzuweisen (58). Sie immunisierten zudem Mäuse gegen kardiales Myosin und konnten daraufhin pathologische Veränderungen wie myokardiale Nekrose und inflammatorische Infiltration verzeichnen. Zu ähnlichen Erkenntnissen gelangten auch Schulze et al. bei ihren Versuchen mit gegen den ADP-ATP-Carrier immunisierten Meerschweinchen (59). Die Tiere bildeten ebenfalls entsprechende Antikörper aus, und an den isolierten Herzen ließ sich eine Abnahme der Herzfunktion, bedingt durch den gestörten zellulären Energietransport, nachweisen.

Ein weiterer entscheidender Aspekt scheint der PD-1- (Phosphodiesterase-1) Status zu sein (56, 57). Bei Mäusen mit induzierter PD-1-Defizienz ließ sich echokardiographisch ein durch Dilatation der Ventrikel insgesamt stark vergrößertes Herz in Verbindung mit dünneren Herzwänden und reduzierter Pumpfunktion darstellen. Die betroffenen Tiere zeigten zudem eine gegenüber den Kontrolltieren ohne PD-1-Defizienz erhöhte Mortalitätsrate. Mit Hilfe von Immunfluoreszenzanalysen konnte weiterhin eine vermehrte IgG-Expression der PD-1-defizienten Mäuse nachgewiesen werden. Elektronenmikroskopisch zeigten sich von den Immunglobulinen umgebene Kardiomyozyten, so dass sich der Verdacht auf Autoantikörper stellte, welche gegen kardiomyozytäre Oberflächenproteine gerichtet sind. Im weiteren Verlauf ließ sich dann tatsächlich ein bestimmtes Protein ausfindig machen, welches später als Troponin I identifiziert werden konnte (57). Pathophysiologisch wird davon ausgegangen, dass durch Troponin-I-Antikörper eine chronischer Kalziumeinstrom in die Kardiomyozyten induziert wird und die kardiale Dysfunktion und Dilatation das Resultat chronischer kardiomyozytärer Erschöpfung darstellen (57).

Die Vielfalt kardiotroper Antikörper als mögliche Ursache für die Entwicklung der DCM ist groß, vielleicht werden kommende Studien weiteren Aufschluss über die Bedeutung und den Rang einzelner Autoantigene geben.

IV.3. Autoimmunität durch Infektion und Inflammation

Es existieren etliche Studien, welche darauf hinweisen, dass sowohl zwischen einer Infektion des Myokards mit kardiotropen Viren als auch einer chronischen Myokarditis und der Entstehung einer DCM ein Zusammenhang besteht (18, 19, 21-26, 28-32). Es gelang bereits mehrmals der Nachweis von Autoantikörpern, welche teils in den Metabolismus der Kardiomyozyten eingreifen sowie über eine Aktivierung des Immunsystems verstärkt Umbauprozesse auslösen oder die Apoptose von Herzmuskelzellen und damit eine Reduktion von kontraktilen Gewebe induzieren.

Dennoch ist der Entstehungsmechanismus dieser Autoantikörper nach wie vor nicht vollständig geklärt. Bislang existieren zwei Theorien, welche die pathogene Aktivität des Immunsystems bei der DCM erklären können. Dazu zählt einerseits die Viruspersistenz nach einer Infektion mit kardiotropen Viren, welche in vielen Fällen auch bei nicht nachweisbarer Viruslast vermutet wird und andererseits die Freisetzung intrazellulärer Proteine aus dem zerstörten Gewebe, welche als körperfremde Antigene angesehen werden (45). In früheren Studien haben sich bereits Hinweise dafür gezeigt, dass eine Übereinstimmung von Aminosäuresequenzen der Viren und kardialer Proteine möglich ist (45). So sind beispielsweise das Coxsackievirus B3 und kardiales Myosin in beinahe 40 % ihrer Aminosäuresequenzen übereinstimmend. Demzufolge kann eine Kreuzreaktion zwischen den Antikörpern, welche ursprünglich zur Eliminierung der eingedrungenen Viren vom Organismus gebildet worden sind und körpereigenen Strukturen, welche dem Virus ähneln, ausgelöst werden. Weiterhin werden durch die Aktivierung des Immunsystems sowohl Zytokin- als auch Perforin-vermittelte Lyseprozesse zur Entfernung der von den Viren befallenen Zellen induziert, wodurch Zellorganellen und Zellfragmente freigesetzt werden, welche sich durch antigene Eigenschaften auszeichnen und somit die Bildung von Antikörpern verursachen können (19). Aber auch wenn keine ursächliche virale Infektion vorliegt oder die Erkrankung derart fortgeschritten ist, dass sich kein Virus mehr nachweisen lässt, erfolgt durch die langanhaltend erhöhten Zytokinspiegel im Rahmen der inflammatorischen Reaktion die progrediente Zerstörung der Kardiomyozyten (61).

Um den Zusammenhang zwischen DCM und Virusinfektion oder Myokarditis eingehender betrachten zu können, sind unsere DCM-Patienten vor Beginn der Messungen einer endomyokardialen Biopsie unterzogen worden. Die aus der rechtsventrikulären Seite des Kammerseptums gewonnenen Proben wurden sowohl zur

histologischen Klassifizierung als auch zum Nachweis einer bestehenden Entzündung oder Virusinfektion genutzt. Dabei zeigte sich bei 45 % der Patienten eine Virusinfektion und bei 62 % eine Inflammation. Das Plasma der viruspositiven Patienten löste bei 57 % der Kardiomyozyten eine kardiodepressive Wirkung aus, im Gegensatz dazu reagierten jedoch 62 % der Zellen auch auf virusnegatives Patientenplasma. Von den Patienten mit einer Myokarditis bewirkten 65 % einen kardiodepressiven Effekt, während dies bei 52 % der myokarditisnegativen Patienten der Fall war. Beide Ergebnisse können zwar als Trend interpretiert werden, es war jedoch nicht möglich, einen signifikanten Zusammenhang zwischen der negativ inotropen Reaktion und dem jeweiligen Infektions- oder Inflammationsstatus darzustellen. Auch die nachträgliche Aufschlüsselung des Patientenkollektivs im Sinne der Kombination von Virus- und Myokarditisbefund konnte keine signifikante Beziehung zur Reaktion der Kardiomyozyten herstellen. Dabei zeigte sich lediglich erneut die Tendenz zur vermehrten negativen Inotropie bei inflammatorisch positiven und virusnegativen Patienten. Ob dies als Ausdruck der chronischen Entzündung des Myokards in Verbindung mit nicht mehr nachweisbarer Viruslast bei eventuell dennoch bestehender Viruspersistenz gedeutet werden kann, bleibt dabei offen.

Im Gegensatz zu unseren Ergebnissen ist es jedoch einigen Arbeitsgruppen gelungen, einen eindeutigen Zusammenhang zwischen Infektion oder Inflammation und DCM zu beschreiben. Nakamura et al. infizierten Mäuse mit dem Coxsackievirus B3 und beobachteten daraufhin die Symptome einer Myokarditis. Im Anschluss transplantierten sie den Tieren die Herzen gesunder Tiere und stellten erneut eine resultierende Myokarditis fest (24). Zusätzlich fiel ihnen in den transplantierten Herzen eine deutliche Erhöhung entzündlicher Zellen, eine Zunahme von ICAM-1 und MHC I/II-Antigenen sowie der Anstieg proinflammatorischer Zytokine auf (24). Obwohl im chronischen Stadium der primär viral ausgelösten Myokarditis kein Virus mehr nachweisbar war, folgte eine erneute Myokarditis der Transplantate, ein Hinweis dafür, dass trotz in vielen Fällen nicht mehr nachweisbarer Viruslast eine Viruspersistenz besteht, welche in der Lage ist, eine progrediente Schädigung des Myokards zu bewirken. Den Nachweis, dass auch im chronischen Stadium einer Myokarditis eine anhaltende inflammatorische Reaktion stattfindet, erbrachte die Arbeitsgruppe von Shioi et al. Auch sie induzierten mit Hilfe eines Virus eine Myokarditis und beschrieben noch im Stadium der postmyokardialen DCM erhöhte Zytokinspiegel (61). Im Verlauf der Chronifizierung beobachteten sie eine zunehmende Degeneration der Kardiomyozyten, die Entstehung zellulärer Infiltrate, eine sich ausbreitende Nekrotisierung und Fibrosierung mit letztendlich resultierender

Hypertrophie der Zellen. Gleichzeitig kam es zu einer stetig ansteigenden Expression von proinflammatorischem $\text{TNF-}\alpha$ und Interleukin- 1β als auch von immunregulierendem Interleukin-2 und Interferon- γ (61). $\text{TNF-}\alpha$ und Interleukin- 1β bewirken negativ inotrope Effekte an perfundierten Herzen, präparierten Papillarmuskeln und isolierten Kardiomyozyten. Insbesondere Interleukin- 1β übt eine starke Pathogenität über die Aktivierung von Fibroblasten und damit der Auslösung von Remodeling-Prozessen mit folgender Hypertrophie und dem Eingreifen in den myozytären Stoffwechsel aus (61).

Einen weiteren Hinweis für die wesentliche Bedeutung des Immunsystem in der Pathogenese der DCM lieferte eine Studie von Zwaka et al. Sie untersuchten die Endomyokardbiopsien von DCM-Patienten auf das Vorhandensein von IgG, $\text{TNF-}\alpha$ und den Membran-Angriffskomplex C5b9 des Komplementsystems (38). Alle drei Parameter waren in den Biopsien in erhöhter Anzahl nachweisbar. Es wurde außerdem die Wirkung von C5b9 auf isolierte Rattenkardiomyozyten untersucht. Dabei zeigte sich eine vermehrte Produktion und Freisetzung von $\text{TNF-}\alpha$ aus den Kardiomyozyten (38). Daraus ergab sich die Schlussfolgerung, dass bei der DCM verstärkt gebildetes IgG zu einer Aktivierung des Komplementsystems mit der Bildung des Terminalen-Membran-Angriffskomplexes C5b9 führt, welcher eine gesteigerte Produktion von $\text{TNF-}\alpha$ bedingt. $\text{TNF-}\alpha$ wiederum fördert die negative Inotropie, die Apoptose der Kardiomyozyten und dadurch die zunehmende kardiale Dysfunktion, welche letztendlich das Krankheitsbild der DCM bestimmt.

IV.4. Bedeutung neuer Therapiemethoden

Bisher ist die DCM entsprechend den Richtlinien der Herzinsuffizienztherapie in erster Linie konservativ behandelt worden (65-67). Obwohl durch die pharmakologische Standardtherapie eine Verbesserung der Krankheitssymptomatik erzielt werden kann, ist es dennoch oftmals nicht möglich, das Voranschreiten der Erkrankung auf lange Sicht zu verhindern. Nach wie vor stellt die Herztransplantation die letzte Therapieoption dar (88-90). Durch die Erkenntnisse aktueller Studien bezüglich der Ätiologie und Pathogenese der DCM ergeben sich jedoch neue Ansätze der Therapie, welche vor allem kausal in den Prozess der Krankheitsentstehung eingreifen sollen.

IV.4.1. Immunmodulatorische Therapien

IV.4.1.1. Antivirale Therapie

Bei vielen Patienten wird eine Infektion mit kardiotropen Viren als eigentliche Krankheitsursache angesehen. Sie vermag als Folge eine Myokarditis auszulösen, welche im Verlauf chronifizieren und den Übergang in eine DCM bedingen kann. Also erscheint es sinnvoll, eine Therapieform zu konzipieren, welche bereits im Stadium der Infektion eingreift. In diesem Zusammenhang existieren bereits Studien, welche sich sowohl mit der Wirkung von Interferon- β als auch von Interferon- γ beschäftigt haben.

Nach einem Therapieversuch mit Interferon- β konnte bei Patienten mit langjähriger linksventrikulärer Dysfunktion und nachgewiesener myokardialer Virusinfektion zum einen eine subjektiv empfundene und objektiv messbare Verbesserung der Leistungsfähigkeit verzeichnet und zum anderen auch eine immunhistologisch gesicherte Reduktion inflammatorischer Zellen aufgezeigt werden (94, 95).

Ähnlich bedeutsam scheint die Rolle von Interferon- γ zu sein. So wurde bei Interferon- γ -Defizienz ein deutlich ungünstigerer Verlauf bei virusindizierter Myokarditis beobachtet (104).

Dennoch fehlen nach wie vor weiterführende Studien, um die Effektivität dieser Therapiemöglichkeit zu untermauern.

IV.4.1.2. Immunglobulintherapie

Ein weiterer Versuch, direkt in die bei der DCM pathologische Immunreaktion einzugreifen, stellt die intravenöse Immunglobulin-Therapie (IVIG-Therapie) dar. In der Vergangenheit haben sich bereits einige Arbeitsgruppen mit dieser Therapieoption beschäftigt (92, 105, 106). Dabei ergaben sich jedoch wiederholt eher kontroverse Ergebnisse, so dass bisher nicht eindeutig geklärt werden konnte, ob und wem diese Behandlungsmethode nützt.

In Anlehnung an dokumentierte Erfolge bei anderen Autoimmunerkrankungen wurden DCM-Patienten in einigen Studien mittels intravenöser Immunglobulinapplikation behandelt. Anschließend konnte eine Zunahme der Ejektionsfraktion, begleitet von einer Verbesserung der Herzinsuffizienzsymptomatik, und der Anstieg anti-inflammatorischer Zytokine verzeichnet werden (92, 106). Dem gegenüber standen jedoch die Ergebnisse einer Placebo-kontrollierten Studie, welche, entgegen den gestellten Erwartungen, keinen signifikanten Hinweis auf die Wirksamkeit der IVIG-Therapie liefern konnte (105).

Um die Widersprüchlichkeit der Aussagen erklären zu können, folgten noch einige Re-Evaluationen der Studienergebnisse und Überprüfung möglicher ursächlicher Aspekte, welche jedoch ebenfalls nur kontroverse Schlussfolgerungen lieferten. Wesentliche Kritikpunkte stellen hierbei ein ungünstiges Studiendesign durch zu kleine Probandengruppen, zum Teil fehlende Kontrollprobanden und unterschiedliche Therapieschemata dar (107). Und so konnte auch eine weitere Auswertung, welche die Abhängigkeit der IVIG-Wirkung in Bezug zur vorgegangenen Krankheitsdauer setzte, letztendlich nicht wirklich von dieser Therapieform überzeugen (108).

IV.4.1.3. Immunsuppression

Die Annahme, dass eine überschießende Immunreaktion mit resultierender Autoantikörperbildung im Rahmen der Chronifizierung für den Krankheitsentstehungsprozess und -verlauf verantwortlich ist, machen sich die Prinzipien der immunsuppressiven Therapie zunutze.

Ähnlich wie bei der Immunglobulintherapie gab es auch hier in der Vergangenheit mehrfach widersprüchliche Aussagen hinsichtlich der Wirksamkeit (109). In aktuelleren Studien konnte jedoch gezeigt werden, dass es durchaus möglich ist, durch Immunsuppression die Herzinsuffizienzsymptomatik zu mindern, die hämodynamische Situation zu verbessern und die inflammatorische Reaktion abzuschwächen (93, 110-

112).Vorraussetzung ist jedoch, es gelingt, das Patientenkontinuum zu definieren, dem diese Art der Therapie nützen kann.

In diesem Sinne wurden beispielsweise in einer Placebo-kontrollierten Studie nur Patienten mit erhöhter HLA-Expression ausgewählt (93). Im Vergleich von Verum- und Placebo-Gruppe zeigten sich signifikante Unterschiede bezüglich einer Zunahme der Ejektionsfraktion und Abnahme der kardialen Dimensionen in der Verum-Gruppe, sowohl als Kurz- als auch Langzeiteffekt. Einen Nachteil dieser Therapieform stellt jedoch das breite Spektrum unerwünschter Wirkungen dar. So traten bei fast jedem zweiten Patienten dieser Studie Nebenwirkungen wie Gewichtszunahme und Hypertonie auf, wobei sich jedoch weitaus schwerwiegendere Langzeitauswirkungen wie etwa eine vermehrte Infektanfälligkeit und ein erhöhtes Osteoporose- oder Tumorrisiko noch gar nicht absehen lassen.

Ein weitere Studie überprüfte dann die Charakteristika von Respondern und Non-Respondern nach immunsuppressiver Therapie (110). Hierbei konnte dann festgestellt werden, dass ein Großteil der Responder über Autoantikörper verfügte, während im Gegensatz dazu die meisten Non-Responder an einer akuten Virusinfektion litten.

Der Versuch einer immunsuppressiven Therapie erscheint also durchaus sinnvoll, unter der Voraussetzung, das geeignete Patientenkollektiv abgrenzen zu können. Die bisherige Einteilung der Myokarditiden gemäß histopathologischer und klinischer Kriterien bietet sich dabei anscheinend nicht an (113). Es stellt sich vielmehr die Frage, ob Patienten ohne akute Infektion und mit bereits ausgebildeten Autoantikörpern im Sinne einer Chronifizierung des Krankheitsbildes von der Therapie profitieren, oder ob vielleicht die Differenzierung entsprechend dem vorliegenden HLA (Human Leukocyte Antigen) -Status von Nutzen sein kann.

Diese Möglichkeit der Unterteilung betroffener Patienten ist bereits erwogen worden (114-116).

So konnte also bei an DCM erkrankten Patienten eine im Vergleich zu gesunden Probanden signifikant erhöhte Expression von HLA-DR4, -DR5 und -DQ nachgewiesen werden (115).

Zudem war in den Myokardbiopsien von DCM-Patienten im Gegensatz zu den herangezogenen Kontrollgruppen ein stärkerer Anstieg inflammatorischer Zellen, darunter vor allem Makrophagen und T-Lymphozyten, sowie eine vermehrte HLA-I und -II-Expression im Sinne einer chronischen Entzündungsreaktion nachweisbar.

Hieraus ergab sich die Frage, ob eine Klassifizierung hinsichtlich immunhistologischer Aspekte eine sinnvolle Alternative der Diagnosestellung darstellen kann, da bei der bisher vorwiegend genutzten Evaluierung gemäß klinischer und histopathologischer Kriterien in Hinblick auf die Pathophysiologie der Erkrankung und daraus resultierende Therapieansätze bislang keine eindeutigen Aussagen hatten gemacht werden können.

So hatte sich in einer früheren Studie keine Korrelation zwischen der histopathologisch, entsprechend den Dallas-Kriterien, diagnostizierten Myokarditis und einer erhöhten HLA- und ICAM-I (Inter-Cellular Adhesion Molecule I) -Expression nachweisen lassen (116). Ebenso wenig schien ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Ejektionsfraktion und der inflammatorischen Aktivität zu bestehen.

An und für sich lässt sich in der vorliegenden Arbeit eine vergleichbare Schlussfolgerung vermuten. So ist es auch hier nicht gelungen, einen Bezug zwischen der negativ inotropen Wirkung eluierter Antikörper von DCM-Patienten auf Kardiomyozyten und dem individuell ermitteltem Infektions- oder Inflammationsstatus herzustellen. Ferner war auch zunächst keine sinnvolle Korrelation zwischen der beobachteten Reaktion und der zum Zeitpunkt der Probeentnahme bestehenden Ejektionsfraktion nachweisbar. Entgegen der initialen Vermutung zeigte sich eine signifikant stärkere negativ inotrope Reaktion bei Patienten mit (noch) guter Auswurfleistung als bei denen mit bereits hochgradig eingeschränkter Pumpfunktion. Dies wurde dann auf den mutmaßlich akuten Infektionsprozess zu Beginn der Erkrankung zurückgeführt, welcher im Verlauf chronifiziert und eine Abnahme der inflammatorischen Aktivität mit sich bringt.

Somit scheint also zumindest in Bezug auf die vorliegenden Untersuchungsergebnisse eine Bewertung der Immunhistologie im Rahmen der Diagnosestellung sinnvoll und eine weitere Prüfung dieser Option zur genaueren Spezifizierung des Patientenkollektivs und den resultierenden Therapieansätzen zumindest erwägenswert.

IV.4.2. Immunadsorption

Entgegen den verschiedenen Ansätzen der Immunmodulation, welche zum einen das Immunsystem zu unterstützen und zum anderen die pathologische Immunreaktion zu hemmen versuchen, ist es Aufgabe der Immunadsorptionstherapie (IA), die, im Rahmen der Erkrankung gebildeten Autoantikörper aus dem Patientenplasma zu entfernen.

In einer der ersten Studien zu dieser Therapiemöglichkeit (103) wurden DCM-Patienten mit im Plasma nachgewiesenen β 1-Autoantikörpern mittels Immunadsorption behandelt,

während in der Kontrollgruppe die medikamentöse Standardtherapie fortgeführt wurde. Es resultierten sowohl eine Verbesserung des subjektiven Wohlbefindens als auch der objektiv messbaren hämodynamischen Parameter. Parallel dazu zeigte sich eine Reduktion des Immunglobulinspiegels, speziell der β 1-Autoantikörper, um bis zu 93%, welcher auch im Rahmen der Verlaufskontrolle nach 1 Jahr nicht wieder anstieg.

In folgenden Studien, unter anderem auch der Arbeitsgruppe Staudt et al., welche sich über mehrere Jahre mit den Effekten der Autoantikörper und den Resultaten der Immunadsorption beschäftigte, konnten vergleichbare Ergebnisse in Hinblick auf deren Effektivität verzeichnet werden (42-44, 46, 47, 97-99, 100-102, 117, 118).

Hinsichtlich der verbesserten hämodynamischen Situation, welche vor allem durch die mittels Echokardiographie dargestellten veränderten kardialen Dimensionen sowie die Ejektionsfraktion gekennzeichnet ist, zeigte sich auch laborchemisch eine Reduktion der natriuretischen Hormone nt-ANP und nt-BNP, welche zudem als prognostische Parameter bei der Herzinsuffizienz verwendet werden (118).

Des Weiteren wurden die betroffenen Patienten auch in Hinblick auf die immunhistologischen Effekte dieser neuen Therapieoption untersucht (102). Dazu wurden erneut Patienten nach IA-Therapie und anschließender IgG-Substitution konventionell behandelten Patienten gegenübergestellt. Dabei unterzogen sich alle Teilnehmer der Studie einer Myokardbiopsie, um neben den histopathologischen Aspekten auch eine Charakterisierung entsprechend der vorhandenen inflammatorischen Zellen zu ermöglichen. Im Gegensatz zur konservativ therapierten Kontrollgruppe resultierte in der IA-Gruppe, neben der schon erwähnten verbesserten Hämodynamik, eine Abnahme der Entzündungszellen sowie die verminderte Expression von HLA-II-Antigenen, als Hinweis dafür, dass durch diese Form der Therapie nicht nur die mutmaßlich an der Krankheitsentstehung beteiligten Autoantikörper entfernt werden, sondern auch die inflammatorische Reaktion vermindert werden kann.

Im Rahmen späterer Studien wurde wiederholt die Wirkung der Antikörper aus dem Eluat von DCM-Patienten auf isolierte Ratten-Kardiomyozyten untersucht (41-44). Die dabei immer wieder beobachtete Abnahme der Kontraktilität und des Kalzium-Transienten zeigten wiederholt die kardiodepressive Wirkung der eliminierten Autoantikörper. Der Mechanismus, über den die negativ inotrope Wirkung vermittelt wird, war dabei jedoch lange unklar. Seit kurzem wird dem Fc-Fragment dieser Autoantikörper jedoch eine zentrale Bedeutung zugeschrieben (47). So konnten mittels Immunfluoreszenzmikroskopie sowohl

Fc-Rezeptoren auf isolierten Ratten-Kardiomyozyten nachgewiesen als auch ein Ausbleiben des negativ inotropen Effektes über deren Blockade beobachtet werden.

Entgegen der Annahme, dass vor allem β 1-Autoantikörper für den Krankheitsverlauf verantwortlich sind (50, 51, 53-55, 119), stellten dies andere Studien wiederum in Frage. So wiesen Mobini et al. (41) darauf hin, dass die mehrfach nachgewiesenen positiven Auswirkungen der Immunadsorptionstherapie nicht ausschließlich der Elimination dieses einen Autoantikörpers zugeschrieben werden kann. In ihrer Studie konnte bei IA-Patienten mit und ohne β 1-AAK sowohl eine kurzfristige als auch im weiteren Verlauf bestehende Besserung der Herzinsuffizienz verzeichnet werden. Vielmehr wurde an diesem Punkt erneut die Bedeutung der IgG-Substitution, welche im Rahmen der Immunadsorption erfolgt und, wie bereits erwähnt, auch bei der Immunglobulintherapie eine entscheidende Rolle spielt, erneut aufgeworfen.

Somit lassen sich die der Immunadsorption zu Grunde liegenden Mechanismen nach wie vor nicht eindeutig klären. Etliche kleine Studien haben versucht, die auf den Krankheitsverlauf positiven Auswirkungen darzustellen und zu erklären. Ob dabei die Elimination kardiotoxischer Autoantikörper, die initiierte Rückbildung der Inflammation oder gar die Korrektur einer im Rahmen der Erkrankung veränderten Expression myokardialer Gene, beispielsweise für cytoskeletale Proteine, welche bei der linksventrikulären Dysfunktion vermehrt exprimiert werden (117), die entscheidende Position einnimmt, bleibt noch zu klären. Auch ist es bislang nicht gelungen, bei allen DCM-Patienten eine Besserung der Herzinsuffizienzsymptomatik zu erreichen, noch immer existieren sogenannte Non-Responder, bei denen die Immunadsorption scheinbar keinen Effekt bewirkt. Im Rahmen von in-vitro-Versuchen ließ sich jedoch nachweisen, dass bei den Patienten, welche hämodynamisch von der IA profitiert haben, eine negativ inotrope Wirkung der aus dem Eluat gewonnenen und aufbereiteten Antikörper auf isolierte Ratten-Kardiomyozyten zu beobachten war. Somit stellt sich zum einen die Frage, ob bei den Non-Respondern möglicherweise gar nicht die vermuteten Autoantikörper die entscheidende Rolle im Krankheitsverlauf spielen, sondern ganz andere Faktoren der Pathogenese entscheidend sind.

In der vorliegenden Arbeit ist versucht worden, typische Charakteristika der Patienten auszumachen, um gegebenenfalls Rückschlüsse auf den Prozess der Krankheitsentstehung vorzunehmen und so individuelle Therapiekonzepte entwickeln zu können. Doch sowohl die Überprüfung bestehender Begleiterkrankungen als auch die Einteilung in Abhängigkeit von Infektionen mit kardiotropen Viren oder einer myokardialen Inflammation ergaben

keine signifikanten Ergebnisse. Einzig die zum Messzeitpunkt bestehende Ejektionsfraktion könnte als ein Marker hinsichtlich der Erfolgsaussichtsrates bei der Immunadsorption diskutiert werden. Darüber hinaus kann auch eine Einteilung des Patientenkollektivs hinsichtlich der Expression entzündlicher Antigene, wie bereits im Rahmen der immunsuppressiven Therapie versucht, erwogen werden.

Auch wenn durch die Immunadsorption bereits gute Resultate in einigen Fällen erzielt wurden, sind jedoch bisher zu wenige Patienten dieser Therapie unterzogen worden, um eine klare Aussage hinsichtlich der Effektivität treffen zu können. Es fehlen nach wie vor die Ergebnisse einer großen multizentrischen Studie, welche im Stande sind, die bisherigen Aussagen zu unterstützen. Möglicherweise ergeben sich dabei aufgrund des viel umfangreicheren Patientengutes neue Rückschlüsse auf die Ätiologie und Pathogenese der dilatativen Kardiomyopathie, welche eine Modifizierung bestehender und auch zukünftiger Therapieoptionen zur Folge haben können.

V ZUSAMMENFASSUNG

Die Dilatative Kardiomyopathie (DCM) ist nach der Koronaren Herzerkrankung die häufigste Ursache für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz. Dennoch bestehen nach wie vor Unklarheiten hinsichtlich der Ätiologie und Pathogenese. Neben den bereits bekannten Ursachen wie myokardialer Ischämie, Vitien, Stoffwechselerkrankungen und genetischen Defekten, scheinen auch Störungen des Immunsystems eine entscheidende Rolle zu spielen. Es existieren bereits zahlreiche Studien, welche einen Zusammenhang zwischen dem Krankheitsverlauf und einer Infektion mit kardiotropen Viren, einer daraus resultierenden überschießenden Immunantwort mit chronisch persistierender Inflammation und Ausbildung negativ inotrop wirkender Autoantikörper diskutieren. Ebenso vielfältig sind die sich daraus ergebenden alternativen Ansätze der antiviralen Therapie, Immunglobulintherapie, Immunsuppression und Immunadsorption, von denen es bislang jedoch keiner gelungen ist, sich langfristig durchzusetzen. Grund dafür ist die nach wie vor umstrittene Wirksamkeit dieser neuen Therapiemöglichkeiten sowie die Frage nach einer sinnvollen Charakterisierung des Patientenkollektivs außerhalb der bisher verwendeten klinischen Kriterien, welche sich in diesem Zusammenhang als ungeeignet erwiesen haben.

In der vorliegenden Arbeit wurde wiederholt versucht, den Effekt kardiotroper Antikörper auf die Funktion von Kardiomyozyten nachzuweisen und einen Zusammenhang zwischen der beobachteten negativ inotropen Wirkung und bestimmten klinischen Charakteristika der Patienten herzustellen. Zu diesem Zweck sind mit Hilfe einer modifizierten Langendorff-Anlage isolierte Ratten-Kardiomyozyten den, aus dem Plasma von DCM-Patienten gewonnenen, Antikörpern ausgesetzt worden. Mittels Fluoreszenzmikroskopie wurde anschließend die Reaktion in Hinblick auf eine Veränderung der Kontraktilität und des Kalziumtransienten der Zellen ermittelt. Unter Berücksichtigung klinischer Charakteristika, hämodynamischer Parameter und immunhistologischer Befunde der Patienten zum Zeitpunkt der Probeentnahme erfolgte dann die Auswertung in Bezug auf einen Zusammenhang zwischen den genannten Eigenschaften und der beobachteten Reaktion der isolierten Kardiomyozyten. Dabei zeigte sich der erwartete Unterschied zwischen DCM-Patienten und Kontrollen hinsichtlich einer überwiegend negativ inotropen Wirkung des DCM-Plasmas. Darüber hinaus ließ sich auch bei männlichen Patienten und bei Patienten mit nur leichtgradig eingeschränkter Pumpfunktion vermehrt ein kardiodepressiver Effekt verzeichnen. Die im Vordergrund stehende Frage nach der

Bedeutung des Infektions- und Inflammationsstatus konnte jedoch nicht eindeutig geklärt werden und scheint damit die Konzepte der alternativen Therapiemöglichkeiten in Frage zu stellen. Ob die möglicherweise die Ejektionsfraktion ein geeigneter Marker zur Einteilung der Patienten für die individuell am geeignetste Therapiemethode darstellt, oder ob die bereits zuvor schon erwogene Differenzierung hinsichtlich der exprimierten inflammatorischen Antigene eine weitere Möglichkeit sein kann, müssen folgende Untersuchungen erst noch zeigen.

VI QUELLENVERZEICHNIS

1. Report of the WHO/ISFC Task Force on the Definition and Classification of Cardiomyopathies. *Circulation*. 1996;93:841-842
2. Takeda N., Cardiomyopathy: Molecular and immunological aspects. *International Journal of Molecular Medicine*. 2003;11:13-16
3. Maron, B.J., Towbin, J.A., Thiene, G., Antzelevitch, C., Corrado, D., Arnett, D., Moss, A.J., Seidmann, C.E., Young, J.B et al., Contemporary Definitions and Classification of the Cardiomyopathies. *Circulation*. 2006, 113: 1807-1816
4. Osterziel, K.J., Scheffold, T., Perrot, A., Dietz, R., Genetik der Dilatativen Kardiomyopathie. *Z Kardiol*. 2001;90:461-469
5. Codd, M.B., Sugrue, D.D, Gersh, B.J., Melton, L.J., Epidemiology of Idiopathic Dilated and Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circulation*. 1989;80:564-572
6. Fatkin, D., Graham, R.M., Molecular Mechanisms of Inherited Cardiomyopathies. *Physiological Reviews*. 2002;82(4):945-980
7. Bilinska, Z.T., Michalak, E., Piatosa, B., Grzybowski, J., Skwarek, M., Deptuch, T.W., Kusmierczyk-Droszcz, B., Piotrowski, W., Ruzyllo, W., Familial dilated cardiomyopathy: evidence for clinical and immunogenetic heterogeneity. *Med Sci Monit*. 2003;9(5):CR219-226
8. Pankuweit, S., Ruppert, V., Maisch, B., Inflammation in Dilated Cardiomyopathy. *Herz*. 2004;29:788-93
9. Matsumori, A., Furukawa, Y., Hasegawa, K., Sato, Y., Nakagawa, H., Morikawa, Y., Miura, K., Ohno, Y., Tamakoshi, A., Inaba, Y., Sasayama, S., Epidemiologic and Clinical Characteristics of Cardiomyopathies in Japan. *Circ J*. 2002;66:323-336
10. Mogensen, J., Murphy, R.T., Shaw, T., Bahl, A., Redwood, C., Watkins, H., Burke, M., Elliot, P.M., McKenna, W.J., Severe Disease Expression of Cardiac Troponin C and T Mutations in Patients with Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004, 44(10): 2033-2040
11. Arbustini, E., Diegoli, M., Fasani, R., Grasso, M., Morbini, P., Banchieri, N., Bellini, O., Dal Bello, B., Pilotto, A., Magrini, G., Campana, C., Fortina, P.,

- Gavazzi, A., Narula, J., Viganò, M., Mitochondrial DNA Mutations and Mitochondrial Abnormalities in Dilated Cardiomyopathy. *Am J Pathol.* 1998;153:1501-1510
12. Towbin, J.A., Solaro, R.J., Genetics of Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology.* 2004, 44(10): 2041-2043
 13. Burkett, E.L., Hershberger, R.E. Clinical and Genetic Issues in Familial Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology.* 2005, 45(7): 969-981
 14. Mahon, N.G., Madden, B.P., Caforio, A.L.P., Elliott, P.M., Haven, A.J., Keogh, B.E., Davies, M.J., McKenna, W.J., Immunohistologic Evidence of Myocardial Disease in Apparently Healthy Relatives of Patients with Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology.* 2002, 39(3): 455-462
 15. Neglia, D., L'Abbate, A., Coronary microvascular dysfunction and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Pharmacological Reports.* 2005;57:151-155
 16. Nishi, I., Iida, K., Kawano, S., Masumi, T., Fumikura, Y., Ohtsuka, S., Watanabe, S., Yamaguchi, I., Effects of Anti-vasospastic Agents in Japanese Patients with Dilated Cardiomyopathy and Coronary Vasospasm. *Jpn Heart J.* 2002;43:333-342
 17. Bhakta, P., Biswas, B.K., Banerjee, B., Peripartum Cardiomyopathy: Review of the Literature. *Yonsei Med J.* 2007, 48(5)
 18. Maisch, B., Richter, A., Sandmüller, A., Portig, I., Pankuweit, S., Inflammatory Dilated Cardiomyopathy. *Herz.* 2005, 30: 535-544
 19. Pankuweit, S. et al., Inflammation in Dilated Cardiomyopathy. *Herz.* 2004, 29: 788-793
 20. Burian, J., Buser, P., Eriksson, U., Myocarditis : the Immunologist`s view on pathogenesis and treatment. *Swiss Medical Weekly.* 2005; 135: 359-364
 21. Naegeli, B., Myokarditis: Diagnostik und Verlauf. *Kardiovaskuläre Medizin.* 2004;7:248-257
 22. Kühl, U., Pauschinger, M., Bock, T., Klingel, K., Schwimmbeck, C.P.L., Seeberg, B., Krautwurm, L., Poller, W., Schultheiss, H.-P., Kandolf, R., Parvovirus B19 Infection Mimicking Acute Myocardial Infarction. *Circulation.* 2003;108:945

23. Jin, O., Sole, M.J., Butany, J.W., Chia, W.-K., McLaughlin, P.R., Liu, P., Liew, C.-C., Detection of Enterovirus RNA in Myocardial Biopsies from Patients with Myocarditis and Cardiomyopathy using Gene Amplification by Polymerase Chain Reaction. *Circulation*. 1990;82:8-16
24. Nakamura, H., Yamamura, T., Umemoto, S., Fukuta, S., Shioi, T., Matsumori, A., Sasayama, S., Matsuzaki, M., Autoimmune Response in Chronic Ongoing Myocarditis Demonstrated by Heterotopic Cardiac Transplantation in Mice. *Circulation*. 1996;94:3348-3354
25. Fujioka, S., Kitaura, Y., Ukimura, A., Deguchi, H., Kawamura, K., Isomura, T., Suma, H., Shimizu, A., et al., Evaluation of Viral Infection in the Myocardium of Patients with Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2000, 36(6): 1920-1926
26. Fujioka, S., Kitaura, Y., Deguchi, H., Shimizu, A., Isomura, T., Suma, H., Sabbah, H.N., Evidence of Viral Infection in the Myocardium of American and Japanese Patients with Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *American Journal of Cardiology*. 2004, 94: 602-605
27. Fujinami, R., Herrath, M.G., Christen, U., Whitton, J.L., Molecular mimicry, bystander activation or viral persistence: Infections and autoimmune disease. *Clinical Microbiology Reviews*. 2006; 80-94
28. Kühl, U., Pauschinger, M., Noutsias, M., Seeberg, B., Bock, T., Lassner, D., Poller, W., Kandolf, R., Schultheiss, H.-P., High Prevalence of Viral Genomes and Multiple Viral Infections in the Myocardium of Adults with "Idiopathic" Left Ventricular Dysfunction. *Circulation*. 2005;111:887-893
29. Noutsias, M., Fechner, H., de Jonge, H., Wang, X., Dekkers, D., Houtsmuller, A.B., Pauschinger, M., Bergelson, J., Warrach, R., Yacoub, M., Hetzer, R., Lamers, J., Schultheiss, H.-P., Poller, W., Human Coxsackie-adenovirus Receptor Is Colocalized With Integrins $\alpha_v\beta_3$ and $\alpha_v\beta_5$ on the Cardiomyocyte Sarcolemma and Upregulated in Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*. 2001; 104: 275-280
30. Yoshikawa, T., Ihira, M., Suzuki, K., Suga, S., Kito, H., Iwasaki, T., Kurata, T., Tanaka, T., Saito, Y., Asano, Y., Fatal acute myocarditis in an infant with human herpesvirus 6 infection. *J Clin Pathol*. 2001;54:792-795
31. Rohayem, J., Dinger, J., Fischer, R., Klingel, K., Kandolf, R., Rethwilm, A., Fatal Myocarditis Associated with Acute Parvovirus B 19 and Human

- Herpesvirus 6 Coinfection. *Journal of Clinical Microbiology*. 2001;39(12):4585-4587
32. Bowles, N.E., Rose, M.L., Taylor, P., Banner, N.R., Morgan-Capner, P., Cunningham, L., Archard, L.C., Yacoub, M.H., End-Stage Dilated Cardiomyopathy – Persistence of Enterovirus RNA in Myocardium at Cardiac Transplantation and Lack of Immune Response. *Circulation*. 1989;80:1128-1136
33. Magnani, J.W., Dec, G.W., Myocarditis: Current Trends in Diagnosis and Treatment. *Circulation*. 2006;113:876-890
34. Liu, P.P., Mason, J.W., Advances in the Understanding of Myocarditis. *Circulation*. 2001;104:1076-1082
35. Cooper, L.T., Baughmann, K.L., Feldmann, A.M., Frustaci, A., Jessup, M., Köhl, U., Levine, G.N., Narula, J., Starling, R.C., Towbin, J., Virmani, R., The Role of Endomyocardial Biopsy in the Management of Cardiovascular Disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007, 50(19): 1914-1931
36. Mahrholdt, H., Goedecke, C., Wagner, A., Meinhardt, G., Athanasiadis, A., Vogelsberg, H., Fritz, P., Klingel, K., Kandolf, R., Sechtem, U., Cardiovascular Magnetic resonance Assessment of Human Myocarditis. *Circulation*. 2004;109:1250-1258
37. Assomull, R.G., Prasad, S.K., Lyne, J., Smith, G., Burman, E.D., Khan, M., Sheppard, M.N., Poole-Wilson, P.A., Pennell, D.J., Cardiovascular Magnetic Resonance, Fibrosis and Prognosis in Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2006, 48(10): 1977-1985
38. Zwaka, T.P., Manolov, D., Özdemir, C., Marx, N., Kaya, Z., Kochs, M., Höher, M., Hombach, V., Torzewski, J., Complement and Dilated Cardiomyopathy. *American Journal of Pathology*. 2002;161:449-457
39. Eriksson, U., Penninger, J.M., Autoimmune heart failure: new understandings of pathogenesis. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2005, 37: 27-32
40. Staudt, Y., Trimpert, C., Birkenmeier, K., Krieg, T., Bemman, T., Beug, D., Felix, S.B., Staudt, A., Effects of autoantibodies obtained from patients with dilated cardiomyopathy on the function of isolated rat hearts. *European Journal of Clinical Investigation*. 2006; 36

41. Mobini, R., Staudt, A., Felix, S.B., Baumann, G., Wallukat, G., Deinum, J., Svensson, H., Hjalmarson, A., Fu, M., Hemodynamic improvement and removal of autoantibodies against β_1 -adrenergic receptor by immunoadsorption therapy in dilated cardiomyopathy. *Journal of Autoimmunity*. 2003;20:345-350
42. Felix, S.B. et al., Immunoabsorption as a new therapeutic principle for treatment of dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J Supplements*. 2002;4
43. Staudt, A., Staudt, Y., Dörr, M., Böhm, M., Knebel, F., Hummel, A., Wunderle, L., Tiburcy, M., Wernecke, K.D., Baumann, G., Felix, S.B., Potential Role of Autoimmunity in Cardiac Dysfunction of Patients suffering from Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004;44(4):829-836
44. Staudt, A., Böhm, M., Knebel, F., Grosse, Y., Bischoff, C., Hummel, A., Dahm, J.B., Borges, A., Jochmann, N., Wernecke, K.D., Wallukat, G., Baumann, G., Felix, S.B., Potential Role of Autoantibodies Belonging to the Immunoglobulin G-3 Subclass in Cardiac Dysfunction Among Patients with Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*. 2002; 106: 2448-2453
45. Kawai, C., From Myocarditis to Cardiomyopathy: Mechanisms of Inflammation and Cell Death. *Circulation*. 1999;99:1091-1100
46. Staudt, A., Felix, S.B., Immunoabsorption in dilated cardiomyopathy. *Transfusion and Apheresis Science*. 2007; 37: 187-190
47. Staudt, A., Eichler, P., Trimpert, C., Felix, S.B., Greinacher, A., $Fc\gamma$ -Receptors IIa on Cardiomyocytes and Their Potential Relevance in Dilated Cardiomyopathy. *Journal of the American College of Cardiology*. 2007, 49(16): 1684-1692
48. Felix, S., Dörr, M., Herda, L.R., Beug, D., Staudt, A., Immunoadsorption als Therapieverfahren der Dilatativen Kardiomyopathie. *Internist*. 2008; 49: 51-56
49. Fu, M., Matsui, S., Is cardiomyopathy an autoimmune disease? *Keio J Med*. 2002;51(4):208-212
50. Jahns, R., Boivin, V., Siegmund, C., Inselmann, G., Lohse, M.J., Boege, F., Autoantibodies Activating Human β_1 -Adrenergic Receptors are associated with Reduced Cardiac Function in Chronic Heart Failure. *Circulation*. 1999;99:649-654

51. Wallukat, G., Nissen, E., Morwinski, R., Müller, J., Autoantibodies against the Beta- and Muscarinic Receptors in Cardiomyopathy. *Herz*. 2000;25:261-266
52. Magnusson, Y., Wallukat, G., Waagstein, F., Hjalmarson, A., Hoebeke, J., Autoimmunity in Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*. 1994;89:2760-2767
53. Wallukat, G., The β -Adrenergic Receptor. *Herz*. 2002;27:683-690
54. Jahns, R., Boivin, V., Hein, L., Triebel, S., Angermann, C.E., Ertl, G., Lohse, M.J., Direct evidence for a β_1 -adrenergic receptor – directed autoimmune attack as a cause of idiopathic dilated cardiomyopathy. *J.Clin.Invest*. 2004;113:1419-1429
55. Staudt, Y., Mobini, R., Fu, M., Felix, S.B., Kühn, J.P., Staudt, A., β_1 -Adrenoceptor antibodies induce apoptosis in adult isolated cardiomyocytes. *European Journal of Pharmacology*. 2003;466:1-6
56. Nishimura, H., Okazaki, T., Tanaka, Y., Nakatani, K., Hara, M., Matsumori, A., Sasayama, S., Mizoguchi, A., Hiai, H., Minato, N., Honjo, T., Autoimmune Dilated Cardiomyopathy in PD-1 Receptor-Deficient Mice. *Science*. 2001 ; 291 : 319-322
57. Okazaki, T., Tanaka, Y., Nishio, R., Mitsuiye, T., Mizoguchi, A., Wang, J., Ishida, M., Hiai, H., Matsumori, A., Minato, N., Honjo, T., Autoantibodies Against Cardiac Troponin I Are Responsible For Dilated Cardiomyopathy in PD-1-Deficient Mice. *Nature Medicine*. 2003; 9(12): 1477-1483
58. Zhaohui, W., Yuhua, L., Jihua, D., Shuli, L., Jinping, W., Fu, M.L., Clinical significance and pathogenetic role of anti-cardiac myosin autoantibody in dilated cardiomyopathy. *Chin Med J*. 2003;116(4):499-502
59. Schulze, K. et al., Antibodies to ADP-ADP Carrier – an Autoantigen in Myocarditis and Dilated Cardiomyopathy – Impair Cardiac Function. *Circulation*. 1990;81:959-969
60. Limas, C.J., Cardiac Autoantibodies in Dilated Cardiomyopathy: A Pathogenetic Role? *Circulation*. 1997;95:1979-1980
61. Shioi, T., Matsumori, A., Sasayama, S., Persistent Expression of Cytokine in the Chronic Stage of Viral Myocarditis in Mice. *Circulation*. 1996;94:2930-2937

62. Rodeheffer, R.J., Measuring Plasma B-Type Natriuretic Peptide in Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2004, 44(4): 740-749
63. Why, H.J.F., Meany, B.T., Richardson, P.J., Olsen, E.G.J., Bowles, N.E., Cunningham, L., Freeke, C.A., Archard, L.C., Clinical and Prognostic Significance of Detection of Enteroviral RNA in the Myocardium of Patients with Myocarditis or Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*. 1994;89:2582-2589
64. Figulla, H.R., Rahlf, G., Nieger, M., Luig, H., Kreuzer, H., Spontaneous hemodynamic improvement or stabilization and associated biopsy findings in patients with congestive cardiomyopathy. *Circulation*. 1985;71(6):1095-1104
65. Bucceletti, F., Hermann, L., Acute Decompensated Heart Failure. *The Mount Sinai Journal of Medicine*. 2006;73(2):516-527
66. Hoppe, U.C., Böhm, M., Dietz, R., Hanrath, R., Kroemer, H.K., Osterspey, A., Schmaltz, A.A., Erdmann, E., Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. *Z Kardiol*. 2005, 94: 488-509
67. Hunt S.A., Baker D.W., Chin M.H., Cinquegrani M.P., Feldman A.M., Francis G.S., Graniats T.G., Goldstein S., Gregoratos G., Jessup M.L., Noble R.J., Packer M., Silver M.A., Stevenson L.W., Gibbons, R.J., Antman, E.M., Alpert, J.S., Faxon, D.P., Fuster, V., Gregoratos, G., Jacobs, A.K., Hiratzka, L.F., Russel, O.R., Smith, S.C. ACC/AHA guidelines for the evaluation and management of chronic heart failure in the adult: executive summary: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. *Circulation*. 2001; 104: 2996-3007
68. Konstam, M.A., Rousseau, M.F., Kronenberg, M.W., Udelson, J.E., Melin, J., Stewart, D., Dolan, N., Edens, T.R., Ahn, S., Kinan, D., Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on the long-term progression of left ventricular dysfunction in patients with heart failure. *Circulation*. 1992;86:431-438
69. Eichhorn, E.J., Bristow, M.R., Medical Therapy Can Improve the Biological Properties of the Chronically Failing Heart. *Circulation*. 1996;94:2285-2296
70. Greenberg, B., Quinones, M.A., Koipillai, C., Limacher, M., Shindler, D., Benedict, C., Shelton, B., Effects of Long-term Enalapril Therapy on Cardiac Structure and Function in Patients With Left Ventricular Dysfunction. *Circulation*. 1995;91:2573-2581

71. Jong, P., Demers, C., McKelvie, R.S., Liu, P.P., Angiotensin Receptor Blockers in Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002, 39(3): 463-470
72. Exner, D.V., Dries, D.L., Waclawiw, M.A., Shelton, B., Domanski, M.J., Beta-Adrenergic Blocking Agent Use and Mortality in Patients with Asymptomatic and Symptomatic Left Ventricular Systolic Dysfunction. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999, 33(4): 916-923
73. Hara, Y., Hamada, M., Shigematsu, Y., Ohtsuka, T., Ogimoto, A., Suzuki, J., Higaki, J., Effect of Beta-Blocker Therapy in Elderly Patients With Dilated Cardiomyopathy. *Circ J*. 2003;67:826-829
74. Waagstein, F., Caidahl, K., Wallentin, I., Bergh, C.H., Hjalmarson, A., Long-term beta-blockade in dilated cardiomyopathy. Effects of short- and long-term metoprolol treatment followed by withdrawal and readministration of metoprolol. *Circulation*. 1989;80:551-563
75. CIBIS Investigators and Committees, A randomized trial of beta-blockade in heart failure. The Cardiac Insufficiency Bisoprolol Study (CIBIS). *Circulation*. 1994;90:1765-1773
76. The RESOLVD Investigators, Effects of Metoprolol CR in Patients with Ischemic and Dilated Cradiomyopathy. The Randomized Evaluation of Strategies for Left Ventricular Dysfunction Pilot Study. *Circulation*. 2000;101:378-384
77. Okafor, C.C., Perreault-Micale, C., Hajjar, R.J., Lebeche, D., Skiroman, K., Jabbour, G., Doye, A.A., Lee, M.X., Laste, N., Gwathmey, J.K., Chronic treatment with Carvedilol improves ventricular function and reduces myocyte apoptosis in an animal model of heart failure. *BMC Physiology*. 2003;3:6, 10.1186/1472-6793-3-6
78. Azuma, A., Matsuo, A., Nakamura, T., Kawasaki, T., Yamamoto, K., Hyogo, M., Hirata, A., Hirasaki, S., shima, T., Sugihara, H., Kunishige, H., Kuribayashi, T., Nakagawa, M., Improved Survival of Idiopathic Dilated Cardiomyopathy in the 1990s. *Jpn Circ J*. 1999;63:333-338
79. Cicoira, M., Zanolla, L., Rossi, A., Golia, G., Franceschini, L., Brighetti, G., Marino, P., Zardini, P., Long-Term, Dose-Dependent Effects of Spironolactone on Left Ventricular Function and Exercise Toleransce in

- Patients with Chronic Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002, 40(2): 304-310
80. Hauptmann, P.J., Kelly, R.A., Cardiovascular Drugs – Digitalis. *Circulation*. 1999;99:1265-1270
81. Rahimtoola, S.H., Digitalis Therapy for Patients in Clinical Heart Failure. *Circulation*. 2004; 109:2942-2946
82. Gummert, J.F., Rahmel, A., Bucerius, J., Onnasch, J., Doll, N., Walther, T., Falk, V., Mohr, F.W., Mitral valve repair in patients with end stage cardiomyopathy: who benefits? *European Journal of Cardio-thoracic Surgery*. 2003; 23: 1017-1022
83. Sakamoto, S., Matsubara, J., Nagayoshi, Y., Nishizawa, H., Takeuchi, K., Nonaka, T., Clinical Evaluation of Combination Therapy for Biventricular Pacing after Cardiac Surgery in Patients with Intractable Heart Failure. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;11:408-12
84. Aizawa, Y., Chinushi, M., Washizuka, T., Indications for an Implantable Cardioverter Defibrillator. *Internal Medicine*. 2004;43:360-367
85. Bradley, D.J., Bradley, E.A., Baughmann, K.L., Berger, R.D., Calkins, H., Goodman, S.N., Kass, D.A., Powe, N.R., Cardiac Resynchronization and Death From Progressive Heart Failure. *Journal of the American Medical Association*. 2003, 289: 730-740
86. Bänsch, D., Antz, M., Boczor, S., Volkmer, M., Tebbenjohanns, J., Seidl, K., Block, M., Gietzen, F., Berger, J., Kuck, K.H., Primary Prevention of Sudden Cardiac Death in Idiopathic Dilated Cardiomyopathy: The Cardiomyopathy Trial (CAT). *Circulation*. 2002, 105: 1453-1458
87. Strickberger, S.A., Hummel, J.D., Bartlett, T.G., Frumin, H.I., Schuger, C.D., Beau, S.L., Bitar, C., Morady, F., et al., Amiodarone Versus Implantable Cardioverter-Defibrillator: Randomized Trial in Patients with Nonischemic Dilated Cardiomyopathy and Asymptomatic Nonsustained Ventricular Tachycardia-AMIOVIRT. *Journal of the American College of Cardiology*. 2003, 41(10): 1707-1712
88. Lamour, J.M., Addonizio, L.J., Galantowicz, M.E., Quaegebeur, J.M., Mancini, D.M., Kichuk, M.R., Beniaminovitz, A., Michler, R.E., Weinberg, A., Hsu, D.T., Outcome After Orthotopic Cardiac Transplantation in Adults with Congenital Heart Disease. *Circulation*. 1999;100(II):200-205

89. Bengel, F.M., Ueberfuhr, P., Schiepel, N., Nekolla, S.G., Reichart, B., schwaiger, M., Myocardial Efficiency and Sympathetic Reinnervation after Orthotopic Heart Transplantation. *Circulation*. 2001;103:1881-1886
90. Minami, K., v. Knyphausen, E., Niino, T., Blanz, U., Tenderich, G., Wlost, S., Meyer, H., Körfer, R., Long-term Results of Pediatric Heart Transplantation. *Ann Thorac Cardiovasc Surg*. 2005;11:386-390
91. Zafeiridis, A. et al.,Regression of Cellular Hypertrophy after Left Ventricular Assist Device Support. *Circulation*. 1998;98:656-662
92. Gullestad, L., Aass, H., Fjeld, J.G., Wikeby, L., Andreassen, A.K., Ihlen, H., Simonsen, S., Kjekshus, J., Nitter-Hauge, S., Ueland, T., Lien, E., Froland, S.S., Aukrust, P., Immunmodulating Therapy with Intravenous Immunglobulin in Patients with Chronic Heart Failure. *Circulation*. 2001;103:220
93. Wojnicz, R., Nowalany-Kozielska, E., Wojciechowska, C., Glanowska, G., Wilczewski, P., Niklewski, T., Zembala, M., Polonski, L., Rozek, M.M., Wodniecki, J., Randomized Placebo-Contolled Study for Immunosuppressive Treatment of Inflammatory Dilated Cardiomyopathy: Two-Year-Follow-Up Results. *Circulation*. 2001;104:39-45
94. Pauschinger, M., Noutsias, M., Kühl, U., Schultheiss, H.-P., Antivirale Therapie bei viraler Herzerkrankung. *Herz*. 2004;29:618-23
95. Kühl, U. et al., Interferon-beta-Treatment eliminates Cardiotropic Viruses and Improves Left Ventricular Function in Patientes with Myocardial Persistence of Viral Genomes and Left Ventricular Dysfunction. *Circulation*. 2003;107:2793
96. Maisch, B., Hufnagel, G., Kölsch, S., Funck, R., Richter, A., Rupp, H., Herzum, M., Pankuweit, S., Treatment of Inflammatory Dilated Cardiomyopathy and (Peri)Myocarditis with Immunosuppression and i.v. Immunoglobulins. *Herz*. 2004, 29: 624-636
97. Felix, S.B., Staudt, A., Non-specific immunoadsorption in patients with dilated cardiomyopathy: Mechanisms and clinical effects. *International Journal of Cardiology*. 2006, 112: 30-33
98. Staudt, A., Dörr, M., Staudt, Y., Böhm, M., Probst, M., Empen, K., Plötz, S., Maschke, H.E., Hummel, A., Baumann, G., Felix, S.B. et al., Role of

- immunoglobulin G3 subclass in dilated cardiomyopathy: Results from protein A immunoadsorption. *American Heart Journal*. 2005
99. Staudt, A., Hummel, A., Ruppert, J., Dörr, M., Trimpert, C., Birkenmeier, K., Krieg, K., Staudt, Y., Felix, S.B., Immunoadsorption in dilated cardiomyopathy: 6-month results from a randomized study. *American Heart Journal*. 2006
100. Felix, S.B., Staudt, A., Landsberger, M., Grosse, Y., Stangl, V., Spielhagen, T., Wallukat, G., Wernecke, K.D., Baumann, G., Stangl, K., Removal of Cardiodepressant Antibodies in Dilated Cardiomyopathy by immunoadsorption. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002, 39(4): 646-652
101. Knebel, F., Böhm, M., Staudt, A., Borges, A.C., Tepper, M., Jochmann, N., Wernecke, K.D., Felix, S.B., Baumann, G., Reduction of morbidity by immunoadsorption therapy in patients with dilated cardiomyopathy. *International Journal of Cardiology*. 2004, 97: 517-520
102. Staudt, A. et al., Immunohistological Changes in Dilated Cardiomyopathy Induced by Immunoadsorption Therapy and Subsequent Immunglobulin Substitution. *Circulation*. 2001;103:2681-2686
103. Müller, J., Wallukat, G., Dandel, M., Bieda, H., Brandes, K., Spiegelsberger, S., Nissen, E., Kunze, R., Hetzer, R., Immunglobulin Adsorption in Patients with Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*. 2000;101:385-391
104. Fairweather, D., Frisancho-Kiss, S., Yusing, S.A., Barrett, M.A., Davis, S.E., Gatewood, S.J.L., Njoku, D.B., Rose, N.R., Interferon- γ Protects against Chronic Viral Myocarditis by Reducing Mast Cell Degranulation, Fibrosis and the Profibrotic Cytokines Transforming Growth Factor- β_1 , Interleukin- 1β and Interleukin-4 in the Heart. *American Journal of Pathology*. 2004;165(6):1883-1894
105. McNamara, D.N., Holubkov, R., Starlin, R.C., Dec, G.W., Loh, E., Torre-Amione, G., Gass, A., Janosko, K., Tokarczyk, T., Kessler, P., Mann, D.L., Feldmann, A.M., Controlled Trial of Intravenous Immune Globuline in Recent-Onset Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*. 2001;103:2254-2259
106. McNamara, D.N., Rosenblum, W.D., Janosko, K.M., Trost, M.K., Villaneuva, F.S., Demetris, A.J., Murali, S., Feldman, A.M., Intravenous

- Immune Globulin in the Therapy of Myocarditis and Acute Cardiomyopathy. *Circulation*. 1997;95:2476
107. Robinson, J., Hartling, L., Crumley, E., Vandermeer, B., Klassen, T.P., A systematic review of intravenous gamma globulin for therapy of acute myocarditis. *BMC Cardiovascular Disorders*. 2005; 5: 12
108. Stanton, C., Mookadam, F., Cha, S., McNamara, D., Aukrust, P., Wojnicz, R., Bailey, K.R., Cooper, L.T., Greater symptom duration predicts response to immunomodulatory therapy in dilated cardiomyopathy. *International Journal of Cardiology*. 2007
109. Garg, A., Shiao, J., Guyatt, G., The Ineffectiveness of Immunosuppressive Therapy in Lymphocytic Myocarditis: An Overview. *Annals of Internal Medicine*. 1998;129(4):317-322
110. Frustraci, A., Chimenti, C., Calabrese, F., Pieroni, M., Thiene, G., Maseri, A., Immunosuppressive Therapy for Active Lymphocytic Myocarditis: Virological and Immunologic Profile of Responders vs. Nonresponders. *Circulation*. 2003;107:857-863
111. Noutsias, M., Pauschinger, M., Poller, W.-C., Schultheiss, H.-P., Kühl, U., Immunomodulatory treatment strategies in inflammatory cardiomyopathy: current status and future perspectives. *Expert review of cardiovascular therapy* 2004
112. Gagliardi, M.G., Bevilacqua, M., Bassano, C., Leonardi, B., Boldrini, R., Camassei, F.D., Fierabracci, A., Ugazio, A.G., Bottazzo, G.F., Long term follow up of children with myocarditis treated with immunosuppression and of children with dilated cardiomyopathy. *Heart*. 2004; 90: 1167-1171
113. Baughman, K.L., Diagnosis of Myocarditis: Death of Dallas Criteria. *Circulation*. 2006;113:593-595
114. Noutsias, M., Pauschinger, M., Schultheiss, H.-P., Kühl, U., Phenotypic characterization of infiltrates in dilated cardiomyopathy – diagnostic significance of T-lymphocytes and macrophages in inflammatory cardiomyopathy. *Medical Science Monitor*. 2002; 8(7): CR 478-487
115. Carlquist, J.F., Menlove, R.L., Murray, M.B., O'Connell, J., Anderson, J.L., HLA Class II (DR and DQ) Antigen Associations in Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Circulation*. 1991;83:515-522

116. Wojnicz, R., Nowalany-Kozielska, E., Wodniecki, J., Szczurek-Katanski, K., Nozynski, J., Zembala, M., Rozek, M.M., Immunohistological diagnosis of myocarditis. *European Heart Journal*. 1998;19:1564-1572
117. Kallwellis-Opara, A., Staudt, A., Trimpert, C., Noutsias, M., Kühl, U., Pauschinger, M., Schultheiss, H.-P., Grube, M., Böhm, M., Baumann, G., Völker, U., Kroemer, H.K., Felix, S.B., Immunoabsorption and subsequent immunoglobulin substitution decreases myocardial gene expression of desmin in dilated cardiomyopathy. *Journal of molecular medicine*. 2007; 1429-1435
118. Staudt, A., Staudt, Y., Hummel, A., Empen, K., Dörr, M., Trimpert, C., Birkenmeier, K., Kühl, U., Noutsias, M., Russ, D., Felix, S.B., Effect of immunoabsorption on the nt-BNP and nt-ANP plasma levels of patients suffering from dilated cardiomyopathy. *Therapeutic Apheresis and Dialysis*. 2006; 10(1): 42-48
119. Jane-Wit, D., Altuntas, C.Z., Johnson, J.M., Yong, S., Wickley, P.J., Clark, P., Wang, Q., Popvic, Z.B., Penn, M.S., Damron, D.S., Perez, D.M., Tuohy, V.K., β_1 -Adrenergic Receptor Autoantibodies Mediate Dilated Cardiomyopathy by Agonistically Inducing Cardiomyocyte Apoptosis. *Circulation*. 2007; 116: 399-410

VII ANHANG

VII.1 Eidesstattliche Erklärung

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

Die Dissertation ist bisher keiner anderen Fakultät vorgelegt worden.

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

Datum

Unterschrift

VII.2 Lebenslauf

Persönliche Informationen

Name	Franziska Wehr
Geburtstag	07.10.1981
Geburtsort	Eberswalde (Finow)
Nationalität	Deutsch
Familienstand	ledig

Schulische Ausbildung

1988-1990	Polytechnische Oberschule Sigmund Jähn
1990-1991	1.Gesamtschule Werner Seelenbinder
1991-1994	4.Gesamtschule Ernst Thälmann
1994-2001	Kreisliches Gymnasium Geschwister Scholl Abschluss: Allgemeine Hochschulreife (Note: 1,4)

Sprachen

Muttersprache	Deutsch
1. Fremdsprache	Englisch
2. Fremdsprache	Französisch
3. Fremdsprache	Latein

Studium

2001-2007	Medizinstudium an der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald Abschluss: Approbation (Note: 2,0)
-----------	---

Berufsausübung

Seit 01.01.2008	Assistenzärztin in der Kardiologie der Klinik für Innere Medizin B der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald
-----------------	---

VII.3 Danksagung

Ich danke Herrn Prof. S. Felix und Herrn OA Priv. Doz. A. Staudt für die Bereitstellung des Themas und der Möglichkeiten sowie für die unermüdliche Motivation.

Außerdem möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des kardiologischen Forschungslabors für die nette Zusammenarbeit und ständige Hilfe, welche auch trotz zusätzlicher Arbeit stets ohne Murren geleistet wurde, bedanken.

Ganz besonders danke ich meinen Eltern und Großeltern, welche mich während des Studiums und der Doktorarbeit immer wieder motiviert und unterstützt haben.