

Aus der Klinik für Innere Medizin B (Direktor: Prof. Dr. sc. med. S. Felix)
der Medizinischen Fakultät der Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

Thema: Immunhistologische Veränderungen unter einer
Immunadsorptionstherapie mit nachfolgender Immunglobulin-Substitution 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

vorgelegt von

Herrn Dipl. med. Michael Sachse
geb. am 18. Juli 1957

Dekan: Prof. Dr. sc. med. H. Krömer

Gutachter: 1. Prof. Dr. sc. med. G. Baumann (Berlin)
2. Prof. Dr. sc. med. K. Stangl (Berlin)
3. Prof. Dr. sc. med. H. Krömer (Greifswald)

eingereicht:

Datum der Promotion:

Inhalt

1. Einführung

- 1.1. Systematik der Kardiomyopathien und Epidemiologie der DCM
- 1.2. Symptomatik und Diagnostik der DCM
- 1.3. Therapie und Autoimmun-Pathogenese der DCM
- 1.4. Aufgabenstellung

2. Methodik

- 2.1. Patienten
- 2.2. Immunadsorptionstherapie
- 2.3. Immunhistochemie
- 2.4. Klinische Parameter
- 2.5. Statistik

3. Ergebnisse

- 3.1. Vergleich der Gruppen bei Untersuchungsbeginn
- 3.2. Vergleich der klinischen Ergebnisse nach der Therapie
- 3.3. β_1 -Rezeptor-Autoantikörper
- 3.4. Immunhistochemie
 - 3.4.1 Lymphozytenoberflächenantigene
 - 3.4.2 HLA-Expression
 - 3.4.3 Fibrosegrad

4. Diskussion

- 4.1. Therapeutische Effekte der Immunadsorption und Immunglobulin-Substitution
 - 4.1.1. Veränderungen der β_1 -Rezeptor-Autoantikörper und Wirkungen der Immunglobulin-Substitution
 - 4.1.2. Veränderungen der klinischen Symptomatik und linksventrikulären Funktion nach Immunadsorption und Immunglobulin-Substitution
 - 4.1.3. Histomorphologische Veränderungen durch Immunadsorption und Immunglobulin-Substitution
- 4.2. Immunadsorption und andere Therapieansätze

5. Zusammenfassung

6. Literatur

Anhang

Verzeichnis der Abbildungen

1. Zeitlicher Ablauf der IA
2. Flußschema der IA
3. Linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser der Patienten
4. Linksventrikuläre endsystolische Durchmesser der Patienten
5. Linksventrikuläre Ejektionsfraktionen der Patienten
6. NYHA-Schweregrade der Patienten
7. Autoantikörpertiter der Patienten
8. CD 3-positive Lymphozyten der Patienten
9. CD 4-positive Lymphozyten der Patienten
10. CD 8-positive Lymphozyten der Patienten
11. LCA-positive Leukozyten der Patienten
12. Immunhistochemischer Nachweis intensiver HLA-Expression vor IA
13. Immunhistochemischer Nachweis reduzierter HLA-Expression nach IA
14. HLA-Expression bei den Patienten
15. Histologischer Nachweis von Fibrose
16. Fibrosegrad bei den Patienten

Verzeichnis der Tabellen

1. Charakteristik der Patienten bei Untersuchungsbeginn
2. Charakteristik der Patienten nach drei Monaten
3. Autoantikörpertiter der IA-Gruppe
4. Autoantikörpertiter der Kontrollgruppe
5. Lymphozytenoberflächenantigene der IA-Gruppe
6. Lymphozytenoberflächenantigene der Kontrollgruppe
7. HLA-Expression bei der IA-Gruppe
8. HLA-Expression bei der Kontrollgruppe
9. Fibrosegrad bei der IA-Gruppe
10. Fibrosegrad bei der Kontrollgruppe

Verzeichnis der Abkürzungen

ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
cAMP	zyklisches Adenosinmonophosphat
CD	cluster of differentiation, d. h. differenzierte Zellgruppe mit gemeinsamen Merkmalen
DCM	dilatative Kardiomyopathie
HLA	human leucocyt antigen, genetisch determinierte Antigenstrukturen auf Zelloberflächen, auch MHC für major histocompatibility complex
IA	Immunadsorption
LCA	leucocyt common antigen, d.h. gemeinsames Leukozytenantigen, auch CD45
LVEDD	linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
LVESD	linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser
n.s.	nicht signifikant, d. h. $p > 0,05$
TNF	Tumornekrosefaktor
WHO/ISFC	World Health Organization / International Society and Federation of Cardiology

1. Einführung

1.1. Systematik der Kardiomyopathien und Epidemiologie der DCM

Bis 1996 wurden unter „primären Kardiomyopathien“ Erkrankungen unbekannter Ätiologie verstanden, die das Myokard betreffen ohne daß eine arterielle Hypertension, eine koronare Herzerkrankung, ein Vitium cordis, eine perikardiale oder vaskuläre Erkrankung vorliegt. Diese wurden von den „spezifischen Herzmuskelerkrankungen“ abgegrenzt.

Nach Festlegungen der neuen WHO / ISFC-Klassifikation wurde der Kardiomyopathie-Begriff erweitert. So werden als Kardiomyopathien Herzmuskelerkrankungen definiert, die durch eine kardiale Dysfunktion gekennzeichnet sind. Dabei werden entsprechend hämodynamischen Charakteristika dilatative (systolischer Pumpfehler), restriktive (Endomyokardfibrose mit diastolischer Compliancestörung), hypertrophe (Hypertrophie mit diastolischer Compliancestörung), arrhythmogene rechtsventrikuläre (überwiegend rechtsventrikuläre Pumpstörung mit ventrikulären Rhythmusstörungen) und nicht klassifizierbare Formen (z. B. atriale und rhythmogene Formen) unterschieden. Diese werden von spezifischen Kardiomyopathien abgegrenzt. Als spezifische Kardiomyopathien sind ischämische Kardiomyopathie (myokardiale Dysfunktion durch Remodeling), valvuläre Kardiomyopathie (die Funktionsstörung überschreitet die durch Vitien zu erwartende Dysfunktion), hypertensive Kardiomyopathie (Hypertrophie des linken Ventrikels mit Dilatation oder Restriktion und Herzinsuffizienz), inflammatorische Kardiomyopathie (durch akute oder chronische infektiöse, autoimmune oder idiopathische Myokarditis), metabolische, toxische, peripartale Kardiomyopathie und Kardiomyopathien bei muskulären (wie Muskeldystrophien, Myotonien), neuromuskulären (z. B. Friedreich´-Ataxie) und Systemerkrankungen des Bindegewebes (z. B. Lupus erythematodes, Rheumatoid-Arthritis u. a.) bekannt. Bei diesen Erkrankungen überschreitet das Ausmaß der kardialen Dysfunktion den Grad der durch die Ischämie, Klappenerkrankung, Hypertonie usw. zu erwartenden Funktionsstörung.

Die dilatative Kardiomyopathie (DCM) ist durch eine Dilatation und Kontraktilitätsstörung mit erhöhten Füllungsdrücken des linken oder beider Ventrikel gekennzeichnet. Es werden idiopathische, familiär-genetische, viral oder immunogene, alkoholische oder toxische Formen unterschieden (1).

Oft bleibt die Ursache der DCM unklar, histologische Befunde können unspezifisch sein.

Die Inzidenz der DCM beträgt 6 pro 100 000 Einwohner, die Prävalenz 36 pro 100 000 Einwohner. Es erkranken bevorzugt Männer mit einem Manifestationsalter von 20 bis 50 Jahren. Bei 5 bis 35% der Erkrankten finden sich familiäre Häufungen als Hinweis auf eine X-chromosomale als auch autosomal-dominante oder -rezessive Möglichkeit der Vererbung (2, 3).

Die Prognose der Erkrankung ist ernst, oft entwickeln sich progrediente Symptome der Herzinsuffizienz bis zum Pumpversagen und / oder bedrohliche Arrhythmien, die zum plötzlichen Herztod führen können. Die Fünfjahresmortalität beträgt bis zu 50% (4, 5, 6). Durch die zunehmende Lebenserwartung des Menschen und verbesserte Überlebenschancen nach Myokardinfarkt wird die Herzinsuffizienz als das bedeutende kardiologische Krankheitsbild des neuen Jahrhunderts angesehen (7, 8).

1.2. Symptomatik und Diagnostik der DCM

Die Symptomatik der Patienten mit einer DCM entwickelt sich aus der Unfähigkeit des Herzens, die in Ruhe und / oder bei Belastung nötigen Blutmengen zum Stoffwechsel von Geweben und Organen auszuwerfen oder im Rückfluß aufzunehmen. Diese weist je nach dem Grad der kardialen Funktionsstörung eine große Variabilität auf, so daß sowohl symptomarme Zustände als auch Patienten mit schwerster Beeinträchtigung beobachtet werden. Die Patienten zeigen in unterschiedlicher Ausprägung die Zeichen der Minderperfusion von Organen und / oder Stauungssymptome wie Atemnot, Ödeme, Leistungsinsuffizienz, Angina pectoris u. a. durch die erhöhte Wandspannung, gastrointestinale Beschwerden durch die Stauung, thromboembolische Komplikationen, Rhythmusstörungen und andere. Sowohl Anamnese als auch klinische Untersuchungsbefunde zeigen eine

geringe Sensitivität und Spezifität. Das heißt asymptotische Patienten können bedeutsame Einschränkungen der Pumpfunktion aufweisen (geringe Sensitivität). Ebenso können die genannten Symptome aus anderen Gründen auch bei normaler Herzfunktion vorliegen (geringe Spezifität).

Die hämodynamische Situation ist durch die erhöhten Füllungsdrücke bei links- oder biventrikulärer Dilatation mit erhöhten enddiastolischen und endsystolischen Volumina, meist vorhandener relativer Mitral- und Trikuspidalklappeninsuffizienz und vermindertem Herzminutenvolumen gekennzeichnet. Der Schweregrad der Herzinsuffizienz wird auf Empfehlung der New York Heart Association in vier Gruppen eingeteilt:

Beim Grad I besteht eine Herzerkrankung ohne Einschränkung der körperlichen Belastbarkeit. Die Schweregrade II und III sind durch geringe bzw. deutliche Einschränkungen der körperlichen Aktivität charakterisiert. Der Schweregrad IV ist durch Beschwerden in Ruhe mit erheblicher Steigerung der Symptomatik bei geringster körperlicher Belastung definiert (9).

Die Diagnostik der DCM umfaßt nach der Erhebung der Anamnese und körperlichen Untersuchung Laboruntersuchungen, Elektrokardiogramm, Röntgen des Thorax, eventuell nuklearmedizinische Methoden (Antimyosinantikörperszintigraphie) sowie neben invasiven Untersuchungen als nichtinvasive Screening-Methode die Echokardiographie.

Bei der Echokardiographie werden spezifische und nicht dilatative Kardiomyopathien ausgeschlossen, die Durchmesser der Herzhöhlen, Verkürzungs- und Ejektionsfraktionen bestimmt, Informationen zur diastolischen Funktion des linken Ventrikels gewonnen sowie Klappeninsuffizienzen und andere Komplikationen wie Ergüsse oder intrakavitäre Thromben erfaßt. Die linksventrikuläre Funktion sollte im apikalen Vier- und Zweikammerblick nach Simpson beurteilt werden, um Fehler durch regionale Kinetikstörungen und die Dilatation des Ventrikels zu vermeiden (10). Damit ergibt sich eine sehr gute Korrelation zum angiokardiographischen Befund (11).

Bei der invasiven Diagnostik der DCM (Rechtsherzkatheter, Linksherzkatheter) muß eine koronare Herzerkrankung ausgeschlossen und die Druck- und Widerstandswerte im kleinen und großen Kreislauf sowie Volumina bestimmt werden. Zur differentialdiagnostischen Abgrenzung zur Myokarditis und

immunhistochemischen Diagnostik der Ätiopathogenese ist eine Myokardbiopsie erforderlich. Die von Konno und Sakakibara 1962 eingeführte Technik wurde inzwischen weiterentwickelt und ist heute mit einer Komplikationsrate von 1 bis 2% verbunden, wobei ernste Komplikationen wie Ventrikelperforation mit Perikardtamponade unter 0,4% angegeben werden (12, 13).

Histomorphologisch zeigen sich dabei entzündliche Infiltrate mit oder ohne Myozytennekrosen sowie mit oder ohne Fibrose. Die diagnostische Sicherung erfolgt nach den DALLAS-Kriterien:

Die akute oder aktive Myokarditis ist durch Infiltrate, Myozytolysen und Ödeme gekennzeichnet. Die "Borderline-Myokarditis" zeigt geringe Lymphozyteninfiltrate ohne Zytolysen und verlangt eine Kontrollbiopsie. Die abheilende Myokarditis ist bei Kontrollbiopsien durch rückläufige Infiltration mit reparativen Fibrosen gekennzeichnet. Dabei werden Zytolysen als fakultativ angesehen. Bei chronischen Verläufen wird die Beurteilung erschwert, da vielfach lymphozytäre Infiltrate ohne Myozytennekrosen mit Zeichen der Myokarddegeneration und -fibrose beobachtet werden. Ursächlich treten diese Veränderungen bei chronischer Virusmyokarditis, autoimmunologischer Myokarditis wie auch bei Hochdruckherzen auf (14, 15).

Immunpathogenetische Mechanismen werden bei der DALLAS-Klassifikation nicht berücksichtigt. Die Sensitivität der Histologie wird eingeschränkt, wenn die infiltrativ-entzündlichen Veränderungen nur passager nachweisbar oder fokal zu beobachten sind.

1.3. Therapie und Autoimmun-Pathogenese der DCM

Die Behandlung der Patienten mit DCM erfolgt zunächst symptomatisch. Oft ist durch körperliche Schonung bei Kochsalz- und Flüssigkeitsrestriktion eine klinische Verbesserung zu erreichen. Die medikamentöse Therapie zur Beeinflussung der Lebensqualität erfolgt nach den Richtlinien zur Therapie der Herzinsuffizienz und besteht aus ACE-Hemmer bzw. AT I-Rezeptor-Antagonisten (alle NYHA-Stadien), ggfs. alternativ bei Unverträglichkeiten andere Vasodilantien (Nitrate, vasoselektive Kalziumantagonisten und Alphablocker),

Diuretika (ab Schweregrad II), Aldosteron-Antagonisten (ab Schweregrad III), Herzglykoside (ab Schweregrad III) und Betarezeptorenblockern (ab Schweregrad II) (16, 17).

Besonders die konsequente Therapie mit ACE-Hemmern und Betarezeptorenblockern führte in den vergangenen Jahren zu einer Verminderung der Progression und Reduktion der Mortalität (18, 19).

Zur Prävention des plötzlichen Herztodes bei DCM stehen bei symptomatischer Kammertachykardie oder Kammerflimmern mit Reanimation nach elektrophysiologischer Untersuchung implantierbare Defibrillatoren zur Verfügung. Diese sind in der Verbesserung der Prognose auch gegenüber der alternativen medikamentösen Therapie mit Amiodaron als Klasse-III-Antiarrhythmikum in Kombination mit Betablockern von Vorteil (20).

Neue Verfahren wie biventrikuläre Stimulation befinden sich in der Erprobung und sind nur bei einer kleinen Patientengruppe indiziert (21). Die chirurgischen Alternativen wie Herztransplantation, die Implantation von Assist-Systemen, dynamische Kardiomyoplastie und Ventrikelreduktionsplastik sind mit Risiken verbunden, z. T. nur befristet anwendbar und Langzeitergebnisse befriedigen aufgrund der hohen Komplikationen während des postoperativen Verlaufes nicht (22). Bei progredienter Pumpinsuffizienz und geplanter Herztransplantation ist zusätzlich der Zeitfaktor und Mangel an Spenderorganen zu berücksichtigen.

Grundlage einer kausalen Therapie der DCM stellt das pathophysiologische Konzept über einen Zusammenhanges zwischen einer Virusinfektion und einer autoreaktiven Kardiomyopathie dar :

Eine akute Myokarditis durch kardiotope Viren verläuft oft gutartig als Gewebsschädigung mit effektiver Eliminierung der Infektion aus dem Herzmuskel, Beseitigung der infizierten Zellen und viralen Proteine durch eine antimikrobielle Immunantwort mit zellulären und humoralen Mechanismen. Selten verläuft eine solche Infektion fulminant und mit letalem Ausgang bei schweren histologischen Veränderungen wie streifenförmigen Gruppenzellnekrosen, massivem interstitiellen Ödem des Myokards, mononukleären Infiltraten durch Lymphozyten und Makrophagen sowie Hämorrhagien (15). Bei einem Teil der Patienten entwickelt sich durch gestörte Immunregulation eine Autoimmunreaktion gegen das eigene Herz. Wesentlicher pathophysiologischer Mechanismus dürfte ein

sogenanntes antigenes Mimikry durch gemeinsame molekulare Strukturmerkmale von Virusproteinen und Zellbestandteilen sein. Nach anfänglicher Toleranz des Organismus wird eine Autoimmunreaktion hervorgerufen, wenn durch Zytokininduktion eine verstärkte HLA-Expression zur Antigenpräsentation führt (23).

Bei Patienten mit Myokarditis und DCM wurden verschiedene Störungen der humoralen und zellulären Immunität beschrieben (24). So wurden hohe Interleukin-2-Rezeptortiter als Maßstab für pathologische T-Lymphozyten-Aktivierung gefunden, die mit der Schwere der Erkrankung korrelierten (25). Im Rahmen gestörter Immunregulation werden als spezifische Reaktionen auch verschiedene kardiale Autoantikörper nachgewiesen:

Es handelt sich um Antikörper gegen das Sarkolemm (ASA), gegen das Myolemm (AMLA), gegen mitochondriale Proteine, kontraktile Proteine wie Aktin, Myosin und Tropomyosin, den Kalziumkanal, den ADP/ATP-Carrier sowie gegen den kardialen β_1 -Rezeptor und Acetylcholinrezeptor. Sie können im Immunfluoreszenztest in Herzmuskelbiopsaten oder kultivierten Herzmuskelzellen nachgewiesen werden (23, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33).

Die Bedeutung dieser Antikörper ist nicht vollständig aufgeklärt, teilweise wurde eine aktive Rolle in der Pathogenese der Kontraktilitätsstörung d. h. kardiodepressive Wirkungen nachgewiesen. Sie könnten aber auch lediglich Epiphänomen myokardialer Zelluntergänge sein (26, 29). Durch die Antikörper wird direkt die Funktionsfähigkeit der Kardiomyozyten beeinflusst.

Bei etwa 90% der Patienten mit Myokarditis und DCM wurden im Gegensatz zu Gesunden und Hypertonikern agonistisch wirkende Autoantikörper gegen den kardialen β_1 -Rezeptor nachgewiesen. Werden kultivierte neonatale Rattenmyozyten mit einer β_1 -Autoantikörper enthaltenden Immunglobulinfraktion von Patienten mit DCM inkubiert, wird ein positiv chronotroper Effekt als Steigerung der Pulsationsrate beobachtet. Dieser β -agonistische Effekt führt bei längerer Einwirkung nicht zu einer Desensibilisierung, d. h. die Myozyten werden durch die Autoantikörper anhaltend stimuliert. Dabei sind die Autoantikörper in der Lage, Peptidsequenzen an den drei extrazellulären Teilen des β_1 -adrenergen Rezeptors zu erkennen, indem zur Bindung überwiegend die zweite Schleife (second loop) benutzt wird. Die Wirkung der Autoantikörper ist pharmakologisch

zu beeinflussen. So heben die spezifischen β_1 -adrenergen Antagonisten Bisoprolol und Metoprolol und der β_1/β_2 -adrenerge Blocker Propranolol diese Wirkung im Gegensatz zu β_2 -adrenergen und α -adrenergen Antagonisten durch Verdrängung vom Rezeptor auf. In Anwesenheit β -adrenerg stimulierender Autoantikörper können β -adrenerge Agonisten wie Isoprenalin weder ihre volle Wirkung entfalten noch den Autoantikörper aus der Bindung verdrängen (31, 32, 33).

Andere Autoantikörper gegen den muskarinergen Rezeptor wurden bei 39% der Patienten mit DCM beobachtet und entwickeln pharmakologische Wirkungen wie der muskarinerge Agonist Carbachol. Sie führen im Tierexperiment zu negativ chronotropen Effekten, hemmen die Katecholamin-induzierte Erhöhung des „zweiten Boten“ cAMP und zeigen ebenso keine Desensibilisierung. Die Wirkung konnte durch Atropin aufgehoben werden. Tierexperimentell wurde durch die Autoantikörper neben der verminderten Herzfrequenz ein geringeres Schlagvolumen gemessen (30, 34).

Eine ähnliche Beeinträchtigung der Herzfunktion konnte durch Autoantikörper gegen das mitochondriale ADP/ATP-Translokatorprotein gezeigt werden, die bei 95% der Patienten mit DCM im Gegensatz zu anderen Kardiomyopathien oder Gesunden gefunden wurden. Diese führen zur Blockade des ATP-Transportes nach Phosphorylierung aus den Mitochondrien mit energetischer Verarmung des Myozyten und entsprechenden Folgen für die Kontraktilität. Die Wirkung der Autoantikörper kann durch die möglichen Kreuzreaktionen mit dem Kalziumkanal erweitert werden, da diese zum vermehrten Kalziumeinstrom führen. Damit wird in zweifacher Hinsicht die Kontraktilität beeinträchtigt und Progredienz der DCM fortschreiten (35, 36).

Bei anderen Patientengruppen wurden ebenso hohe Vorkommen von Autoantikörpern nachgewiesen, so bei Patienten mit „sekundärer DCM“ ca. 20% spezifische antimyolemmale Autoantikörper, bei „alkoholischer DCM“ ca. 60% antiinterfibrilläre Antikörper (37).

Neben vielfältigen Immunantworten auf verschiedene Antigene bestehen auch genetische Prädispositionen. So wurden in Familien mit gehäufter DCM bei etwa 20% der Angehörigen Autoantikörper gefunden, die echokardiographisch größere linksventrikuläre Diameter ohne klinische Symptome aufwiesen. Damit sind genetische Marker für ein höheres Erkrankungsrisiko gegeben (3, 27).

Daneben sind als Mediatoren der Immunvorgänge Zytokine (TNF- α , Interleukine u. a.) von entscheidender Bedeutung, die bei Patienten mit DCM in erhöhten Plasmaspiegeln gefunden wurden. Immunregulatorische Zytokine (z. B. Interleukine) führen unter Beteiligung von Makrophagen und T-Helferzellen zur T-Zell-Aktivierung und –Differenzierung mit nachfolgender Progression des entzündlichen Prozesses und Schädigung von Myozyten. Direkte proinflammatorische Wirkungen von Zytokinen (z. B. TNF- α) werden nach Stimulation durch mononukleäre Phagozyten beschrieben. Die Titer der Zytokine sowie Zytokinrezeptoren korrelieren mit der Schwere und Progredienz der Erkrankung (37, 38, 39, 40).

Die Immunhistochemie mit Darstellung monoklonaler Antikörper gegen Lymphozyten-Oberflächenantigene (CD 3, CD 4, CD 8 und LCA) ermöglicht, infiltrierende Zellen zu identifizieren, zu charakterisieren und quantifizieren. Immunologische Aktivität gegen Herzmuskelzellen wird durch den Nachweis starker HLA-Expression, von Adhäsionsmolekülen, Mediatoren sowie Komplementaktivierung dargestellt (33, 34). Es wird angestrebt, Grenzwerte und Standards für die Bewertung von solchen Infiltraten festzulegen, um eine sogenannte inflammatorische oder entzündliche Kardiomyopathie zu definieren. In normalem Myokard ohne immunologische Aktivität wird weniger als ein Lymphozyt pro Gesichtsfeld gefunden (Vergrößerung 1:400, Schichtdicke 5 μm). Bei aktiven myokardialen Entzündungsprozessen werden mehr als zwei CD 3-positive Zellen pro Gesichtsfeld (entsprechend 7 Zellen/ mm^2) bei gleichzeitig verstärkter Expression von Histokompatibilitätsantigenen und Vermehrung von Adhäsionsmolekülen an interstitiellen Zellen und Gefäßendothel gesehen (41, 42, 43, 44, 45).

Neue molekularbiologische Methoden wie in-situ-Hybridisierung und Polymerase-Kettenreaktion ermöglichen es, die Virusaktivität und Viruspersistenz durch Darstellung z.B. enteroviraler RNS oder DNS z.B. bei Zytomegalie-Infektionen im infizierten myokardialen Gewebe zu beweisen (46, 47, 48).

Damit wird die Differenzierung unterschiedlicher Verlaufsformen einer Myokarditis einschließlich postmyokarditischer DCM möglich und anzustreben sein :

Als postmyokarditische Herzmuskelerkrankung wird eine Myokarditis ohne autoimmunologischen Prozeß und ohne Viruspersistenz bezeichnet. Eine chronisch-virale Herzmuskelerkrankung liegt bei Viruspersistenz vor. Ein chronisch persistierender autoimmunologischer Prozeß mit Viruspersistenz wird als chronisch-persistierende Virusmyokarditis, ohne Viruspersistenz als chronisch autoimmune Virusmyokarditis bezeichnet (44, 45).

Im Verlauf dieser Erkrankungen kann sich eine DCM mit progredienter hämodynamischer Einschränkung und den Zeichen der Inflammation entwickeln.

Trotz Fortschritten der konventionellen Therapie der DCM ist die Prognose auch in heutiger Zeit ernst, so daß in den letzten Jahren alternative Behandlungsverfahren gesucht wurden. Neben den konservativ-medikamentösen Therapiemöglichkeiten bilden die Verlaufsformen Ansätze für immunmodulatorische Behandlung (49, 50, 51, 52).

Als neuer Therapieansatz verfolgt die Immunadsorption (IA) die Entfernung der Autoantikörper gegen myokardiale Strukturen, die bei den Patienten mit DCM beobachtet wurden. Es wird davon ausgegangen, daß unter anderem die Entfernung der Autoantikörper die kardiodepressive Wirkung aufhebt und auf diesem Weg eine Verbesserung der Pumpfunktion zu erreichen ist.

Bei vergleichbarer Autoimmun-Pathogenese beim Goodpasture-Syndrom (53), Lupus erythematodes visceralis (54, 55), bei Myasthenia gravis (56) und anderen Erkrankungen wie familiärer Hypercholesterolämie (57) konnten so positive klinische Effekte erreicht werden. Dabei werden antiglomeruläre Basalmembran-Antikörper bzw. anti-dsDNS-Antikörper, anti-Acetylcholin-Antikörper an entsprechende Antikörper bzw. die LDL-Fraktion des Cholesterol mit Hilfe von polyklonalen Apo-Lipoprotein-Antikörpern an Sepharose gebunden und so entfernt.

In einer Pilotstudie zur IA bei Patienten mit DCM sind positive hämodynamische Effekte nachgewiesen worden, die auf eine Entfernung kardiotoxischer Autoantikörper zurückgeführt wurden. Bei allen behandelten Patienten wurde ein Abfall des β_1 -Rezeptor-Autoantikörper-Titers und Verbesserung der klinischen Symptomatik um einen NYHA-Schweregrad dokumentiert. Die Verbesserung der Pumpfunktion konnte durch hämodynamische Messungen mit einem Anstieg des linksventrikulären Schlagvolumens und Abfall des pulmonal-arteriellen Druckes

bestätigt werden (58, 59). Eine nachfolgende randomisiert-kontrollierte Studie mit 17 Patienten mit DCM und linksventrikulärer Ejektionsfraktion unter 30% der NYHA-Gruppe III und IV zeigte im Gegensatz zu einer vergleichbaren Kontrollgruppe einen signifikanten Anstieg des Herzindex, Schlagvolumenindex sowie Abfall des systemvaskulären Widerstandes im Vergleich zur unbehandelten Kontrollgruppe, die die gleiche übliche Medikation erhielt. Bei den Patienten gelang es nach IA an drei aufeinanderfolgenden Tagen den Immunglobulin G-Spiegel um 70 bis 80% zu senken. Danach erfolgte die Substitution mit einem polyklonalen Immunglobulin. Durch vier Behandlungszyklen mit anfangs drei, dann zwei Immunadsorptionen im Abstand von drei Monaten konnte gezeigt werden, daß die Entfernung kardiotoxischer Antikörper durch Immunadsorption mit nachfolgender Immunglobulin-Substitution zu einer anhaltenden Verbesserung der hämodynamischen Situation dieser Patienten führt. Durch die IA wurden keine Änderungen der Rheologie des Blutes (Viskosität von Blut und Plasma, Hämatokrit und Fibrinogen) beobachtet. Die in der behandelten und Kontrollgruppe bestimmten Zytokin- und Zytokinrezeptor-Spiegel zeigten ebenso keine signifikanten Veränderungen durch die IA oder im Krankheitsverlauf von drei Monaten. Diese Befunde könnten als ein Hinweis auf die Bedeutung der antimyokardialen Antikörper für die gestörte Pumpfunktion bei der Pathogenese der DCM angesehen werden (60, 61).

1.4. Aufgabenstellung

In der vorliegenden Arbeit sollen immunhistologische Befunde und β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertiter von Patienten mit DCM vor und nach IA erhoben und interpretiert werden. Diese werden mit Befunden von Patienten mit DCM verglichen, die ausschließlich medikamentös behandelt werden. Die Veränderungen über einen Beobachtungszeitraum von drei Monaten sollen mit den Änderungen der linksventrikulären Pumpfunktion anhand der echokardiographischen Befunde und klinischen Symptomatik verglichen werden. Dabei sollen folgende Fragen beantwortet werden:

Welche Veränderungen des autoimmunologischen Prozesses bei Patienten mit DCM lassen sich immunhistologisch sowie bei den β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertitern nachweisen?

Welche Zusammenhänge bestehen zwischen Veränderungen der linksventrikulären Funktion, klinischen Symptomatik und dem autoimmunologischen Prozeß?

Welche Veränderungen werden innerhalb von drei Monaten bei Patienten mit medikamentöser Therapie beobachtet ?

2. Methodik

2.1. Patienten

Es wurden 25 Patienten mit DCM in die Beobachtung einbezogen, die eine schwer eingeschränkte linksventrikuläre Pumpfunktion mit pathologischen systolischen und diastolischen Diametern aufwiesen. Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion sämtlicher Patienten lag unter 30%. Diese wurde mittels Angiokardiographie bzw. echokardiographisch bestimmt. Alle Patienten zeigten einen positiven β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertiternachweis und Hinweise für aktive myokardiale Entzündungsvorgänge (Lymphozyten $> 2,4$ Zellen / mm^2).

Die klinische Symptomatik der Patienten entsprach einer schweren therapieresistenten chronischen Herzinsuffizienz der NYHA-Stadien III und IV. Das durchschnittliche Alter der Patienten betrug 49,6 Jahre, die Krankheitsdauer im Mittel 3,9 Jahre.

Ausschlußkriterien der Studie bestanden in chronischem Alkoholismus, Tumorerkrankungen, Infektionskrankheiten, Herzinsuffizienz auf dem Boden anderer Erkrankungen (koronare oder hypertensive Herzkrankheit, hämodynamisch bedeutsames Vitium) und fehlendes Einverständnis der Patienten. Sämtliche Patienten standen im beobachteten Zeitraum unter einer maximalen oralen medikamentösen Therapie mit Digitalis, Diuretikum, ACE-Hemmer bzw. AT1-Rezeptorantagonisten. Zwölf Patienten erhielten Nitrate. Sechzehn Patienten

wurden mit Betablockern behandelt, die Dosierung wurde in den zurückliegenden sechs Monaten vor Studienbeginn nicht verändert. Bei allen Patienten bestand eine stabile Medikation über mindestens drei Monate vor Studienbeginn. Es bestanden keine Unterschiede in der Medikation der Gruppen. Neben der üblichen medikamentösen Therapie wurde bei zwölf Patienten eine Immunadsorption mit Substitution von Immunglobulinen durchgeführt, die bei den dreizehn Patienten der Kontrollgruppe nicht stattfand.

Bei allen Patienten wurden vor Studienbeginn (innerhalb von sieben Tagen) und nach drei Monaten mehrere (fünf bis maximal acht) rechtsventrikulär-septale Endomyokardbiopsien durchgeführt.

Bei Ende der Behandlungs- bzw. Beobachtungszeit wurde erneut die klinische Symptomatik der Patienten untersucht.

Die Randomisierung erfolgte nach dem Einschluß der Patienten in die Studie (closed-label).

2.2. Immunadsorptionstherapie

Nach Abschluß der Voruntersuchungen wurden die Patienten zur Immunadsorptionstherapie auf eine Intensivtherapiestation der Medizinischen Klinik und Poliklinik der Charité Schwerpunkt Kardiologie, Angiologie, Pneumologie aufgenommen und für die Behandlungszeit immobilisiert. Es wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen (ab zweite Sitzung an zwei Tagen) im Abstand von vier Wochen über drei Monate eine Immunadsorption mit nachfolgender Immunglobulin-Substitution durchgeführt.

Der zeitliche Ablauf der Studie in der Gruppe mit IA und Immunglobulin-Substitution wird in folgendem Diagramm dargestellt.

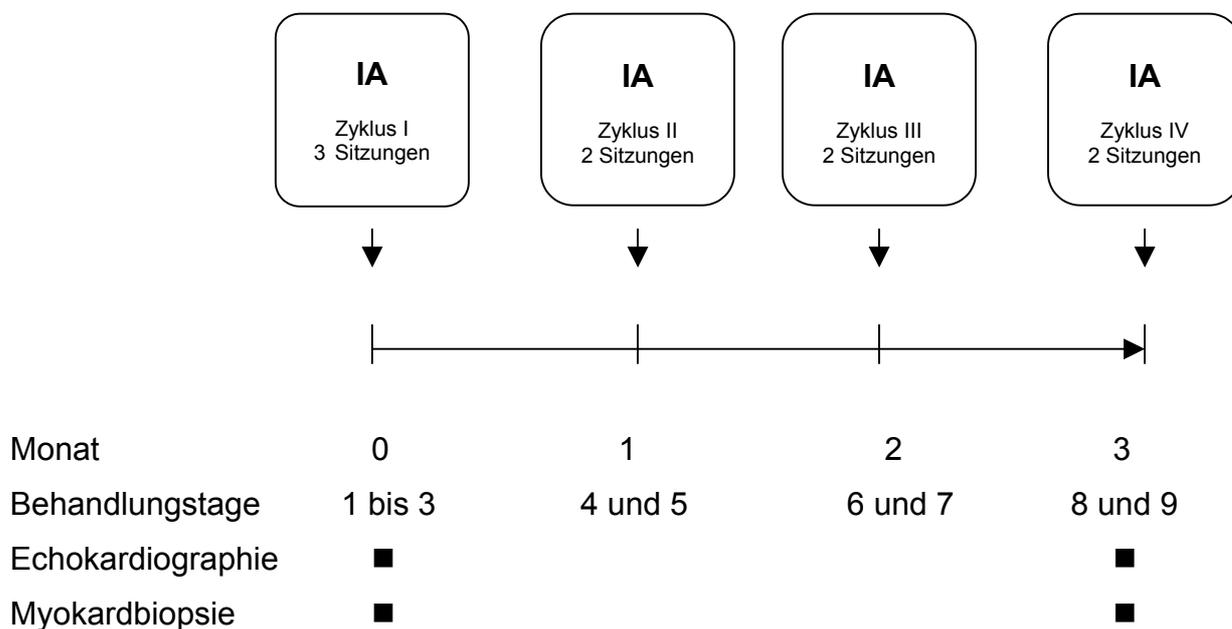
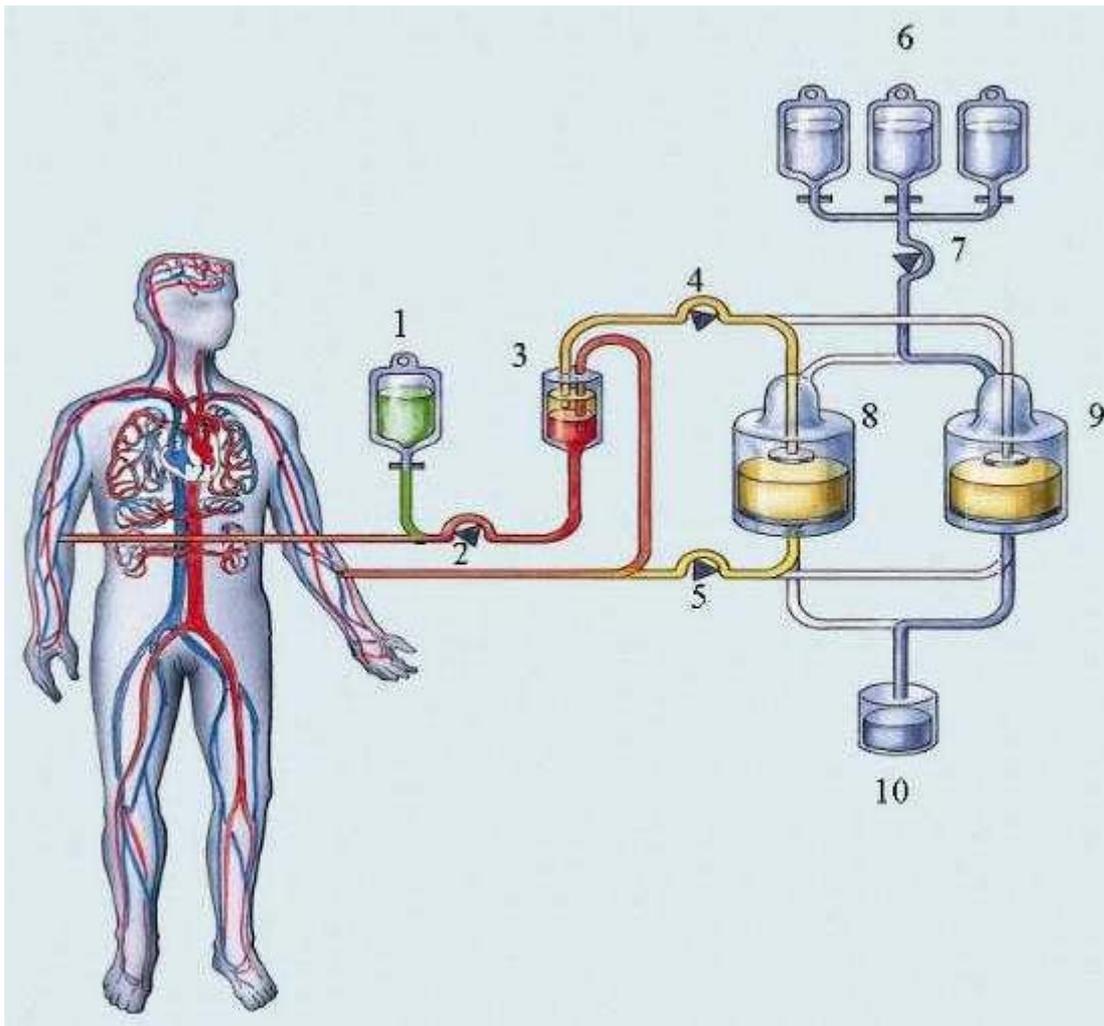


Abb. 1: Zeitlicher Ablauf der Immunadsorption

Zur Immunadsorption wurde ein Adsorber Ig Therasorb der Fa. Baxter (München, Deutschland) und ein Plasma-Filter Hemaplex-BT 900/B der Fa. Dideco (Mirandola, Italien) sowie ein Dialysesystem der Fa. Mirosoorb Dialyse Technik (Ettlingen, Deutschland) verwendet. Die Flußrate des Plasmas betrug 30 ml / min über die Immunadsorptionssäule. In diesen Säulen befand sich der Fc-gekoppelte polyklonale Antikörper gegen humanes Immunglobulin. Danach erfolgte die Reinfusion des Serums. Die Patienten wurden intravenös heparinisiert.

Der Behandlung soll in folgendem Flußschema verdeutlicht werden.



- | | |
|---------|----------------------------------|
| 1 | Antikoagulantienzusatz |
| 2 | Blutpumpe |
| 3 | Plasmafilter |
| 4 und 5 | Plasmapumpen |
| 6 | Zusätze (NaCl, HCl, Glycin u.a.) |
| 7 | Spülpumpe |
| 8 und 9 | Therasorb –Adsorbersäulen |
| 10 | Abfall |

Die bei der Immunadsorption abfallenden Immunglobulin G-Spiegel im Patientenserum wurden nachfolgend substituiert mit 0,5g / kg Körpergewicht durch polyklonales Immunglobulin Venimmun® der Fa. Behring. Dadurch konnten nach sechs Stunden die ursprünglichen Immunglobulinspiegel wieder erreicht werden.

2.3. Immunhistochemie und Bestimmung der β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertiter

Bei allen Patienten wurden zu Beginn der Beobachtung und nach drei Monaten mehrere rechtsventrikuläre Endomyokardbiopsien entnommen. Diese wurden in 4%igem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet. Die Schnittdicke betrug 2 μm . Die Präparate wurden mit Hämatoxylin/Eosin gefärbt und eine akute Myokarditis nach den DALLAS-Kriterien ausgeschlossen. Zur Identifizierung und Quantifizierung wurden die Zellen nach der Streptavidin-Biotin-Methode markiert. Dazu wurden monoklonale Antikörper anti-CD3, anti-CD4, anti-CD8, anti-LCA und anti-HLA Klasse II der Firmen Dako (Hamburg, Deutschland) und Novacastra (Newcastle upon Tyne, Großbritannien) verwendet. Der Grad der Fibrosierung wurde durch eine Elastica-van-Gieson-Färbung erfaßt.

Die markierten Lymphozyten konnten in zehn Gesichtsfeldern bei einer Vergrößerung von 1:400 gezählt werden. Die Angabe erfolgte in Zellen / high power field (HPF) und Zellen / mm^2 . Die anonymisierten Präparate wurden durch zwei unabhängige Untersucher beurteilt und die Mittelwerte der Zellzahlen ausgewertet.

Der Fibrosegrad und die HLA-Aktivität wurde mit Hilfe eines computergestützten Morphometrie-Systems Vidas (Fa. Kontron, Echingen, Deutschland) gemessen und als Mittelwert in % / Gesichtsfeld angegeben. Dazu mußten an einem 17-Zoll-Bildschirm HLA-positive Regionen und Bereiche mit Fibrose markiert und als Pixel entsprechender Farbe definiert werden. Es wurden mehrere repräsentative Gesichtsfelder ($n = 10$) ausgewählt, die weitgehend frei von größeren Gefäßen oder zerrissen waren.

Die Bestimmung der Antikörper erfolgt in einem funktionellen Testsystem mit spontan schlagenden Herzmuskelzellen der neonatalen Ratte, die mit Immunglobulinfraktionen der Patienten mit DCM inkubiert werden. Der dabei beobachtete positiv chronotrope Effekt entsteht durch die vorhandenen β_1 -Rezeptor-Autoantikörper. Dieser kann durch β -Rezeptoren-Blocker gehemmt werden und ist zeitlich nicht durch Desensibilisierungsvorgänge limitiert.

2.4. Klinische Parameter

Die Angaben der Patienten zu ihrer körperlichen Belastbarkeit und Beschwerdesymptomatik wurden zur Einschätzung des NYHA-Grades verwendet. Da alle Patienten den Schweregraden III und IV angehörten, war lediglich zu entscheiden, ob bereits in Ruhe oder erst bei geringer Belastung Einschränkungen auftraten.

Alle Patienten wurden mit zweidimensionaler Echokardiographie durch versierte Untersucher untersucht. Dabei wurden die Parameter LVEDD, LVESD und EF bestimmt.

2.5. Statistik

Alle Ergebnisse werden als Mittelwert mit Standardfehler angegeben. Die echokardiographischen und immunhistochemischen Befunde der IA- und Kontrollgruppe sowie β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertiter der IA-Gruppe wurden innerhalb der Gruppe vor und nach drei Monaten mit Hilfe des Wilcoxon-signed-rank-Testes verglichen und die Veränderungen auf Signifikanz überprüft.

Der Vergleich zwischen den Gruppen erfolgte mit der Differenz der Mittelwerte der Veränderungen der IA- und Kontrollgruppe im Beobachtungszeitraum mit Hilfe des Mann-Whitney-U-Testes. Damit können die Unterschiede zwischen den Gruppen beim Ausgangsbefund am Beginn des Beobachtungszeitraumes vernachlässigt werden. Durch die geringe Stichprobengröße von zwölf bzw. dreizehn ($n < 20$) war eine T-Approximation nötig. Die Ergebnisse wurden graphisch dargestellt. Dabei werden graphisch Mittelwert und Fehler dargestellt.

Sämtliche Berechnungen und Darstellungen wurden computergestützt mit den Programmen Excel und SPSS unter Windows erstellt.

3. Ergebnisse

3.1. Vergleich der Gruppen bei Untersuchungsbeginn

Bei Beginn des Beobachtungszeitraumes unterschieden sich beide Gruppen nach klinischen Gesichtspunkten nicht. (Alter- und Geschlechtsverteilung, Krankheitsdauer, Schweregrad der Herzinsuffizienz in NYHA-Stadien). IA- und Kontrollgruppe zeigen vergleichbare pathologische linksventrikuläre Diameter und eingeschränkte Pumpfunktionen mit entsprechender klinischer Symptomatik. (Tab. 1)

Tab. 1: Charakteristik der Patienten bei Untersuchungsbeginn

	IA-Gruppe	Kontrolle
Alter (Jahre)	50,1 ± 3,3	49,8 ± 3,4
n	12	13
männlich : weiblich	11 : 1	13 : 0
LVEDD (mm)	70,1 ± 1,9	74,4 ± 1,8
LVESD (mm)	59,0 ± 2,0	62,4 ± 2,2
EF (%)	21,3 ± 1,7	18,2 ± 1,7
NYHA-Stadium III (n)	8	9
NYHA-Stadium IV (n)	4	4
NYHA-Stadium (Mittel)	3,4 ± 0,13	3,3 ± 0,12
Krankheitsdauer (a)	4,0 ± 0,34	3,8 ± 0,76

3.2. Vergleich der klinischen Ergebnisse nach der Therapie

Bei den Patienten, die sich einer Immunadsorption und Immunglobulin-Substitution unterzogen haben, wurde eine signifikante Verbesserung der Pumpfunktion beobachtet. In der IA-Gruppe stieg die EF von 21,3 auf 27,0% an ($p < 0,01$ vs. Beginn und Kontrolle), die linksventrikulären Durchmesser nahmen diastolisch von 70,0 auf 67,5 mm, systolisch von 59,0 auf 55,0 mm ab (jeweils $p < 0,05$ vs. Beginn, $p = 0,2$ vs. Kontrolle). Im Gegensatz zur unveränderten Kontrollgruppe hat sich die Herzinsuffizienz in der IA-Gruppe um einem NYHA-Schweregrad reduziert. Die Mittelwerte der NYHA-Grade fielen von 3,4 auf 2,3 ab ($p < 0,05$ vs. Beginn und Kontrolle).

Die Patienten der Kontrollgruppe haben sich in ihrer eingeschränkten Pumpfunktion nicht bedeutsam verändert. Bei der klinischen Symptomatik der Patienten der Kontrollgruppe haben sich keine Änderungen ergeben.

Der mittlere LVEDD und LVESD der Kontrollgruppe unterschied sich nach drei Monaten im Vergleich zur IA-Gruppe im Gegensatz zur EF nicht signifikant.

Tab. 2: Charakteristik der Patienten nach 3 Monaten

	IA-Gruppe, p vs. Beginn	Kontrollgruppe, p vs. IA
LVEDD (mm)	67,5 ± 1,7 (p < 0,01)	71,4 ± 1,8 (p = 0,2)
LVESD (mm)	55,0 ± 2,2 (p < 0,01)	59,9 ± 2,1 (p = 0,2)
EF (%)	27,0 ± 1,3 (p < 0,05)	18,0 ± 1,8 (p < 0,01)
NYHA (Mittel)	2,3 ± 0,17 (p < 0,05)	3,3 ± 0,12 (p < 0,05)

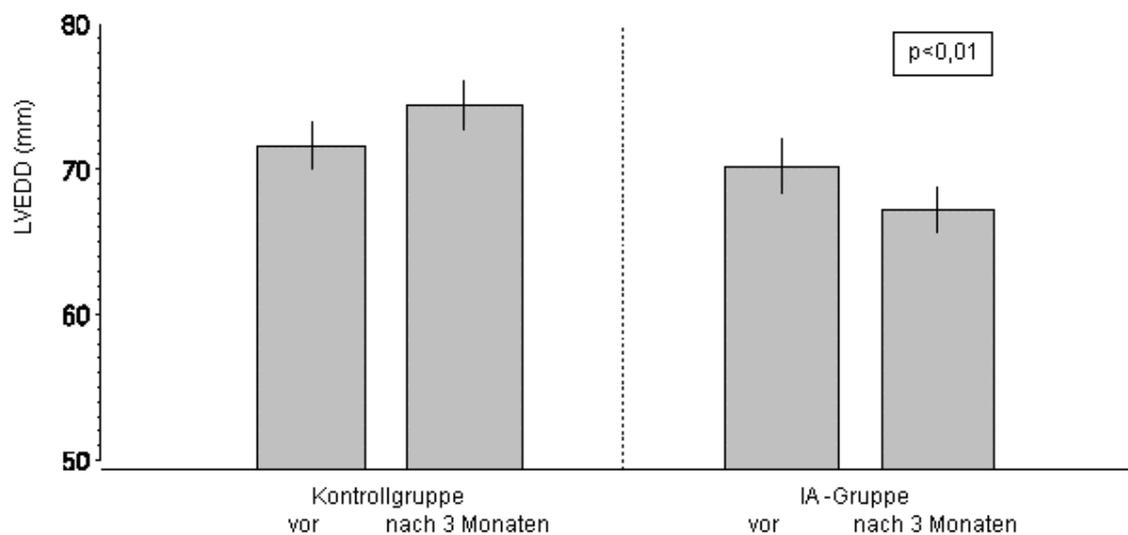


Abb. 3: Linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser der Patienten (Kontrollgruppe und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

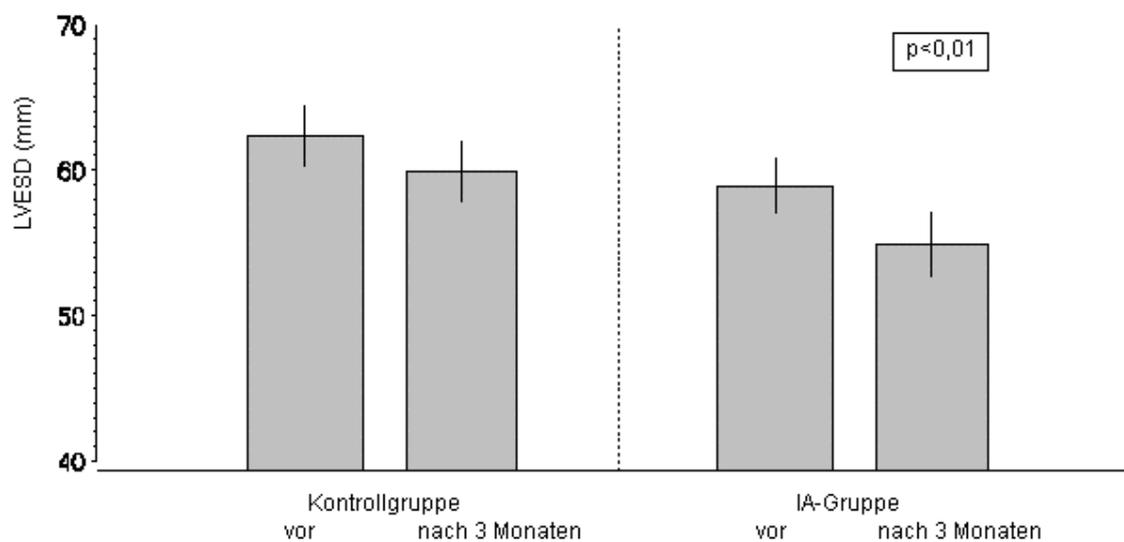


Abb. 4: Linksventrikuläre endsystolische Durchmesser der Patienten (Kontrollgruppe und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

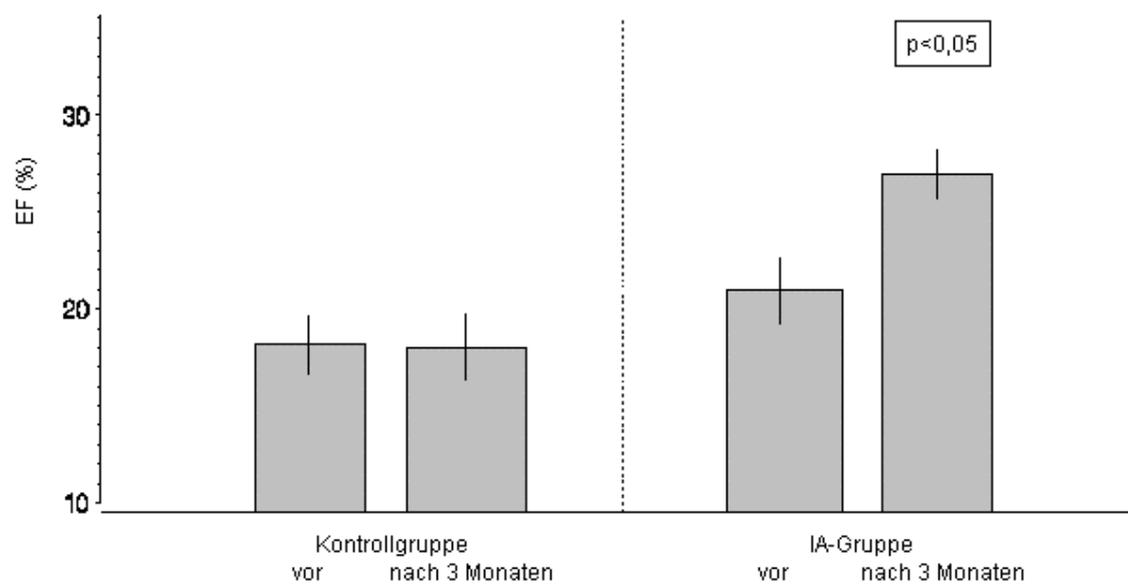


Abb. 5: Linksventrikuläre Ejektionsfraktion der Patienten (Kontrollgruppe und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

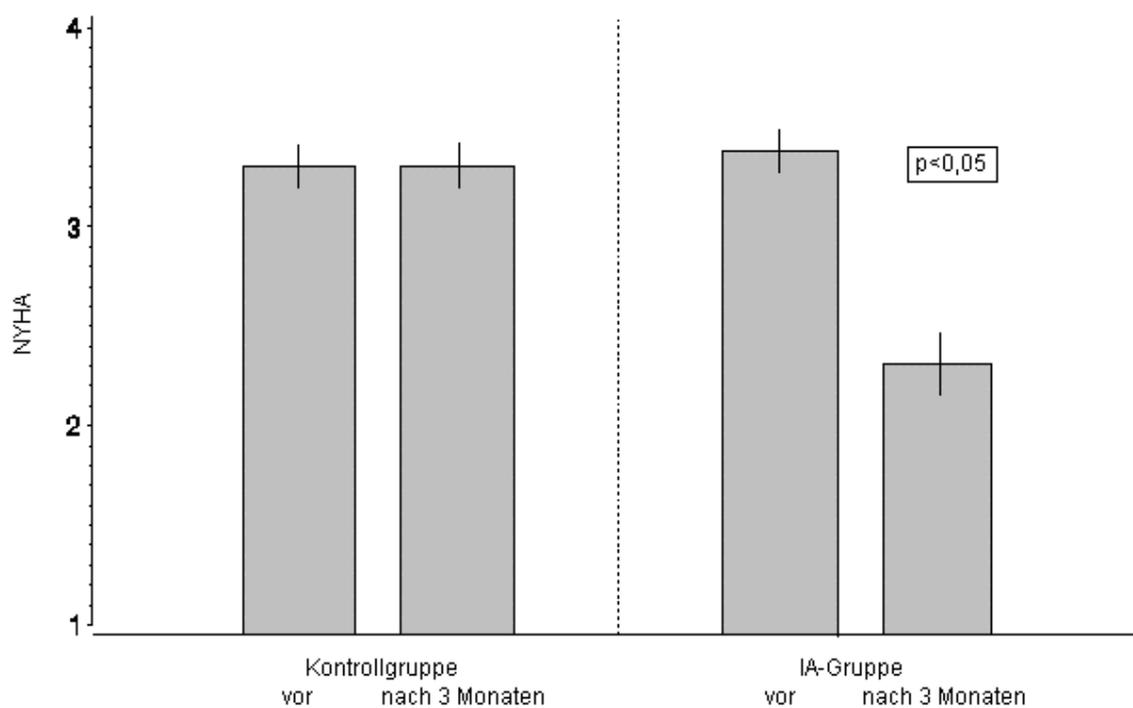


Abb. 6: NYHA-Schweregrade der Patienten (Kontrollgruppe und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

3. 3. β_1 -Rezeptor-Autoantikörper

Der β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertiter fiel in der IA-Gruppe von $4,3 \pm 0,4$ auf $1,1 \pm 0,4$ Einheiten ab ($p < 0,01$ vs. Beginn und vs. Kontrolle).

Tab. 3: Autoantikörpertiter der IA-Gruppe

Marker (Einheiten)	IA-Gruppe (Beginn)	IA-Gruppe (3 Monate), p vs. Beginn und vs. Kontrolle
Autoantikörpertiter	$4,3 \pm 0,4$	$1,1 \pm 0,4$ ($p < 0,01$)

Der Autoantikörpertiter in der Kontrollgruppe betrug $4,2 \pm 0,2$ Einheiten vor bzw. $3,8 \pm 0,4$ nach drei Monaten (n.s. vs. Beginn).

Tab. 4: Autoantikörpertiter der Kontrollgruppe

Marker (Einheiten)	Kontrollgruppe (Beginn)	Kontrollgruppe (3 Monate), p vs. Beginn
Autoantikörpertiter	$4,2 \pm 0,2$	$3,8 \pm 0,4$ (n.s.)

Bei signifikanten Änderungen der Autoantikörpertiter bei Patienten mit IA und fehlender Signifikanz der Veränderungen in der Kontrollgruppe ergeben sich innerhalb des Beobachtungszeitraumes signifikante Unterschiede zwischen IA- und Kontrollgruppe nach drei Monaten.

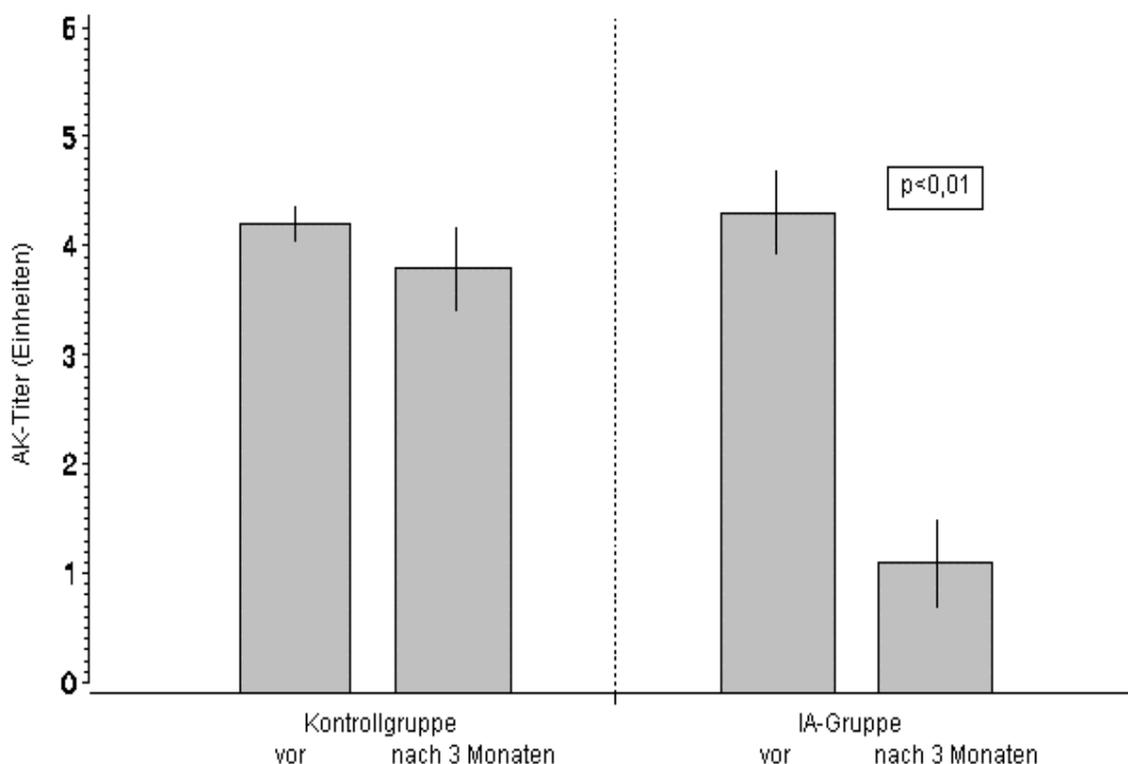


Abb. 7: Autoantikörpertiter der Patienten (Kontrollgruppe und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

3.4. Immunhistochemie

3.4.1. Lymphozytenoberflächenantigene

In der Gruppe der Patienten mit IA und Immunglobulinsubstitution fiel nach drei Monaten die Zahl CD 3 markierter Lymphozyten von $5,7 \pm 0,8$ auf $2,9 \pm 0,5$ Zellen / mm^2 ($p < 0,01$ vs. Beginn und vs. Kontrolle). Parallel dazu nahm die Zahl CD 4 und CD 8 markierter Lymphozyten von $2,3 \pm 0,4$ auf $0,9 \pm 0,1$ Zellen / mm^2 ($p < 0,01$ vs. Beginn und vs. Kontrolle) bzw. $2,8 \pm 0,5$ auf $1,8 \pm 0,4$ Zellen / mm^2 ($p < 0,05$ vs. Beginn und vs. Kontrolle) ab. Die Zahl LCA-positiver Zellen reduzierte sich von $20,0 \pm 3,1$ auf $9,9 \pm 2,8$ Zellen / mm^2 ($p < 0,01$ vs. Beginn und vs. Kontrolle).

Tab. 5: Lymphozytenoberflächenantigene der IA-Gruppe

Marker (Zellen / mm ²)	IA-Gruppe (Beginn)	IA-Gruppe (3 Monate), p vs. Beginn und vs. Kontrolle
CD 3	5,7 ± 0,8	2,9 ± 0,5 (p<0,01)
CD 4	2,3 ± 0,4	0,9 ± 0,1 (p<0,01)
CD 8	2,8 ± 0,5	1,8 ± 0,4 (p<0,05)
LCA	20,0 ± 3,1	9,9 ± 2,8 (p<0,01)

In der Kontrollgruppe fanden sich keine signifikanten Veränderungen der Zellzahlen nach drei Monaten im Vergleich zum Ausgangsbefund.

Die Zahl CD 3 markierter Zellen betrug 5,4 ± 1,1 vor und 6,1 ± 1,0 Zellen / mm² nach dem Beobachtungszeitraum (n. s. vs. Beginn). Parallel dazu entwickelte sich die Zahl der CD 4 und CD 8 markierten Zellen von 2,2 ± 0,6 auf 2,4 ± 0,5 Zellen / mm² (n. s. vs. Beginn) bzw. 2,8 ± 0,5 auf 3,2 ± 0,6 Zellen / mm² (n.s. vs. Beginn). Die Anzahl LCA-positiver Zellen wurde mit 15,7 ± 1,4 und 17,1 ± 1,6 Zellen / mm² vor bzw. nach 3 Monaten ermittelt (n.s. vs. Beginn).

Tab. 6: Lymphozytenoberflächenantigene der Kontrollgruppe

Marker (Zellen / mm ²)	Kontrollgruppe (Beginn)	Kontrollgruppe (3 Monate), p vs. Beginn
CD 3	5,4 ± 1,1	6,1 ± 1,0 (n. s.)
CD 4	2,2 ± 0,6	2,4 ± 0,5 (n. s.)
CD 8	2,8 ± 0,5	3,2 ± 0,6 (n. s.)
LCA	15,7 ± 1,4	17,1 ± 1,6 (n. s.)

Bei signifikanten Veränderungen der Anzahl aller markierter Lymphozyten bei Patienten mit IA und fehlender Signifikanz der Veränderungen in der Kontrollgruppe innerhalb des Beobachtungszeitraumes ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen IA-Gruppe und Kontrollgruppe nach drei Monaten.

Nachfolgend sollen die o. g. Ergebnisse graphisch dargestellt werden:

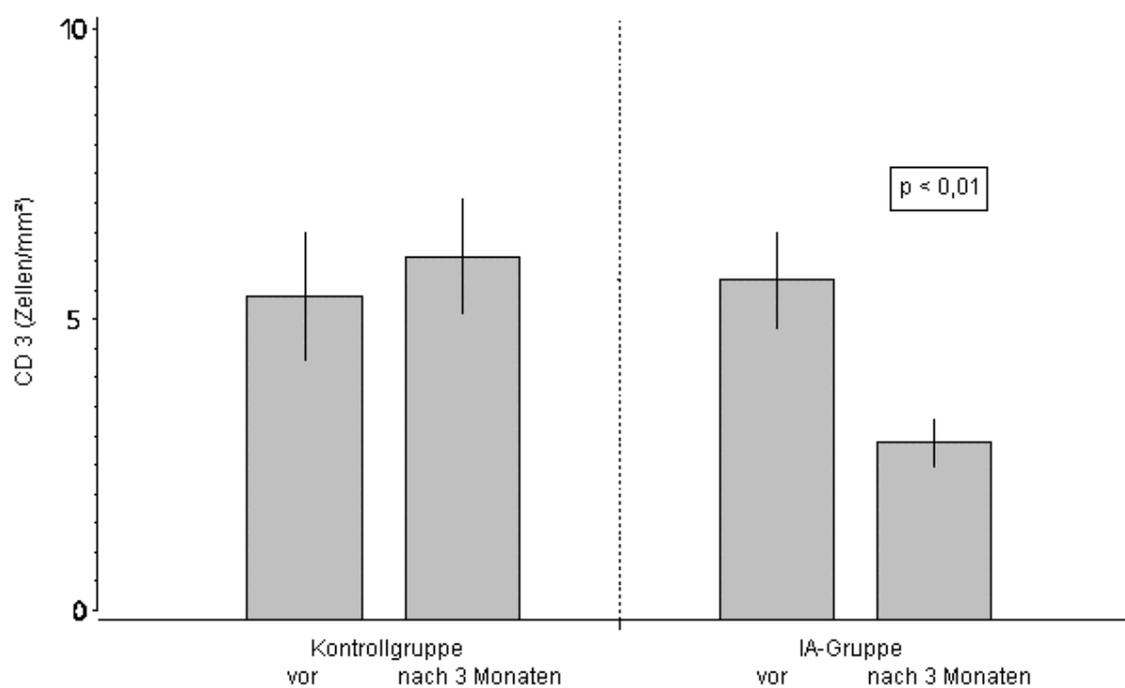


Abb.8: CD 3-positive Lymphozyten bei den Patienten (Kontroll- und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

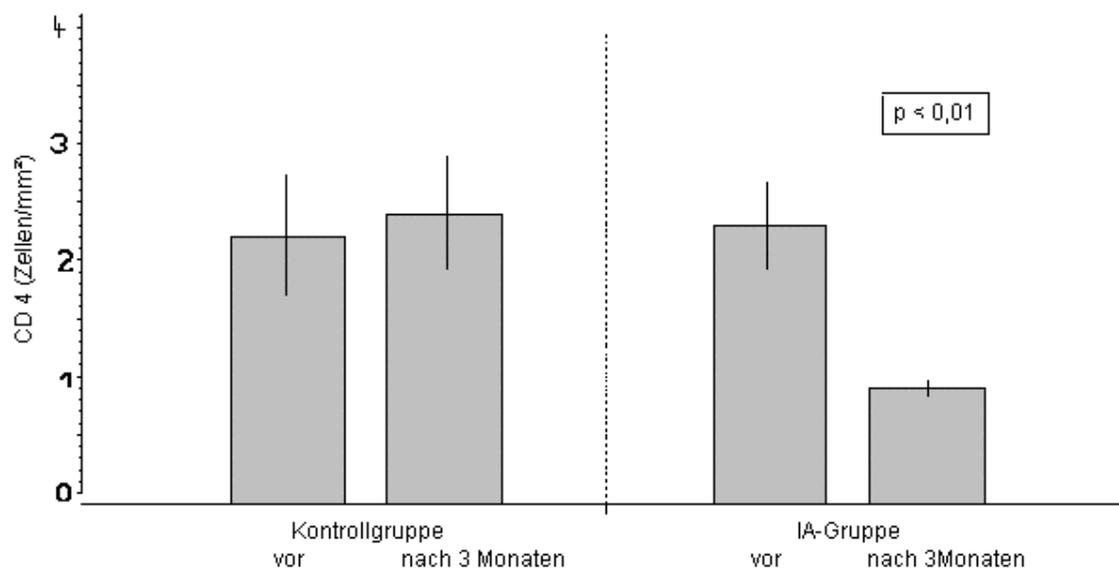


Abb. 9: CD 4-positive Lymphozyten bei den Patienten (Kontroll- und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

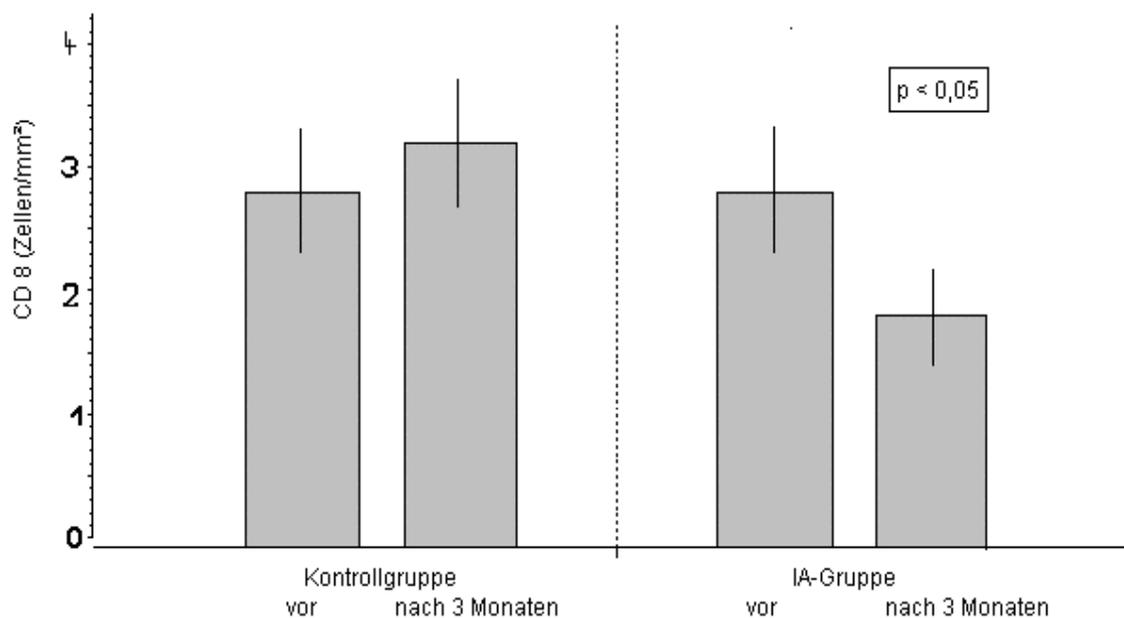


Abb. 10: CD 8-positive Lymphozyten bei den Patienten (Kontroll- und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

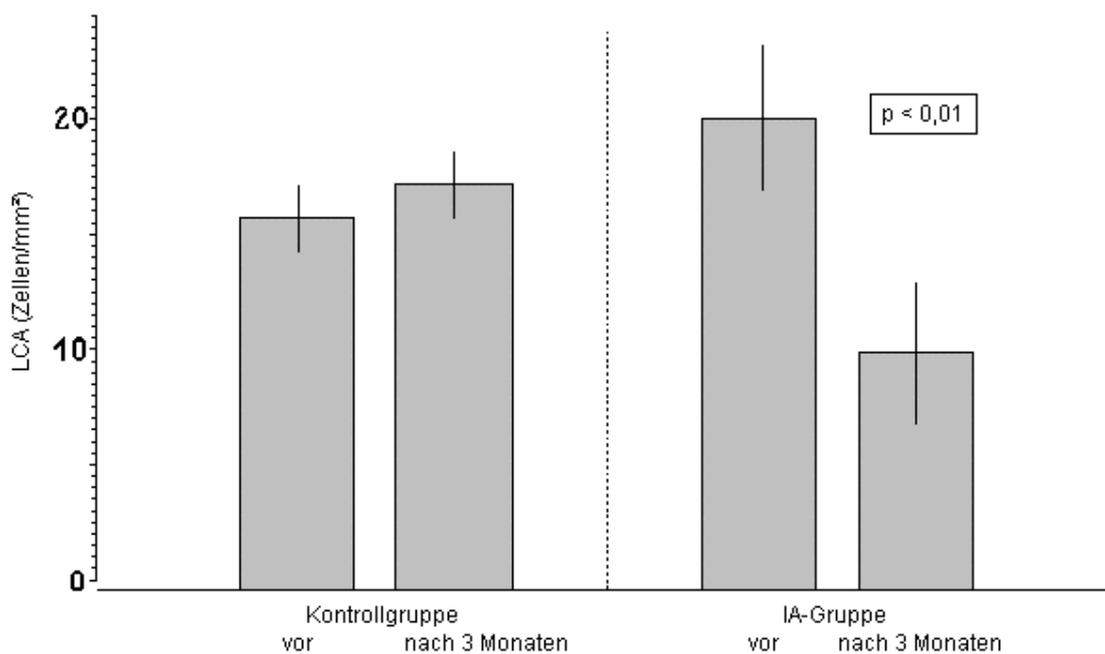


Abb11: LCA-positive Leukozyten bei den Patienten (Kontroll- und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

3.4.2. HLA-Expression

Bei den Veränderungen der HLA-Expression wurde eine deutliche Reduktion in der IA-Gruppe im Gegensatz zur Kontrollgruppe beobachtet. Die prozentuale HLA-Expression nahm von $2,0 \pm 0,7$ auf $1,1 \pm 0,4$ % / Gesichtsfeld ($p < 0,05$ vs. Beginn und vs. Kontrolle) ab.

Tab. 7: HLA-Expression bei der IA-Gruppe

Marker (% / Gesichtsfeld)	IA-Gruppe (Beginn)	IA-Gruppe (3 Monate) p vs. Beginn und vs. Kontrolle
HLA	$2,0 \pm 0,7$	$1,1 \pm 0,4$ ($p < 0,05$)

In der Kontrollgruppe wurden keine Veränderungen festgestellt. Die Ergebnisse betragen $2,2 \pm 0,4$ bzw. $2,2 \pm 0,5$ % / Gesichtsfeld (n.s. vs. Beginn).

Tab. 8: HLA-Expression bei der Kontrollgruppe

Marker (% / Gesichtsfeld)	Kontrollgruppe (Beginn)	Kontrollgruppe (3 Monate) p vs. Beginn
HLA	$2,2 \pm 0,4$	$2,2 \pm 0,5$ (n.s.)

Bei signifikanten Veränderungen der HLA-Expression bei Patienten mit IA und fehlenden Veränderungen in der Kontrollgruppe innerhalb des Beobachtungszeitraumes ergeben sich signifikante Unterschiede zwischen der IA-Gruppe und Kontrollgruppe nach drei Monaten.

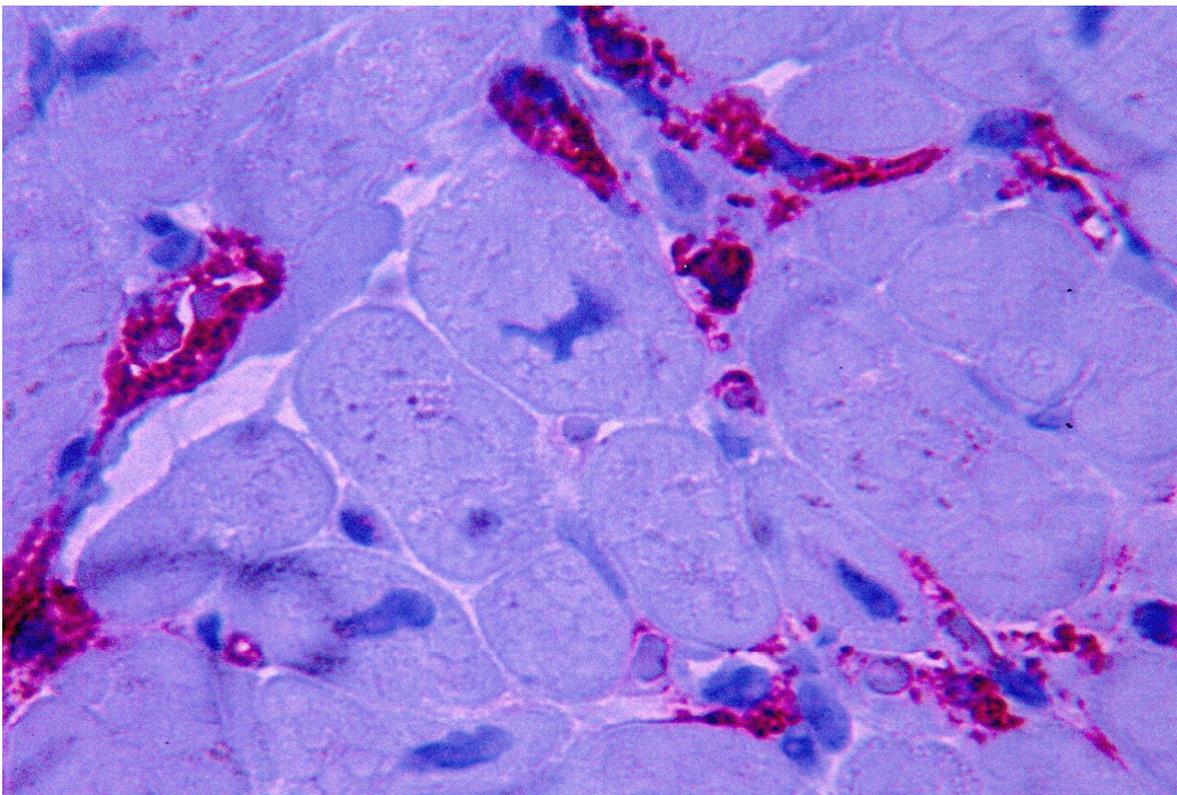


Abb. 12: Immunhistochemischer Nachweis intensiver HLA-Expression vor IA (HE-Färbung, 1:400)

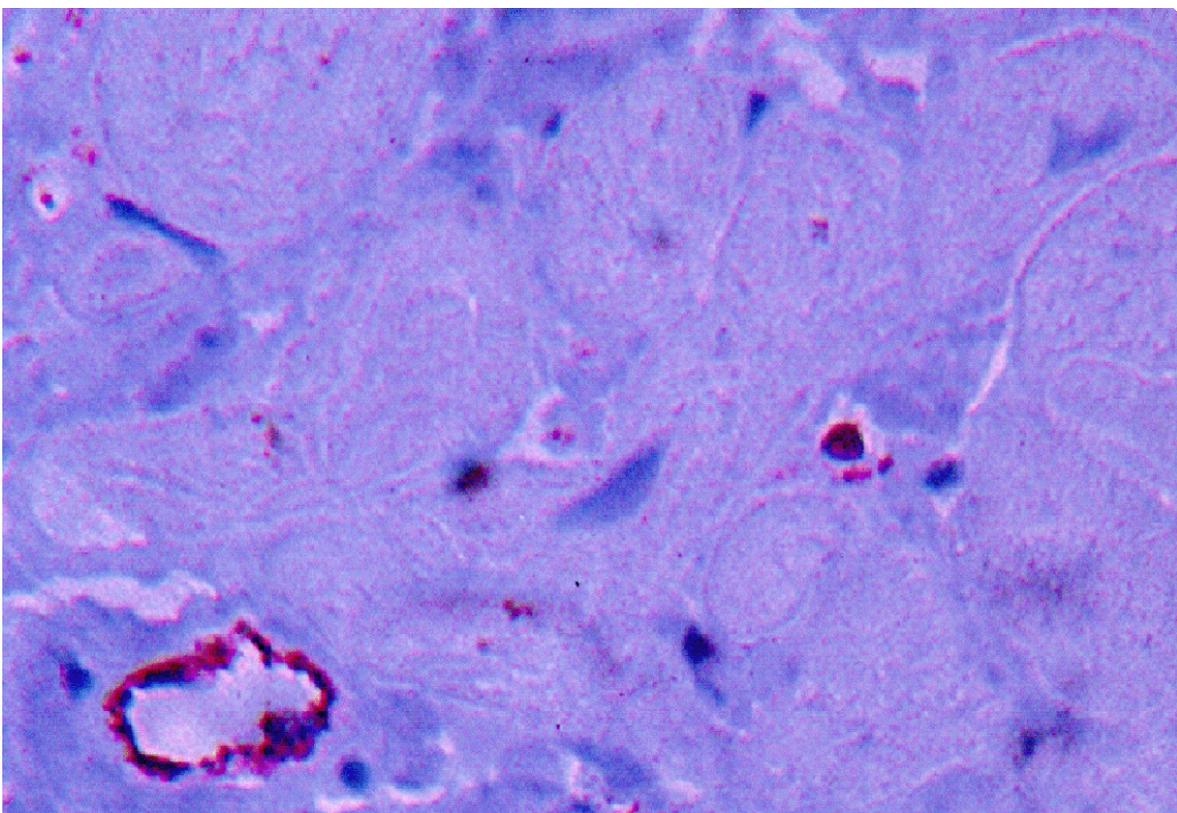


Abb. 13: Immunhistochemischer Nachweis reduzierter HLA-Expression nach IA (HE-Färbung, 1:400)

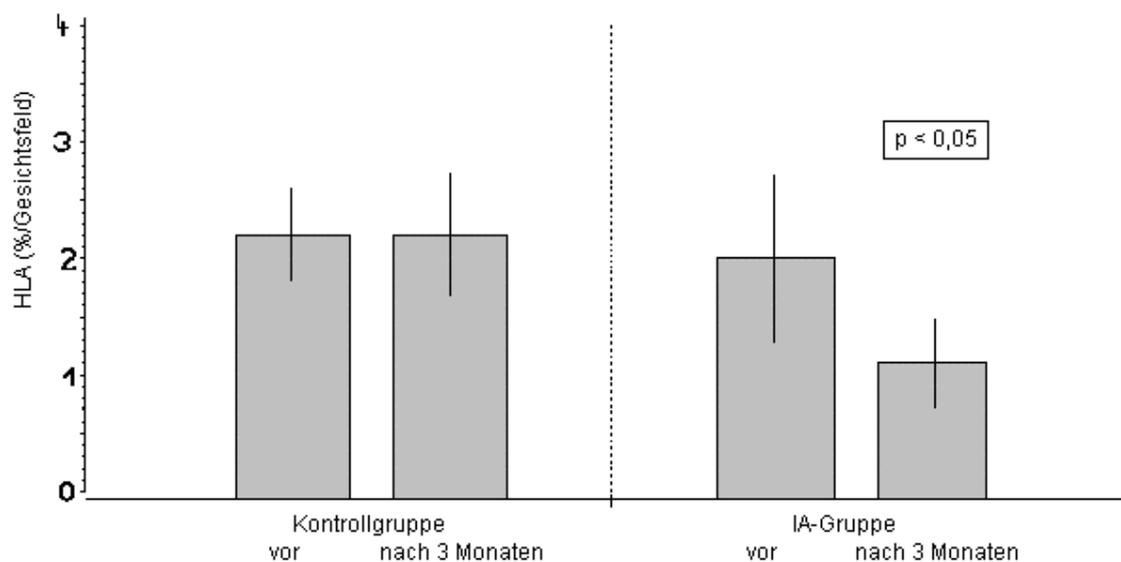


Abb.14: HLA-Expression bei den Patienten (Kontroll- und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

3.4.3. Fibrosegrad

In der IA-Gruppe wurde bei Beobachtungsbeginn ein Fibrosegrad von $8,6 \pm 1,9$ nach drei Monaten von $8,1 \pm 2,0$ % / Gesichtsfeld gemessen (n.s. vs. Beginn und vs. Kontrolle).

Tab. 9: Fibrosegrad der IA-Gruppe

Marker (% / Gesichtsfeld)	IA-Gruppe (Beginn)	IA-Gruppe (3 Monate), p vs. Beginn und vs. Kontrolle
Fibrose	$8,6 \pm 1,9$	$8,1 \pm 2,0$ (n.s.)

Dieser war ähnlich in der Kontrollgruppe mit $8,6 \pm 2,4$ bzw. $8,9 \pm 2,3$ % / Gesichtsfeld (n.s. vs. Beginn).

Tab. 10: Fibrosegrad der Kontrollgruppe (Elastica-van-Gieson-Färbung, 1:400)

Marker (% / Gesichtsfeld)	Kontrollgruppe (Beginn)	Kontrollgruppe (3 Monate), p vs. Beginn
Fibrose	8,6 ± 2,4	8,9 ± 2,3 (p>0,05)

Es wurden damit im Beobachtungszeitraum in der IA- und Kontrollgruppe keine signifikanten Veränderungen des Fibrosegrades beobachtet. Zwischen den beiden Gruppen bestehen hinsichtlich Fibrosegrad weder am Beginn des Beobachtungszeitraumes noch nach drei Monaten signifikante Unterschiede.

Abb. 15: Histologischer Nachweis von Fibrose (Elastica-van-Gieson-Färbung, 1:400)

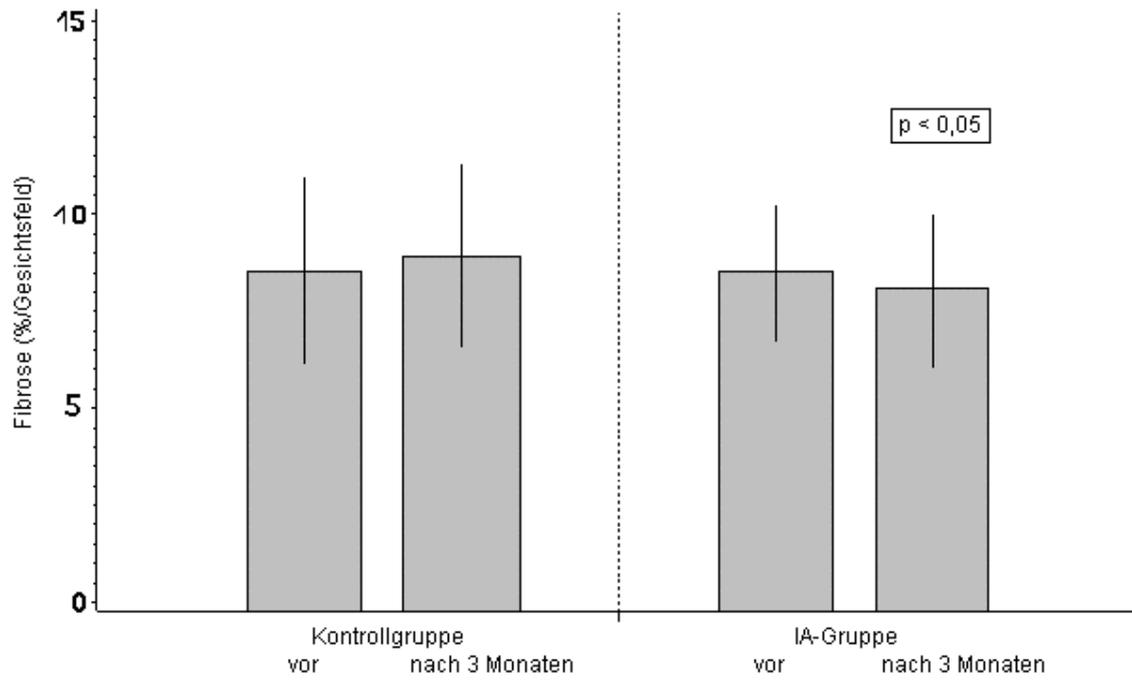


Abb. 16: Fibrosegrad bei den Patienten (Kontroll- und IA-Gruppe vor und nach 3 Monaten)

4. Diskussion

4.1. Therapeutische Effekte der Immunadsorption und Immunglobulin-Substitution

4.1.1. Veränderungen der β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertiter und Wirkungen der Immunglobulin-Substitution

Seit Jahren wird vermutet, daß bei einem Teil der Patienten mit DCM pathophysiologische Zusammenhänge zu einer durchgemachten Myokarditis bestehen. Bei der meist durch Enteroviren verursachten Myokarditis kommt es zur Ausbreitung der Infektion von Zelle zu Zelle gefolgt von reaktiven oft fokalen entzündlichen Infiltraten. Im Rahmen einer ersten unspezifischen Immunantwort erscheinen Makrophagen und Killerzellen gefolgt von einer spezifischen zweiten Immunantwort in Form von CD 4-positiven T-Helferzellen und CD 8-positiven zytotoxischen T-Lymphozyten. So wird bei intakter humoraler und zellulärer Immunantwort nach anfänglicher Ausbreitung der Infektion eine Entfernung des Virus und der infizierten Zellen bei einer großen Anzahl der Patienten realisiert. Durch bisher unbekannte wahrscheinlich auch genetische Faktoren liegt bei einem Teil der Patienten eine immunologische Regulationsstörung vor, die zur persistierenden Infektion und / oder Entzündungsreaktion auch nach Abschluß der Virusreplikation führen kann. Im Mausmodell konnte gezeigt werden, daß bei der anhaltenden Virusreplikation in infizierten Zellen eine geringere Replikationsfrequenz und Virulenz durch atypische Verteilungen zwischen viraler Plus- und Minus-Strang-RNA vorliegen (sog. restringierte Replikation). Daneben kann die anhaltende entzündliche Reaktion des Immunsystems ermöglicht werden durch ein im Tiermodell nachgewiesenes extrakardiales Virusreservoir in Milz und Lymphknoten. Ein Nachweis von Virusgenomen gelang in diesen Organen in infizierten B-Lymphozyten, CD 4-positiven T-Helferzellen und Makrophagen, nicht in CD 8-positiven zytotoxischen T-Lymphozyten (46, 47, 48).

Zusätzlich entwickeln sich durch gestörte immunologische Regulationsmechanismen autoreaktive Prozesse gegen myokardiale Strukturen.

Verschiedene myokardiale Proteine wirken nach Kreuzreaktionen mit viralen Proteinen im Rahmen eines möglichen antigenen Mimikry als Antigene, die die Bildung von Autoantikörpern auslösen. Es wird vermutet, daß darin der immunologische Prozeß bei der DCM besteht, der die Krankheitsaktivität unterhält. Dieser wird durch Mediatoren des Immunsystems wie Zytokine unterstützt (24, 25). Bei den Patienten mit DCM wurden TNF- α , IL-6 einschließlich Rezeptoren wie sIL-2R, sTNF-RI und sTNF-RII in erhöhten Blutspiegeln nachgewiesen. Die Konzentrationen waren auch durch Immunadsorption nicht zu beeinflussen (61).

Die bei den autoreaktiven Vorgängen entstandenen Autoantikörper gegen myokardiale Strukturen, wie gegen den β_1 -Rezeptor, Kalziumkanal, kontraktile und mitochondriale Proteine wirken teilweise kardiodepressiv und sollen durch die Immunadsorption entfernt werden. Damit wird entweder das pathologische Substrat oder auch der Trigger der Progredienz der Erkrankung entfernt. Nach der Entfernung der Autoantikörper wird neben der Verbesserung der Pumpfunktion auch eine Beeinflussung der Progredienz der immunologischen Prozesse bei Patienten mit DCM vermutet.

Als ein repräsentativer Marker der autoimmunologischen Reaktion wird der Titer des β_1 -Rezeptor-Autoantikörpers angesehen, der bei 70 bis 90% der Patienten mit DCM erhöht ist.

Seit Jahren ist bekannt, daß die erhöhten Autoantikörpertiter bei verschiedenen Herzerkrankungen sowie im Tiermodell mit Einschränkungen der Pumpfunktion verbunden sind (31, 32, 33).

In der IA-Gruppe wurde im Gegensatz zur Kontrollgruppe parallel zu den Verbesserungen der linksventrikulären Pumpfunktion ein signifikanter Abfall des β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertiters gemessen.

Dieses Ergebnis könnte als Hinweis für die pathogenetische Bedeutung der erhöhten Titer und kardiodepressiven Effekte angesehen werden. Die Immunadsorption ist ein effektives Verfahren zur Senkung der pathologisch erhöhten β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertiter. Gleichzeitig wurde auf diesem Wege eine Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion und klinischen Symptomatik erzielt.

Nach der Immunadsorption wurde bei den Patienten polyklonales Immunglobulin substituiert. Die Substitution erfolgte aus Sicherheitsgründen und zur Verhinderung eines möglichen Reboundphänomens der Autoantikörperproduktion. Dadurch wurde aber ebenso das Immunsystem auf verschiedenen Wegen manipuliert.

Seit Jahren werden durch Immunglobuline erfolgreich verschiedene neurologische (z. B. Myasthenia gravis, Guillain-Barré-Syndrom, Multiple Sklerose und verschiedene Polyneuropathieformen), hämatologische (z. B. autoimmunthrombopenische Purpura, -Neutropenie und -Anämie sowie Hämophilie) und andere Erkrankungen (Rheumatoid-Arthritis, systemischer Lupus erythematodes, Polymyositis, bullöses Pemphigoid, Asthma bronchiale, Enteritis regionalis, hyperthyreote Ophthalmopathie u. a.) behandelt (62, 63). Dabei wirken verschiedene pathophysiologische Mechanismen:

Es ist bekannt, daß therapeutische Konzentrationen von Immunglobulin G den Fc-Rezeptor als Bindungsstelle des Immunglobulins an Makrophagen, Lymphozyten, Mastzellen und Granulozyten blockieren. Dieser wurde zuerst an neonatalen Epithelzellen des Darms entdeckt und regelt die Immunglobulin G-Aktivität, in dem phagozytiertes Immunglobulin vor dem Abbau geschützt wird und bei Bedarf sezerniert werden kann. Durch Absättigung der Rezeptoren mit hohen Immunglobulin G-Dosen wird eine anhaltende Hypergammaglobulinämie erzeugt und zugleich die körpereigene Immunglobulinproduktion aus den Zellen wie auch die Produktion von pathologischen Autoantikörpern gehemmt. Dieser Effekt wurde in Tierversuchen bestätigt, indem Mäuse mit Fc-Rezeptormangel höhere Autoantikörpertiter als andere nach Immunglobulintherapie bilden.

Durch Immunglobulin kann auch die Bildung antidiotypischer Antikörper gegen verschiedene Idiotypen des spezifischen Fab-Anteiles des Moleküls provoziert werden. Damit wird die Bindungsstelle des Immunglobulinmoleküls selbst zum Antigen, durch Vernetzung der Immunglobuline wird die Immunreaktivität der B-Zellen gehemmt. Es folgt die Anergie oder Apoptose der aktivierten B-Zellen, das heißt der „programmierte Selbstmord“ der betroffenen Zellen.

Zusätzlich werden durch Immunglobulin Wirkungen auf die Zytokinsynthese und den Zytokinrezeptor beschrieben, damit auch die zelluläre Immunität beeinflusst (62, 63).

Die zelluläre Immunaktivität mit Infiltration von Lymphozyten und vermehrter HLA-Klasse II-Expression wird durch IA und Immunglobulin-Substitution reduziert und durch immunhistochemische Veränderungen sichtbar. Die reduzierte immunologische Aktivität entspricht nicht dem spontanen Verlauf der Erkrankung. Der durch IA und Immunglobulin-Substitution erfolgte Entzug von Autoantikörpern trägt zu histologischen Veränderungen bei.

In der Kontrollgruppe wurden bei gleicher Medikation und ähnlichen histologischen Ausgangsbefunden keine Veränderungen der immunologischen Aktivität im Zeitraum von drei Monaten beobachtet.

4.1.2. Veränderungen der klinischen Symptomatik und linksventrikulären Funktion nach Immunadsorption und Immunglobulin-Substitution

In einer ersten Studie zu den hämodynamischen Effekten der Immunadsorption mit Immunglobulin-Substitution bei Patienten mit DCM konnten bedeutsame Verbesserungen der Pumpfunktion erreicht werden (47, 48, 49, 52). Es wird vermutet, daß dieser Behandlungserfolg durch die Einflußnahme auf den Autoimmunprozeß entsteht.

In der Gruppe der IA und Immunglobulin-Substitution konnten signifikante Verbesserungen der linksventrikulären Pumpfunktion festgestellt werden. Der Schweregrad der Herzinsuffizienz verminderte sich meßbar anhand der NYHA-Schweregrade. Die Verbesserungen der Pumpfunktion der Patienten fielen sehr unterschiedlich aus, d. h. die Beeinflußbarkeit der DCM auf IA und Immunglobulin-Substitution ist zur Zeit nicht vorherzusehen. Eine Analyse der Zusammenhänge und Einflußfaktoren steht noch aus und ist größeren zukünftigen Studien vorbehalten.

In der Kontrollgruppe wurden keine Veränderung der linksventrikulären Parameter und klinischen Symptomatik beobachtet. Über die Dauer der Veränderungen nach IA liegen bisher keine abschließenden Erfahrungen vor. Erste Beobachtungen zeigen anhaltende Wirkungen über ein Jahr. Weitere Studien zur

Immunadsorption mit Immunglobulin-Substitution über längere Zeiträume und in größeren zeitlichen Abständen fehlen bisher (64).

Der Behandlungserfolg kann nicht durch die Immobilisierung der Patienten der IA-Gruppe erklärt werden, da in der Kontrollgruppe keine vergleichbaren Änderungen während einer Ruhephase von fünf Tagen beobachtet wurden. Ebenso wurde keine Verminderung des Plasmavolumens oder Steigerung der Urinproduktion festgestellt, da Hämatokrit, Blutviskosität und Kreatininclearance keine signifikanten Veränderungen im Rahmen der IA mit Immunglobulin-Substitution zeigten (61).

4.1.3. Histomorphologische Veränderungen durch Immunadsorption und Immunglobulin-Substitution

Zur Beurteilung der morphologischen und immunologischen Vorgänge der Patienten der IA- und Kontrollgruppe wurden die Myokardbiopsien vor und nach einem Behandlungs- bzw. Beobachtungszeitraum von drei Monaten beurteilt.

Dabei zeigte sich eine signifikante Reduktion der Lymphozyten (CD3, CD4, CD8) und Leukozyten (LCA) im Gegensatz zur Kontrollgruppe, bei der sich keine solchen Veränderungen ergaben.

Ein unmittelbarer Vergleich der Befunde mit anderen Arbeitsgruppen ist nur eingeschränkt möglich, da teilweise andere immunhistochemische Aufbereitungen mit Schichtdicken von 5 μm angegeben werden. Verbindliche Grenzwerte für Autoantikörpertiter, Zellzahlen und anderen immunologischen Aktivitätsmarkern existieren nicht.

Bisherige Tiermodelle und Hypothesen gehen von der pathogenetischen Funktion der Lymphozyten sowohl bei der Entwicklung der Myozytolysen als auch der Autoimmunvorgänge aus. Bei der Differenzierung der T-Lymphozyten als spätere Effektorzellen der zellvermittelten Immunreaktion werden Oberflächenproteine exprimiert, die spezifische Funktionen übernehmen. So verfügen die T-Lymphozyten ab einer gewissen Reifungsstufe über CD 3-Einheiten als Antigen-Rezeptoren. Andere Lymphozyten entwickeln CD 4-Einheiten, übernehmen mit

ihnen T-Zell-Helferfunktionen und steuern so die Zytokin-Sekretion und –Aktivität. Auf diesem Weg können über Mediatoren sämtliche Immunreaktionen gesteuert werden. Daneben besitzen CD 8-positive Lymphozyten als Effektorzellen unmittelbare zytotoxische Funktion (45, 39).

Immunadsorption und Immunglobulin-Substitution beeinflussen über die T-Lymphozyten-Aktivität die Immunvorgänge, so daß eine Verbesserung der Pumpfunktion erreicht und die Progredienz der DCM beeinflußt werden könnte. Die beschriebenen histochemischen Veränderungen bei Patienten mit DCM können damit als reversibel angesehen werden. Durch den Vergleich mit der Kontrollgruppe wurde ausgeschlossen, daß die Veränderungen der Immunhistochemie durch die medikamentöse Therapie verursacht werden oder dem Spontanverlauf entsprechen.

Durch die Immunadsorption und Immunglobulin-Substitution wird auch signifikant die Intensität der HLA-Klasse II-Expression vermindert. In der Kontrollgruppe ergeben sich nur geringe nicht signifikante Veränderungen.

Da T-Lymphozyten Proteinantigene nicht erkennen können, werden diese an HLA-Klasse II-Moleküle gebunden, aufbereitet und den T-Zellen präsentiert. Im Zusammenwirken mit CD 4- und CD 8-Molekülen sowie anderen Adhäsionsmolekülen wird die Antigen-Rezeptor-Bindung stabilisiert und die Stimulation von Zytokinen vermittelt. Neben stimulierenden Faktoren wirken inhibierende Mechanismen komplex zusammen.

Im Rahmen von aktiven Immunvorgängen entsteht neben der Infiltration von Lymphozyten die HLA-Klasse II-Expression am Gefäßendothel und interstitiellen Zellen zur Antigenpräsentation. Durch mögliche Kreuzreaktionen von Antigenen könnten sich als Autoimmunreaktion unter Beteiligung von vermehrten HLA-Klasse II-Molekülen, dem aktiven Zytokinsystem und Adhäsionsmolekülen sowie vermehrten zytotoxischen T-Zellen ein chronisch-persistierender autoimmunologischer Prozeß entwickeln.

Die chronisch-persistierenden autoimmunologischen Prozesse können durch IA und Immunglobulin-Substitution gehemmt werden. Damit bilden sich strukturelle Veränderungen zurück, die die Kontraktilität negativ beeinflussen.

Die myokardiale extrazelluläre Matrix besteht aus einem Komplex von Strukturproteinen, die im Zusammenspiel mit Myozyten eine entscheidende Rolle für die Myokardfunktion spielen. Bei Patienten mit eingeschränkter Pumpfunktion durch eine DCM wurde ein Anstieg des Fibrosegrades im Gegensatz zu Gesunden oder Patienten mit latenter DCM (EF gering eingeschränkt) beobachtet. Das Verhältnis von Kollagen I zu Kollagen III ist bei Patienten mit DCM gestört und die Veränderungen des Quotienten sind mit Änderungen der Pumpfunktion verbunden. Bei Patienten mit schwer gestörter linksventrikulärer Funktion wurde eine Anhäufung von Kollagen I nachgewiesen. Ein Abfall von Kollagen III ist beobachtet worden, aber noch umstritten. Damit ist ein Verlust von Elastizität zugunsten von Steifigkeit verbunden, wodurch die kinetische Energie des Herzmuskels abnimmt. Die Veränderungen werden in der Kollagensynthese von einer Aktivierung bestimmter Zytokine ausgelöst, die zur Stimulation spezifischer RNA-Expression führt. (66).

Sowohl in der Patientengruppe mit Immunadsorption und Immunglobulin-Substitution als auch in der Kontrollgruppe wurden im Beobachtungszeitraum keine Veränderungen des Fibrosegrades gemessen.

Solche Veränderungen wären denkbar, da bei Patienten mit schwerer Pumpinsuffizienz, die mit einem Assist-System behandelt wurden, eine Abnahme des Fibrosegrades beobachtet wurde (65). Auch nach immunmodulatorischer Behandlung könnten solche Veränderungen nach einem ausreichenden Zeitraum eintreten. Dazu sind noch längerfristige Beobachtungen (länger als drei Monate) mit einer Differenzierung der unterschiedlichen Kollagene nötig.

4.2. Immunadsorption und andere Therapieansätze

Die beschriebenen immunhistochemischen und klinischen Veränderungen werden teilweise auch bei anderen immunmodulatorischen Therapien berichtet:

So konnte unter hochdosierter Prednisontherapie und Azathioprin bei längerem Krankheitsverlauf und Hinweisen auf eine autoimmunologische Aktivität durch

zahlreiche Lymphozytenoberflächenantigene, starke HLA-Expression und den Nachweis von Adhäsionsmolekülen teilweise ein Rückgang der Immunaktivität und Verbesserung der Pumpfunktion nachwiesen werden. Diese Behandlung birgt bei chronischem Krankheitsverlauf auch in späten Phasen bei Viruspersistenz große Gefahren für den Patienten, wenn durch supprimierte körpereigene Immunabwehr eine Virämie und erneute Myokardschädigung induziert wird. Ein Teil der Patienten dürfte jedoch von einer solchen Behandlung profitieren. Bei diesen Patienten ist denkbar, daß die gestörten Immunregulationsmechanismen mit chronischer Autoreaktivität beeinflußt werden könnten (45, 49, 51, 52).

In den Mitteilungen sind teilweise die Patientenzahlen klein und inhomogen, nicht einheitlich diagnostiziert sowie nicht randomisiert und doppelblind beobachtet. Der oft längere Krankheitsverlauf verläuft ohne sichere prädiktive Kriterien, so daß neben der Entwicklung einer progredienten DCM auch Spontanheilungen des immunologischen Prozesses bei chronischen Verläufen auch in späteren Stadien beobachtet werden.

In einer größeren Vergleichsstudie bei Patienten mit Herzinsuffizienz unklarer Genese („Myocarditis treatment trial“, n = 2233) wurden der geringe Anteil von 10% mit nachgewiesener Myokarditis neben der konventionellen Therapie über 28 Wochen mit Prednison / Azathioprin oder Prednison / Cyclophosphamid unerwartet ohne Vorteil für den Krankheitsverlauf behandelt. Es ergaben sich zwischen den Gruppen unterschiedlicher Behandlung keine signifikanten Unterschiede zwischen linksventrikulären Diametern, Ejektionsfraktion und pulmonal-kapillären Druck sowie Überlebensrate nach einem Jahr. Dabei fiel auf, daß sich nach ausgeprägter Immunreaktion mit höherer Anzahl von Makrophagen, T-Helferzellen, Killerzellen sowie höheren Antikörpertitern ein eher leichter und kürzerer Krankheitsverlauf mit guter Prognose entwickelt. Bei Patienten mit insuffizienter Immunantwort und Viruselimination entwickeln sich eher Autoimmunprozesse mit T-Zell-Aktivität und schlechter Prognose als progrediente DCM (49).

So muß in größeren randomisierten Studien bei Patienten mit chronisch-persistierenden autoimmunologischen Prozessen erst der Vorteil der Immunsuppression überprüft werden. Dazu muß eine komplette immunhistochemische und molekularbiologische Diagnostik vorliegen, um Patienten mit / ohne Viruspersistenz sowie mit / ohne Autoimmunaktivität zu

differenzieren. Bei der Indikation zur Therapie ist der Zeitfaktor von entscheidender Bedeutung, da in frühen Stadien bei eventuell anhaltender Virusaktivität Immunsuppression mit besonderen Risiken verbunden ist und Spontanremissionen unter symptomatischer Therapie abgewartet werden müssen, in späteren Stadien bei schwer eingeschränkter Pumpfunktion eine Normalisierung eher selten erreicht wird (45).

Andere denkbare Therapieansätze wie Behandlungen mit Zytokinen, T-Zellantikörpern, Virustatika, Cyclosporin und Interferon sind sämtlich für einzelne Patienten mit chronisch-persistierenden Autoimmunprozessen denkbar, aber hinsichtlich ihrer Effektivität nicht belegt und nicht in der alltäglichen Routine angewandt worden (45, 48).

Zur Therapie mit Immunglobulin liegen nur wenige Studienergebnisse vor, die Vergleiche mit der Immunglobulin-Substitution nach Immunadsorption zulassen. Eine Mitteilung über hämodynamische Verbesserungen unter Immunglobulintherapie beschreibt zehn Patienten mit sog. „idiopathischer“ DCM der NYHA Klassen III und IV mit einer EF<40% bei einer Krankheitsdauer von unter 6 Monaten, die mit einer Immunglobulindosis von 2g / kg Körpergewicht behandelt wurden. Dabei lagen histologisch sowohl Borderline-Myokarditis, andere entzündliche wie auch fehlende Infiltrationen vor. Mit Ausnahme eines verstorbenen Patienten stieg bei allen Patienten deutlich die linksventrikuläre EF an mit entsprechender Verbesserung des NYHA-Schweregrades auf I bis II.

Diese positiven Ergebnisse werden allerdings dadurch eingeschränkt, da es sich um eine kleine Fallzahl handelte, immunhistochemische Kriterien nicht untersucht wurden, Patienten mit Myokarditis nicht ausgeschlossen wurden und keine Vergleichsgruppe existierte (51).

Die Immunadsorption mit Immunglobulin-Substitution stellt heute für Patienten mit schwer eingeschränkter Pumpfunktion bei DCM eine sichere und effektive Behandlungsalternative dar.

Alle Patienten der IA-Gruppe haben die Behandlung gut vertragen. Es wurden keine größeren Komplikationen wie Infektionen, Blutungen oder Störungen der Nierenfunktion beobachtet. Bei weiterer Verbreitung dieser heute noch alternativen Therapie ist der hohe medizintechnische und personelle sowie finanzielle Aufwand zu berücksichtigen.

Es kann heute noch nicht die Frage beantwortet werden, bei welchen Patienten mit DCM der größte Behandlungserfolg nach Immunadsorption zu erwarten ist. Es wird vermutet, daß Zusammenhänge zwischen hoher immunhistochemischer Aktivität (CD3, CD8 und LCA) sowie hohen Autoantikörpertitern und Verbesserungen der Pumpfunktion bestehen, wie es entsprechend der Autoimmunpathogenese zu erwarten ist. Bei Bestätigung dieser These könnten so in Zukunft geeignete Patienten zur Immunadsorption ausgewählt werden.

5. Zusammenfassung

Die dilatative Kardiomyopathie ist durch Dilatation und Kontraktilitätsstörung des linken oder beider Ventrikel verursacht (1). Für diese bedeutsame Gruppe von Patienten, die unter Symptomen der Herzinsuffizienz in unterschiedlicher Ausprägung leidet, gibt es zur Zeit neben den medikamentös-konservativen Behandlungsmöglichkeiten bei Progredienz der Erkrankung keine befriedigenden Behandlungsalternativen.

Bei Patienten mit DCM bestehen Störungen der humoralen und zellulären Immunität mit Bildung verschiedener kardialer Autoantikörper. Diese Antikörper wirken z. T. kardiodepressiv und könnten eine Rolle bei der Pathogenese der DCM spielen (26 - 33).

Die Immunhistochemie ermöglicht die Darstellung und Differenzierung von immunologisch aktiven Zellen sowie von vermehrter HLA-Expression. Damit wird neben dem Nachweis von kardialen Autoantikörpern der aktive immunologische Prozeß beschrieben.

Die Immunadsorption mit Immunglobulin-Substitution beeinflusst bei Patienten mit DCM den chronisch entzündlichen Prozeß und es wird eine Verbesserung der Pumpfunktion sowie klinischen Symptomatik beobachtet.

In einer Pilotstudie zur IA sind signifikante Verbesserungen der Hämodynamik von Patienten mit DCM und signifikante abnehmende β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertiters belegt (60, 61).

In der vorliegenden Arbeit wurden neben dem Einfluß der IA und Immunglobulin-Substitution auf den β_1 -Rezeptor-Autoantikörpertiters signifikante histomorphologische Veränderungen (CD 3-, CD 4-, CD 8-markierte Lymphozyten sowie LCA-markierte Leukozyten neben markierten HLA-Klasse II-Molekülen) nachgewiesen, die eine Abnahme der immunologischen Aktivität bedeuten. Diese Veränderungen markieren den Einfluß der Behandlung auf das zelluläre und humorale Immunsystem und führen zur Abnahme der antikardialen Autoreaktivität. Die Pathogenese der DCM wird durch IA und Immunglobulin-Substitution beeinflusst, indem sich strukturelle Veränderungen zurückbilden mit positiven Folgen für die Kontraktilität. Der Grad der Fibrose wurde im Beobachtungszeitraum nicht verändert.

Gleichzeitig zu den histomorphologischen Veränderungen wurde eine signifikante Verbesserung der linksventrikulären Pumpfunktion beobachtet, die zur Milderung der klinischen Symptomatik der Herzinsuffizienz als NYHA-Schweregrad führt.

Damit steht für Patienten mit DCM und schwer eingeschränkter Pumpfunktion neben konservativ-medikamentösen und chirurgischen Behandlungsmöglichkeiten eine effektive alternative risikoarme wenn auch aufwendige Therapie zur Verfügung.

6. Literatur

1. Richardson P, McKenna W, Bristow M et al. Report of the 1995 World Health Organization / International Society and Federation of Cardiology Task Force on the definition and classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996; 93: 841-842
2. Maisch B. Einteilung der Kardiomyopathien nach der WHO/ISFC Task Force - Mehr Fragen als Antworten? *Med Klin* 1998; 93; 199-209)
3. Thierfelder L. Genetik der dilatativen Kardiomyopathie *Med Klin* 1998; 93: 210-214
4. Ho KK, Pinsky JL, Kannel WB, Levy D. The epidemiology of heart failure: the Framingham-study. *J Am Coll Cardiol* 1993; 22: 6-13
5. Cowie MR, Mostered A, Wood DA, Deckers JW, Poole-Wilson PA, Sutton GC, Grobbee DE. The epidemiology of heart failure. *Eur Heart J* 1997; 18: 208-225
6. Cowie MR, Wood DA, Coats AJS et al. Incidence and aetiology of heart failure. *Eur Heart J* 1999; 20: 421-428
7. Mostered A. Heart failure in the population a large; news from the real world. *Eur. Heart J* 1999; 20: 398-399
8. Mostered A, Hoes AW, de Bruyne MC et al. Prevalence of heart failure and left ventricular dysfunction in the general population. *Eur Heart J* 1999; 20: 447-455
9. The Task Force on Heart Failure of the European Society of Cardiology. Guidelines for the diagnosis of heart failure. *Eur Heart J* 1995; 16: 741-751
10. Schmailzl KJG (Hrsg.) *Kardiale Ultraschalldiagnostik, Handbuch und Atlas*, Blackwell Wissenschaft, Berlin 1994

11. Erbel R et al. Möglichkeiten und Grenzen der zweidimensionalen Echokardiographie in der quantitativen Bildanalyse. *Z Kardiol* 1978; 78 (Suppl 7): 131-142
12. Sakakibara S, Konno S. Endomyokardial biopsy. *Jpn Heart J* 1962; 3: 537
13. Deckers JW, Hare JM, Baugham KL. Complications of transvenous right ventricular endomyokardial biopsy in adult patients with cardiomyopathy: a seven-year survey of 546 consecutive diagnostic procedures in a tertiary referral center. *J Am Coll Cardiol* 1992; 19: 43-47
14. Aretz H, Billingham M, Edwards W, et al. Myokarditis: a histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol* 1986; 1: 3-14
15. Mall G. Morphologie der Myokarditis. *Internist* 1995; 36: 426-429
16. The Task Force of the Working Group on Heart Failure of the European Society of Cardiology. The treatment of heart failure. *Eur Heart J* 1997; 18: 736-753
17. Hoppe UC, Erdmann E. Leitlinien zur Therapie der chronischen Herzinsuffizienz. *Deutsche Gesellschaft für Kardiologie* 1999: 1-14
18. The Consensus Trial Study Group. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure; results of the cooperative North Scandinavian enalapril survival study. *N Engl J Med* 1987; 316: 1429-1436
19. Hjalmarson A, Goldstein S et al. Rationale, design and organization of metoprolol CR/Zok randomized intervention trial in heart failure (MERIT-HF). *Am J Cardiol* 1997; 80: 54-58
20. Kuck KH et al. ICD versus drugs in cardiac arrest survivors: preliminary results of the cardiac arrest study Hambur. *PACE* 1993; 16: 552-558

21. Hochleitner M, Hortnagl H et al. Usefulness of physiologic dual-chamber pacing in drug resistant idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol* 1990; 66: 198-202
22. Kriet JM, Kaye MP. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Eighth Official Report. *J Heart Lung Transplant* 1991; 10: 491 ff.
23. Maisch B, Schönian U, Herzum M, Hufnagel G. Immunserologische und immunhistologische Untersuchungen bei Myokarditis und Perikarditis. *Internist* 1995; 36: 448-457
24. Schwimmbeck PL, Badorff C, Schultheiss HP, Strauer BE. Transfer of human myokarditis into severe combined immunodeficiency mice. *Circ-Res* 1994; 75: 156-164
25. Limas CJ, Goldenberg IF, Limas C. Soluble interleukin-2 receptor levels in patients with dilated cardiomyopathy. Correlation with disease severity and cardiac autoantibodies. *Circulation* 1995; 91: 631-634
26. Schulze K, Becker BF, Schauer R, Schultheiss HP. Antibodies to ADP-ATP carrier – an autoantigen in myocarditis and dilated cardiomyopathy – impair cardiac function. *Circulation* 1990; 81: 959-969
27. Caforio AL, Grazzini M, Mann JM et al. Identification of alpha- and beta-cardiac myosin heavy chain isoforms as major autoantigens in dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1992; 85: 1734-1742
28. Limas CJ, Goldenberg IF, Limas C. Autoantibodies against beta-adrenoceptors in human idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circ-Res* 1989; 64: 97-103

29. Magnusson Y, Wallukat G, Waagstein F et al. Autoimmunity in idiopathic dilated cardiomyopathy. Characterization of antibodies against the beta 1-adrenoceptor with positive chronotropic effect. *Circulation* 1994; 89: 2760-2767
30. Fu ML, Schulze W, Wallukat G, Hjalmarson A, Hoebeke J. A synthetic peptide corresponding to the second extracellular loop of the human M2 acetylcholine receptor induces pharmacological and morphological changes in cardiomyocytes by active immunization after 6 month in rabbits. *Clin-Immunol-Immunopathol* 1996; 78: 203-207
31. Wallukat G, Wollenberger A. Effects of serum gamma globulin fraction in patients with allergic asthma and dilated cardiomyopathy on chronotropic β -adrenoceptor function in cultured neonatal rat heart myocytes. *Biomed Biochem Acta* 1987; 46: 634-639
32. Wallukat G, Morwinski R et al. Autoantibodies against the β -adrenergic receptor in human myocarditis and dilated cardiomyopathy: β -adrenergic agonism without desensitization. *Eur Heart J* 1991; 12 (Suppl D): 178-181
33. Wallukat G, Wollenberger A, Morwinski R, Pitschner HF. Anti- β_1 -adrenoreceptor autoantibodies with chronotropic activity from the serum of patients with dilated cardiomyopathy: mapping of epitopes in the first and second extracellular loops. *J Mol Cell Cardiol.* 1995; 27: 397-406
34. Fu ML, Schulze W, Wallukat G et al. Functional epitope analysis of the second extracellular loop of the human muscarinic acetylcholine receptor. *J Mol Cell Cardiol.* 1995; 27: 427-436
35. Schulze K, Becker BF, Schultheiss HP. Antibodies to the ADP/ATP-carrier - an autoantigen in myocarditis and dilated cardiomyopathy – Impair cardiac function. *Circ Res* 1990; 81: 959-969

36. Schultheiss HP. The signification of autoantibodies against the ADP/ATP-carrier for the pathogenesis of myocarditis and dilated cardiomyopathy – clinical and experimental data. *Springers Seminars in Immunopathologie* 1989; 11:15-30
37. Maisch B. Local cardiac response – Alternative methods to control. *Am J Cardiol* 1991; 67: 6C-10C
38. Matsumori A, Yamada T et. al. Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy. *Br Heart J* 1994; 72: 561-566
39. Kawai C. From Myokarditis to cardiomyopathy: Mechanisms of inflammation and cell death. *Circulation* 1999; 99: 1091-1100.
40. Limas CJ, Goldenberg IF, Limas C: Soluble interleukin-2 receptor levels in patients with dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1995; 91: 631-634.
41. Kühl U, Noutsias M, Schultheiss HP. Immunohistochemistry in dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1995;16; 100-106)
42. Kühl U, Seeberg B, Schultheiss HP, Strauer BE. Immunohistological characterization of infiltrating lymphocytes in biopsies of patients with clinically suspected dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1994; 15: 62-67
43. Noutsias M, Seeberg B, Schultheiss HP, Kühl U. Expression of cell adhesion molecules in dilated Cardiomyopathy. Evidence for endothelial activation in inflammatory cardiomyopathy. *Circulation* 1999; 99: 2124-2131
44. Kühl U, Pauschinger M, Schultheiss HP. Neue Konzepte zur Diagnostik der entzündlichen Herzmuskelerkrankung. *Dtsch med Wschr* 1997; 122: 690-698
45. Kühl U, Pauschinger M, Schultheiss HP. Ätiopathogenetische Differenzierung der entzündlichen Kardiomyopathie. *Internist* 1997; 38: 590-601

46. Pauschinger M, Kühl U, et al. Nachweis enteroviraler RNA in endomyokardialen Biopsien bei inflammatorischer Kardiomyopathie und idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie. *Z. Kardiol* 1998; 87: 443-452.
47. Kandolf R, Klingel K et al. Molecular studies on enteroviral heart disease: patterns of acute und persistent infections. *Eur Heart J* 1991; 12: 49-55.
48. Kandolf R. Enterovirale Myokarditis und dilatative Kardiomyopathie. *Med Klin* 1998; 93: 215-222
49. Mason JW, O'Connell JB, Herskowitz A et al. A clinical trial of immunosuppressive therapy for myocarditis. The Myocarditis Treatment Trial. *N Engl J Med* 1995; 333: 269-275
50. Kühl U, Schultheiss HP. Treatment of chronic myokarditis with corticosteroids. *Eur Heart J*. 1995; 16: 168-172
51. McNamara DM, Rosenblum WD, Janosko KM, Trost MK, Villaneuva FS, Demetris AJ, Murali S, Feldmann AM. Intravenous immune globulin in the therapy of myokarditis and acute cardiomyopathy. *Circulation* 1997; 95: 2476-2478
52. Schultheiss HP, Kühl U, Janda I, Schanwell M, Strauer BE. Immunsuppressive Therapie der Myokarditis? *Herz* 1992;17: 112-121
53. Bygren P, Freiburghaus C, Lindholm T et al. Goodpasture's Syndrome treated with staphylococcal protein A immunoabsorption. *Lancet* 1985; 2: 1295-1296
54. Palmer A, Gjørstrup P, Severn A, Welsh K, Taube D. Treatment of systemic lupus erythematosus by extracorporeal immunoabsorption. *Lancet* 1988; 2: 272
55. Suzuki K, Hara M, Harigai M. Continuous removal of anti-DNA antibody, using a new extracorporeal immunoabsorption system in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 1546-1552

56. Shibuya N, Sato T, Osame M et al. Immunoabsorption therapy for myasthenia gravis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1994; 57: 578-581
57. Richter WO, Jacob BG et al. Three-year treatment of familial heterozygous hypercholesterolemia by extracorporeal low-density lipoprotein immunoabsorption with polyclonal apolipoprotein B antibodies. *Metabolism* 1993; 42: 888-894
58. Dörffel W, Felix SB et al. Short-term hemodynamic effects of immunoabsorption in dilated Cardiomyopathy. *Circulation* 1997;95: 1994-1997
59. Wallukat G, Reinke P et al. Removal of autoantibodies in dilated cardiomyopathy by immunoabsorption. *Int J Cardiol* 1996; 54: 191-196
60. Felix SB, Staudt A et al. Immunohistological changes in dilated cardiomyopathy induced by immunoabsorption therapy and subsequent immunoglobulin substitution. *Circulation* 2001
61. Felix SB, Staudt A et al. Hemodynamic effects of immunoabsorption and subsequent immunoglobulin substitution in dilated cardiomyopathy: Three-month results from a randomized study. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1590-1598
62. Dwyer J. Manipulating the immune system with immune globulin. *N Engl J Med* 1992; 326: 107-116
63. Yu Z, Lennon VA et al. Mechanism of intravenous immunoglobulin therapy in antibody-mediated autoimmune diseases. *N Engl J Med* 1999; 340: 227-228
64. Müller J, Wallukat G, Dandel M et al. Immunoglobulin adsorption in patients with idiopathic dilated Cardiomyopathy. *Circulation* 2000; 101: 385-391
65. Müller J, Wallukat G, Wenig G et al. Weaning from mechanical cardiac support in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1997; 96: 542-549

66. Pauschinger M, Knopf D, Petschauer et al. Dilated cardiomyopathy is associated with significant changes in collagen type I/II ratio. *Circulation* 1999; 99: 2750-2756

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.

Danksagung

Hiermit danke ich Herrn Prof. Dr. sc. Felix für die Vergabe des Themas sowie in besonderem Maße Herrn Prof. Dr. sc. Baumann für seine Unterstützung.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. Staudt für die Einarbeitung in die Problematik, ständige Anleitung und Hilfe sowie wertvolle Hinweise bei der Erstellung der Arbeit.

Lebenslauf

Persönliche Daten:

Name: Michael Sachse
 Geburtsdatum: 18. Juli 1957
 Geburtsort: Potsdam
 Anschrift: Ullrich-von-Hutten-Str. 5, 14473 Potsdam
 Familienstand: verheiratet, 3 Kinder (19, 16 und 9 Jahre alt)
 Staatsangehörigkeit: deutsch

Bildungsweg:

1964 bis 1976 Polytechnische Oberschule und Abitur an Erweiterter
 Oberschule
 1978 bis 1984 Studium Humanmedizin an der Universität Rostock
 1983 Staatsexamen
 1984 Abschluß als Diplommediziner und Approbation
 1984 bis 1988 Facharztausbildung für Innere Medizin am
 St. Josefskrankenhaus Potsdam

Berufstätigkeit:

1976 und 1978 Vorpraktikum als Hilfspfleger
 1976 bis 1978 Grundwehrdienst
 1983 bis 1984 6. Studienjahr an der Universität Rostock
 1984 bis 2001 Assistenzarzt in der Inneren Abteilung des St.
 Josefskrankenhauses Potsdam
 seit 1993 Notarzt und stellv. Ärztlicher Leiter Rettungsdienst im
 Landkreis Potsdam-Mittelmark
 ab 2001 Oberarzt in der Klinik für geriatrische Rehabilitation des
 Luise-Henrietten-Stifts Lehnin