

# 1 EINLEITUNG

Die vorliegende Arbeit hat zum Ziel, bei schwerer chronischer Herzinsuffizienz, Herzoperationen mit extrakorporaler Zirkulation und nach Herztransplantation Regulationsmuster von Zytokinen und ihre Beziehung zur kardialen Pumpfunktion zu untersuchen. Dabei soll geklärt werden, ob bei den drei klinisch und pathophysiologisch unterschiedlichen Situationen vergleichbare Regulationsmuster von Zytokinen und Korrelationen mit der kardialen Pumpfunktion bestehen, ob diese sich mit den verfügbaren Daten über kardiovaskuläre Zytokinwirkungen in Übereinstimmung bringen lassen, und ob eine pathophysiologische Interpretation möglich ist.

Die Analyse der Zytokine *in-vivo* ist wegen der Komplexität ihrer Vernetzung schwierig. Jedoch können *in-vitro*-Studien, die die Effekte von Zytokinen in isolierten Zellpopulationen untersuchen, oft die physiologischen und pathologischen Zytokin-Effekte im komplexen Gesamtorganismus nicht vorhersagen (*Kishimoto 1994*). Insofern sind die Ergebnisse klinischer Studien mit Untersuchung verschiedener Zytokine und ihrer Rezeptoren auf der Ebene der messenger RNA (Transkription), des Proteins (Translation) und des biologisch aktiven Proteins (Funktion) (*Rose 1993*) und experimenteller Studien komplementär.

## 1.1 Zytokin-Netzwerk

### 1.1.1 Überblick

#### Charakterisierung

**Übersicht:** Obwohl der Beginn der Zytokin-Ära häufig in die späten sechziger Jahre gelegt wird (*David 1966, Bloom 1966, Dumonde 1969*), gehen die Wurzeln wesentlich weiter zurück. Der Nerven-Wachstumsfaktor wurde 1951 entdeckt (*Levi-Montalcini 1951*), das Interferon 1954 (*Nagano 1954*). Zytokine sind lösliche nichtimmunglobulinartige Proteine, die zusammen mit anderen Klassen von Signalmolekülen wie Hormonen, Neurotransmittern und Autakoiden (*Nathan 1991*) eine zentrale Rolle bei der Kommunikation, Proliferation und Differenzierung von Zellen vermutlich aller Lebewesen spielen. Sie nehmen eine zentrale Rolle bei der unspezifischen Entzündungsantwort und der antigen-spezifischen Immunantwort ein. Ihre Funktion ist die bidirektionale Kommunikation nicht nur zwischen verschiedenen Gruppen von Leukozyten, sondern auch zwischen Leukozyten und parenchymatösen Zellen des Körpers. Sie üben ihren Einfluß durch Bindung an spezifische Rezeptoren, entweder in autokriner oder parakriner Weise, aus. Dabei sind ihre drei Hauptwirkungen der Differenzierung/Aktivierung, Gewebszerstörung (Zelltod=Apoptose) und Regulation zu unterscheiden. Ausführliche Übersichten über Zytokinwirkungen finden sich in jüngerer Literatur (*O'Garra 1989 a,b, Arai 1990, Nathan 1991, Rees 1992, Oppenheim 1994, Kishimoto 1994, Paul 1994*).

**Wandel des Zytokin-Konzeptes:** Bis vor relativ kurzer Zeit arbeiteten Forschergruppen in der Immunologie (über Interleukine), in der Virologie (über Interferone), in der Hämatologie (über Kolonie-stimulierende Faktoren) und in der Zellbiologie (über Peptid-Wachstumsfaktoren) in relativer Isolierung von der Entwicklung in den jeweils anderen genannten Disziplinen. Aus dieser Phase der Zytokin-Forschung stammen Vorstellungen über die Rolle von Zytokinen, welche heutzutage nicht mehr haltbar sind. Dazu zählt

1) die Annahme, daß ein Zytokin im wesentlichen in dem Bereich seine biologischen Wirkungen ausübt, in dem es entdeckt wurde,

2) die Annahme, daß eine Art Zytokin im wesentlichen von einer bestimmten Zellsorte produziert wird,

3) die Annahme, daß ein Zytokin eine Hauptwirkung besitzt, die sich in seiner Namensgebung ausdrückt,

4) die Annahme, daß ein Zytokin entweder als Inhibitor oder als Stimulator kategorisiert werden kann,

5) die Annahme, daß ein Zytokin eine Reihe von zusätzlichen biologischen Aktivitäten hat, welche miteinander in einer offensichtlichen Weise zusammenhängen.

Von diesem Standpunkt aus betrachtet, befindet sich die Zytokin-Forschung in einem Zustand größter Unordnung. Die meisten Zytokine stammen von anscheinend nicht verwandten Zelltypen. Die meisten Zytokine besitzen biologische Eigenschaften, die so unterschiedlich erscheinen, daß kein Zusammenhang erkennbar ist. Diese Eigenschaften schließen gewöhnlich die Fähigkeiten, Zellproliferation und -differenzierung sowohl zu fördern als auch zu hemmen, ein. Die meisten Eigenschaften, die von einem gegebenen Zytokin ausgeübt werden, können auch von anderen übernommen werden. Viele Zytokine, die nach der Geburt bekannte Wirkungen ausüben, spielen eine gänzlich andere oder unbekanntere Rollen in der Embryonalentwicklung. Wenn wir die Aminosäuresequenz und sämtliche Eigenschaften eines Zytokins kennen, können wir dennoch nicht voraussagen, zu welchem Zeitpunkt und an welchem Ort dieses Zytokin weitere Wirkungen entfaltet. Diese Erkenntnis ist gleichbedeutend mit der Feststellung, daß unser gegenwärtiges Konzept über Zytokine unzulänglich ist. In dieser Situation ist vorgeschlagen worden, Zytokine als spezialisierte Symbole in einer Sprache der interzellulären Kommunikation aufzufassen, deren Bedeutung durch den jeweiligen Kontext definiert wird (*Sporn 1988, Kenyon 1989, Nathan 1991*) und deren zentrale Rolle die Kontrolle des Remodelling von Geweben, sowohl des entwicklungs-geschichtlich programmierten, des konstitutiven als auch des unvorhergesehenen Remodellings, ist (*Nathan 1991*). Innerhalb dieses Kontextes wird versucht werden, die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zu interpretieren.

**Differentielle Zytokin-Aktivierungsmuster:** Bestimmte Signalmuster führen zu unterschiedlichen, differentiellen, Aktivierungsmustern von Zytokinen, die auf einer differentiellen Gen-Aktivierung im Kern der Zytokin-produzierenden Zelle beruhen. Entsprechend der Differenzierung von T-Zellen in T<sub>H</sub>1- und T<sub>H</sub>2-Zellen mit unterschiedlichen Zytokin-Produktionsmustern, dem T<sub>H</sub>1-Muster (Interleukin-2, Interferon- $\gamma$ , Tumor-Nekrose-Faktor- $\beta$ ) oder dem T<sub>H</sub>2-Muster (Interleukin-4, Interleukin-5, Interleukin-6, Interleukin-10, Interleukin-13), hat sich ein dichotomes Konzept einer differentiellen Aktivierung zweier Zytokin-Regulationsmuster in der Immunantwort entwickelt (*Mosmann 1986, Salgame 1991*): Der Haupteffekt des Interferon- $\gamma$  ist die Zell-vermittelte Zytotoxizität, die eine protektive Wirkung gegen mikrobielle Infektionen wie *Leishmania* ausübt, während der Haupteffekt des T<sub>H</sub>2-Musters die Stimulation der Anti-

körperproduktion ist, welche am angemessensten gegen extrazelluläre Mikroben wirken (*O'Garra 1989b, Paul 1994*). Ein zweiter wichtiger Aspekt des T<sub>H</sub>2-Musters ist möglicherweise die Milderung von gewebeschädigenden Wirkungen der Immunantwort, die von T<sub>H</sub>1-Zellen vermittelt werden. Der Mechanismus, über den sich Vorläufer-T-Zellen in die eine oder andere Richtung entwickeln, ist bislang nicht bekannt. Eine transkriptionelle Kontrolle, u.a. im Bereich des Interleukin-4-Promoters, ist wahrscheinlich (*Bruhn 1993, Todd 1993*). Dabei stammen die phänotypisch unterscheidbaren T<sub>H</sub>1- und T<sub>H</sub>2-Zellen nicht von unterschiedlichen T-Zelllinien ab, sondern von einer Interleukin-2-produzierenden CD4<sup>+</sup>-Vorläufer-T-Zelle mit Entwicklungspotential in beide Richtungen (*Sad 1994*). In jedem Falle ist die Differenzierungsrichtung gebunden an das „Kontroll-Ziel“ auf der Ebene des Gesamt-Organismus, eine maximale Elimination des infektiösen Agens, einen maximalen Gewebsschutz in der Autoimmunität und maximale Anti-Tumor-Immunität zu erreichen (*Paul 1994*).

**Pleiotrope Wirkung:** Die Wirkung von Zytokinen ist pleiotrop, d.h. jedes bislang identifizierte Zytokin besitzt eine Reihe verschiedener biologischer Funktionen. Dabei kann ein einziges Zytokin je nach dem Zielzelltyp sowohl als positives Signal als auch als negatives Signal wirksam sein (*Kishimoto 1994*).

**Redundante Wirkung:** Wird die Wirkung eines Zytokines spezifisch blockiert, so wird in einer Vielzahl von Situationen dessen Wirkung ersatzweise von einem anderen Zytokin übernommen (*Kishimoto 1994*).

**Temporäre Aktivierung:** Die Aktivität von Zytokinen ist induzierbar durch spezifische Signalmuster und von vorübergehender Natur. Die Rolle von Zytokinen bei der physiologischen, d.h. konstitutiven Beeinflussung von Zelldifferenzierung und -proliferation, z.B. im Bereich der normalen Zellreifung, ist Gegenstand intensiver Forschung.

### Wirkprofile einzelner Zytokine

**Interleukin-1 (Tabelle 1.1.1A):** 1972 wurde ein Faktor entdeckt, der im Mäuse-Modell die Proliferation von Thymozyten durch Kultur-Überstände von menschlichen peripheren Blutlymphozyten bewirkte (*Gery 1972*). Als bis 1976 weitere Wirkungen dieses „Monokins“ beschrieben wurden, wurde auf dem Zweiten Internationalen Lymphokin-Workshop 1979 der Begriff Interleukin-1 vorgeschlagen (*O'Garra 1989a*).

Interleukin-1 ist verantwortlich für eine Reihe von biologischen Aktivitäten. Als ein Produkt von Makrophagen spielt es eine wichtige Rolle bei der Aktivierung von T-Lymphozyten, indem es die Produktion von Interleukin-2 verstärkt und die Expression von Interleukin-2-Rezeptoren auf T-Zellen, die durch Antigenen via den T-Zell-Rezeptor aktiviert sind, induziert. Diese Wirkung erlaubt es den antigen-stimulierten T-Zellen, sich rasch zu vermehren. Makrophagen sind an diesem Prozeß durch Antigen-Präsentation gegenüber der T-Zelle und Produktion von Interleukin-1 beteiligt. Dabei sind zwei Differenzierungsmuster zu unterscheiden: Während die Proliferation von klonierten T-Zelllinien, die zur T<sub>H</sub>2-Untergruppe gehören, die die Zytokine Interleukin-4, Interleukin-5, Interleukin-6, Interleukin-10 und Interleukin-13 produziert, durch Interleukin-1 gefördert wird, trifft dies nicht für T<sub>H</sub>1-Zellen zu, die Interleukin-2 und Interferon- $\gamma$  produzieren (*Kurt-Jones 1985, O'Garra 1989a*).

Es finden sich auch bedeutsame Wirkungen von Interleukin-1 auf B-Zellen. Interleukin-1 scheint mit anderen Zytokinen wie Interleukin-4 bei der Aktivierung von B-Zellen zur Proliferation und Produktion von Immunglobulinen zu kooperieren. Einige dieser Effekte sind möglicherweise durch Induktion von Interleukin-6, welches ein B-Zell-Differenzierungs-Zytokin ist, zu erklären.

Interleukin-1 fördert insgesamt die Freisetzung von weiteren Zytokinen aus Monozyten, Makrophagen, aktivierten T-Zellen, Endothelzellen, Fibroblasten, Granulozyten, Stromazellen des Knochenmarks, von Akut-Phase-Proteinen aus Hepatozyten, von Prostaglandin E<sub>2</sub>, Kollagenasen, und Phospholipase A<sub>2</sub> aus verschiedenen Zelltypen, die Proliferation von B-Zellen, das Wachstum von Fibroblasten und Endothelzellen, die Erhöhung der Natural-Killer-Zell-Aktivität und die Expression von Adhäsionsmolekülen auf der Oberfläche von Endothelzellen, was zu einer verstärkten Anheftung von Neutrophilen, Monozyten und Lymphozyten führt (*Arai 1990*). Interleukin-1 induziert die Synthese von Prostaglandinen (*O'Garra 1989a*). Interleukin-1 ist als Pyrogen, d.h. Fiebererzeuger, beschrieben (*Dinarelo 1984*).

**Interleukin-2 (Tabelle 1.1.1A):** Interleukin-2 wurde durch seine Aktivität als T-Zell-Wachstumsfaktor entdeckt (*Morgan 1976*). Interleukin-2 wird vorwiegend durch Helfer-T-Zellen 4-12 Stunden nach Stimulation durch Bindung eines Antigens am T-Zell-Rezeptor produziert. Die Bindung des Interleukin-2 an einem Rezeptor der T-Zelle führt zu einer Zellproliferation, einer verstärkten Sekretion von Zytokinen, einer erhöhten Expression von Membranrezeptoren für andere Wachstumsfaktoren (z.B. Transferrin-Rezeptor, Insulin-Rezeptor) und zur Expression von Major-Histo-Compatibility-Klasse-II-Molekülen. Obwohl die ursprüngliche Funktionsbeschreibung des Interleukin-2 sich an dem Wachstumsverhalten von T-Zellen in der Kultur orientierte, sind die inzwischen beschriebenen biologischen Effekte wesentlich ausgedehnter. Sie schließen Interaktionen mit Makrophagen, aktivierten B-Zellen, Natural-Killer-Zellen und anderen zytotoxischen Zellen ein und haben zum Einsatz des Interleukin-2 in der Immuntherapie von Malignomen und Infektionserkrankungen geführt (*O'Garra 1989a, Arai 1990*).

**Interleukin-2 Rezeptor (Tabelle 1.1.1A):** Der hochaffine 55 KDa-Interleukin-2-Rezeptor besteht aus zwei verschiedenen Polypeptidketten, jede mit einer IL-2-Bindungsstelle (*Teshigawara 1987*). Interleukin-2-Rezeptoren sind nachweisbar auf den meisten frisch isolierten T-Zellen und erscheinen asynchron nach polyklonaler Aktivierung des T-Zell-Rezeptors. Innerhalb von 3 Tagen nach Aktivierung exprimieren alle Zellen Interleukin-2-Rezeptoren. Danach nimmt der Grad der Rezeptor-Expression ab, möglicherweise als Ergebnis einer Herabregulation durch sezerniertes Interleukin-2, die Proliferation stagniert, und die Zellen kehren zur Ruhe-Phase des Zellzyklus zurück (*O'Garra 1989a*). Die Sekretion von löslichen (soluble) Interleukin-2-Rezeptoren in die Zirkulation führt zu einer negativen Rückkopplung der Interleukin-2-Produktion.

**Interleukin-6 (Tabelle 1.1.1A):** Das Zytokin Interleukin-6, welches auch als B-Zell-stimulierender Faktor-2 bezeichnet worden ist, wurde erstmals erwähnt im Zusammenhang mit seiner Fähigkeit, Antikörper-Produktion in aktivierten normalen und Epstein-Barr-Virus-transformierten menschlichen B-Zellen zu induzieren (*Hirano 1986*). Zusammen mit Interleukin-1 ist Interleukin-6 das beste Beispiel für ein Zytokin, welches verschiedene Immunantworten vermittelt und verschiedene Zellen reguliert. Auf hämatopoetischen Zellen und Stammzellen des

Knochenmarks stimuliert Interleukin-6 verschiedene Differenzierungsvorgänge. Als B-Zell-Wachstumsfaktor hat Interleukin-6 physiologische und pathophysiologische Bedeutung, so z.B. beim multiplem Myelom. Interleukin-6 kann als stimulierender Faktor für T-Zellen in verschiedenen Stadien fungieren. Z.B. kann Interleukin-6 die Proliferation von CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>- Thymozyten, die mit Interleukin-2 und Interleukin-4 costimuliert werden, bewirken. Bei reifen T-Zellen kann Interleukin-6 die Produktion von Interleukin-2 fördern. Interleukin-6 wirkt als Vermittler der Akut-Phase-Antwort der Leber. Eine inhibitorische Wirkung des Interleukin-6 auf die Lipopolysaccharid(LPS)-induzierte Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Produktion ist in kultivierten menschlichen Monozyten und im murinen Modell beschrieben worden (*Aderka 1989*). Da Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  als ein sehr wirksamer Stimulator für die Interleukin-6-Produktion gilt, kann diese Wirkung als ein Regelkreis mit negativer Rückkoppelung interpretiert werden. Eine Rolle im Nervensystem wird vermutet (*Arai 1990*). Eine lineare Korrelation von Interleukin-6-Spiegeln mit dem Lebensalter ist nachgewiesen (*Wei 1992*).

**Interferon- $\gamma$  (Tabelle 1.1.1A):** Ursprünglich wurde Interferon- $\gamma$  aufgrund seiner antiviralen Wirkung identifiziert. Interferon- $\gamma$  wird vorwiegend von aktivierten T-Zellen nach deren Exposition gegenüber Antigenen oder Mitogenen sowie von natürlichen Killer-Zellen sezerniert. Es ist strukturell und funktionell von Interferon- $\alpha$  und Interferon- $\beta$  zu unterscheiden (*Trinchieri 1985*). Interferon- $\gamma$  induziert die Expression von Klasse-II-Histokompatibilitäts-Molekülen auf Epithelzellen, Endothelzellen, Bindegewebe und Monozyten. Damit ermöglicht Interferon- $\gamma$  diesen Zellen, in der Antigen-Präsentation aktiv zu werden. Es fungiert darüberhinaus als ein sehr potenter Makrophagen-aktivierender Faktor für Tumorzell-Zytotoxizität (*Sherwin 1987*) und für die verstärkte Abtötung von Parasiten (*Seguin 1994*).

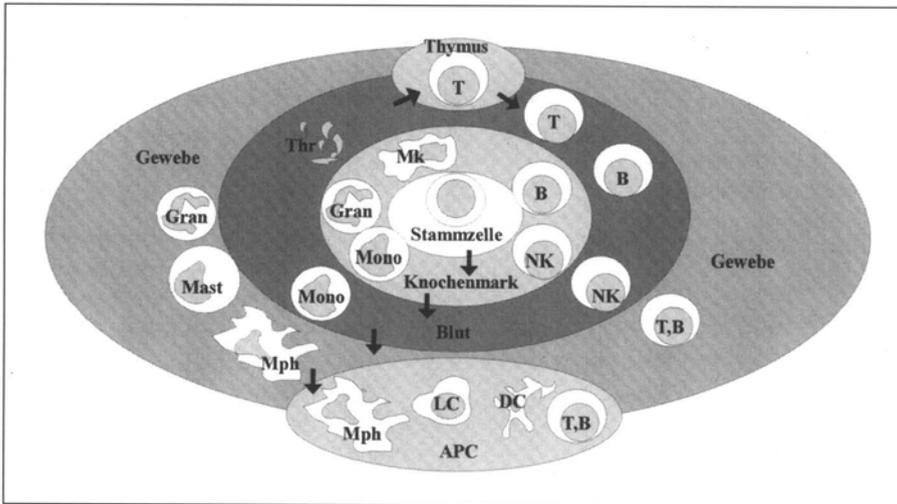
**Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (Tabelle 1.1.1A):** Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  wurde zuerst als Substanz beschrieben, die die Nekrose bestimmter Tumoren verursachte sowie zytotoxisch für eine Reihe transformierter Zelllinien war. Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  hat einen nachhaltigen Einfluß auf den zellulären Stoffwechsel und ist verantwortlich für Gewichtsverlust, Fieber sowie Akut-Phase-Antwort bei Infektion oder Malignomen. Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  ist ein extrem pleiotropes Zytokin. Es spielt eine wichtige Rolle in der normalen Immunabwehr gegenüber Infektionen und Malignomen, indem es als Immunostimulans und Mediator der Entzündungsantwort fungiert. Viele der durch Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  produzierten Wirkungen sind denen von Interleukin-1 ähnlich. Auf der anderen Seite wurde eine Überproduktion von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  in Verbindung gebracht mit pathologischen Situationen wie Kachexie, septischem Schock und Autoimmunerkrankungen wie Multiple Sklerose (*Arai 1990*).

**Tabelle 1.1.1A.** Wirkmechanismen einzelner Zytokine (+ = Förderung, - = Hemmung)

Zytokin	Produzierende Zellen	Wirkung	Literatur
IL-1	Fibroblasten Hautkeratinozyten T-Lymphozyten B-Lymphozyten Monozyten	Zytokinfreisetzung aus Monozyten, Makrophagen, T-Zellen, Endothelzellen Freisetzung von Akutphase-Proteinen aus Hepatozyten Prostaglandinfreisetzung aus verschiedenen Zellen	<i>O'Garra 1989</i> <i>Arai 1990</i> <i>Aggarwal 1992</i> <i>Kirchner 1993</i>
	Makrophagen NK-Zellen glatte Muskelzellen Gehirn-Astrozyten Mikroglia-Zellen	Proliferation von B-Zellen Wachstum von Fibroblasten und Endothelzellen Erhöhung der NK-Aktivität Knochenresorption + Hämatopoese + Wundheilung + Entzündung, Fieber +	
IL-2	T-Zellen	Antitumor + Antibakteriell + Antiviral + Allotransplantat-Abstossung + Verstärkung der Antikörperproduktion +	<i>O'Garra 1989</i> <i>Arai 1990</i> <i>Aggarwal 1992</i> <i>Kirchner 1993</i>
IL-6	T-Zellen Makrophagen Fibroblasten Astrozyten	Induktion der Akutphaseantwort + Megakaryozytenreifung +	<i>O'Garra 1989</i> <i>Arai 1990</i> <i>Aggarwal 1992</i> <i>Kirchner 1993</i>
TNF- $\alpha$	mononukleäre Phagozyten	Antitumor + Gewichtsverlust + Wundheilung + Entzündung, Fieber + Septischer Schock + Hämorrhagie + Antibakteriell + Antimalaria + Knochenresorption +	<i>O'Garra 1989</i> <i>Arai 1990</i> <i>Aggarwal 1992</i> <i>Kirchner 1993</i>
IFN- $\gamma$	aktivierte T-Zellen	Antiviral + Antitumor + Antiparasit Immunmodulation	<i>O'Garra 1989</i> <i>Arai 1990</i> <i>Aggarwal 1992</i> <i>Kirchner 1993</i>

### Vernetzung mit dem Immunsystem

**Zelluläre Elemente des Immunsystems:** Ein Netzwerk von Zellen des Organismus vermittelt verschiedene Prozesse einschließlich der Erkennung von „Selbst versus nichtselbst“, Elimination fremder Pathogene, Neutralisation von Toxinen und Abtötung von Tumorzellen (*Watson 1987, Stryer 1988, Cotran 1989, Alberts 1989, Arai 1990, Roitt 1991, Buddecke 1994*). Die Besonderheit des Immunsystems liegt in der Spezifität, deren Grundlage die spezifische zelluläre Erkennung einer Vielzahl von Antigenen ist. Die Spezifität ist eine Eigenschaft von zwei Klassen von Lymphozyten, der T-Zellen und der B-Zellen. Beide Zelltypen gehen vom Knochenmark aus, reifen jedoch in unterschiedlichen Organen (Abbildung 1.1.1A). Die molekulare Basis für die Spezifität ist in Rezeptormolekülen auf den Oberflächen jeder Zelle beheimatet.



**Abbildung 1.1.1A:** Ursprung der Zellen des Immunsystemes (nach Roitt 1991). Abkürzungen: T = T-Lymphozyten, B = B-Lymphozyten, NK = Natural-Killer-Zellen, Mk = Megakaryozyten, Thr = Thrombozyten, Gran = Granulozyten, Mono = Monozyten, Mph = Makrophagen, Mast = Mastzellen, APC = antigenpräsentierende Zellen, LC = Langerhans-Zellen, DC = dendritische Zellen

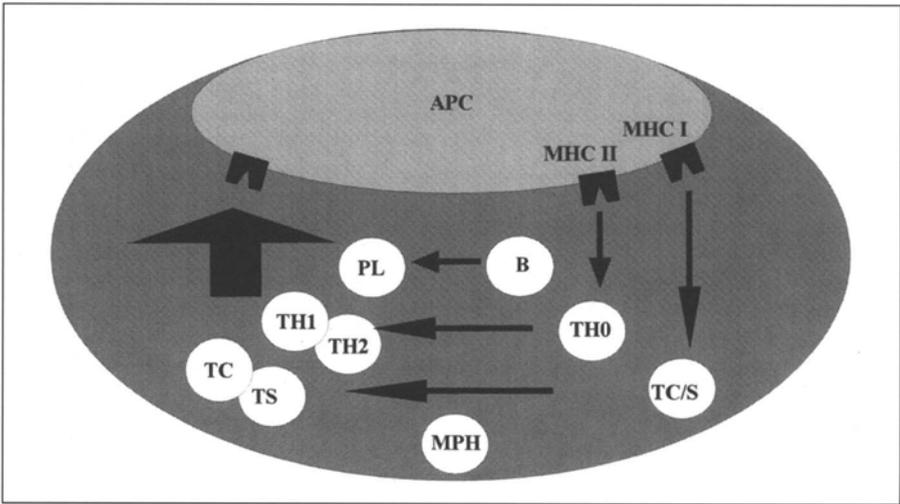
T-Lymphozyten sind verantwortlich für die zellvermittelte Immunantwort und für die Koordination der funktionellen Aktivierung verschiedener anderer Zelltypen einschließlich der B-Zellen. T-Zellen können in zwei Typen eingeteilt werden, die nach den Rezeptoren auf den Zelloberflächen unterschieden werden können. Die zytotoxischen oder Killer-T-Zellen können Viren und Tumorzellen zerstören. Der T-Zell-Rezeptor auf diesen Zellen erkennt Antigenstrukturen in Assoziation mit Klasse-I-Histokompatibilitäts-Komplex-Molekülen (MHC-Klasse-I). Die zweite Klasse von T-Zellen, die T-Helfer-Zellen, reguliert die Fähigkeit von B-Zellen zur Produktion und Sekretion von Immunglobulin-Molekülen, die sich ihrerseits mit Antigenstrukturen verbinden können. Die Rezeptoren auf der Oberfläche von T-Helfer-Zellen erkennen Antigenstrukturen im Zusammenhang mit MHC-Klasse-II-Molekülen.

B-Zellen sind Effektorzellen, die antigen-spezifische Immunglobulin-Moleküle produzieren und sezernieren, die eine lösliche (=humorale) Immunität vermitteln. B-Zellen besitzen auch Oberflächen-Immunglobuline, die als spezifische Antigenrezeptoren dienen.

Eine dritte Klasse von Zellen, die allerdings nicht die Fähigkeit zu spezifischer Erkennung von Antigenstrukturen besitzen, aber trotzdem von elementarer Bedeutung für das Funktionieren des Immunsystemes sind, sind die Makrophagen. Makrophagen, die wie die Lymphozyten dem Knochenmark entstammen, spielen eine essentielle Rolle im Prozeß der Antigen-Präsentation gegenüber den T-Zellen. Sie erlauben den T-Zellen die Erkennung von Antigen-Proteinen und stellen sowohl den T-Zellen als auch den B-Zellen die extrazellulären Signale zur Verfügung, die diese zu ihrer funktionellen Aktivierung benötigen.

**Rolle der Zytokine im Immunsystem:** Die Interaktion zwischen T-Zellen, B-Zellen und Makrophagen stellt das zentrale Geschehen in der Immunantwort dar.

Diese Interaktionen werden durch Zytokine koordiniert. Somit sind diese Bestandteil des zellulären Immunsystems sowie der humoralen, antikörper-vermittelten Immunantwort des Körpers (*O'Garra 1989a,b*). Die Produktion von Zytokinen ihrerseits kann in einer nicht-antigen-spezifischen Weise zur Beeinflussung anderer Zelltypen führen. Z.B. besitzen einige Zytokine eine chemotaktische Aktivität für neutrophile Granulozyten, die dadurch funktionell aktiviert werden und ihre eigenen Mediatoren produzieren. Auf diese Weise kann ein initial antigen-spezifischer Stimulus zu einer ausgedehnten Aktivierung von nicht-antigen-spezifischen Zellen führen, die in eine inflammatorische Reaktion einmündet. Diese kann wiederum die spezifische Immunantwort verstärken (Abbildung 1.1.1B).



**Abbildung 1.1.1B:** Das zelluläre Abwehrsystem des Körpers (nach *Rose 1993*). Abkürzungen: T = T-Lymphozyten, B = B-Lymphozyten, APC = antigenpräsentierende Zellen, MHC I = Major Histocompatibility Klasse I-Antigene, MHC II = Major Histocompatibility Klasse II-Antigene, TH0 = T-Helfer-0-Zellen, TH1 = T-Helfer-1-Zellen, TH2 = T-Helfer-2-Zellen, TC = T-cytotoxische Zellen, TS = T-suppressor-Zellen, TC/S = T-cytotoxische/suppressor-Zellen, PL = Plasmazellen

**Zytokine und Adhäsionsmoleküle des Immunsystems:** Die Interaktion von Zytokinen mit Adhäsionsmolekülen gehört zu den zentralen Mechanismen des Immunsystems. Drei Gruppen von Adhäsionsrezeptoren, die Immunglobulin-Superfamilie, die Integrine und die Selektine, sind zur Zeit abgrenzbar (*Springer 1990*). Eine Reihe von Interaktionen ist beschrieben. So induzieren z.B. Tumornekrose-Faktor- $\alpha$  und Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-Stimulierender-Faktor (GM-CSF) auf neutrophilen Granulozyten und Monozyten das Abwerfen („shedding“) einer Sorte von Adhäsionsrezeptor, nämlich dem Selektin Leukocyte-Adhesion-Molecule (LAM)-1 (synonym: MEL-14), während dieselbe Zelle gleichzeitig intrazelluläre Vorräte eines anderen Typs von Adhäsionsrezeptor, nämlich dem  $\beta$ 2-Integrin (CD11/CD18) mobilisiert (*Griffin 1990*). Dieses fungiert als Rezeptor für eine Reihe von Matrix-Proteinen (*Nathan 1989*).

**Rolle des Immunsystems im Herz-Kreislauf-System:** Dem Immunsystem wird nach neueren Befunden beim Verständnis kardiovaskulärer Erkrankungen eine

pathophysiologische Rolle zugeschrieben (*Schulze 1990, Schwimbeck 1994*). Bei chronischen entzündlichen Herzerkrankungen gehören Lymphozyten und Makrophagen zu den Hauptzelltypen, die den Herzmuskel infiltrieren. Dieser Prozeß wird initiiert durch Erkennung eines immunogenen Epitopes durch antigen-spezifische T-Lymphozyten. Es handelt sich um T-Helfer-Zellen (CD4+-Phänotyp), welche zur Antigen-Erkennung die Anwesenheit von histokompatiblen antigen-präsentierenden Zellen wie Makrophagen oder interstitiellen dendritischen Zellen erfordern (*Kurnich 1989*). Die Aktivierung von CD4+-T-Zellen resultiert in der Proliferation und Differenzierung von Untergruppen von Effektor-Lymphozyten. Diese zelluläre Amplifikation der Immunantwort, die sowohl lokal als auch systemisch abläuft, wird begleitet von der Freisetzung einer Reihe von inflammatorischen Zytokinen einschließlich Interferon- $\gamma$ , Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ , Interleukin-2, Interleukin-3 (IL-3), Interleukin-4 (IL-4), Interleukin-5 (IL-5), IL-6 und Interleukin-10 (IL-10). Diese Zytokine rekrutieren zusätzliche Lymphozyten und andere Zellen zum Ort der Antigen-Expression, induzieren die Proliferation und Differenzierung von B-Lymphozyten in Antikörper-sezernierende Plasma-Zellen und fördern die Proliferation und Differenzierung von Vorläufer(precursor)-T-Lymphozyten in zusätzliche CD4+-Zellen und zytotoxische CD8+-Zellen (*Gajewski 1989*). Die CD8+-Zellen heften sich nach Erkennung von Zellen, die das Antigen exprimieren, für welches die CD8+-Zelle spezifisch ist, an diese Zielzelle und zerstören sie durch Lyse der Zellmembran und DNA (*Young 1988*). Antigen-unabhängige Kaskaden des zellulären Immunsystems, welche die kardiovaskuläre Funktion beeinflussen, beruhen vorwiegend auf Makrophagen. Zytokine, die von aktivierten CD4+-Zellen freigesetzt werden, einschließlich Interferon- $\gamma$  und Macrophage Chemotactic Factor (MCF), rekrutieren Monozyten zum Ort der Antigen-Erkennung und fördern ihre Differenzierung in aktivierte Makrophagen. Aktivierte Makrophagen setzen eine Reihe von toxischen Molekülen, so z.B. reaktive Sauerstoff-Radikale, Proteasen und pleiotrope Zytokine wie Interleukin-1, Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ , Platelet-Derived-Growth-Factor (PDGF) und Transforming-Growth-Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) frei. Diese ihrerseits regulieren das Wachstum, die Funktion und Synthese von Matrix durch Nicht-Immun-Zellen (*Nathan 1987*). Dies hat möglicherweise bedeutende Implikationen für das Verständnis der Entstehung der Arteriosklerose.

**Eosinophile Zellen:** Andere Immunzellen können ebenfalls akute Herzmuskel-schädigungen verursachen. Die Infiltration des Myokards durch eosinophile Granulozyten führt zur Endomyokardfibrose und Löffler-Endokarditis. Diese Syndrome sind assoziiert mit einer nekrotisierenden Myokarditis und nachfolgenden Fibrose. Dies legt nahe, daß eosinophile Granulozyten möglicherweise kardiotoxisch sind (*Olsen 1985*).

**Neutrophile Zellen:** Neutrophile Granulozyten können ebenfalls zur kardiovaskulären Funktionsstörung durch Verstärkung von myokardialer Ischämie beitragen (*Entman 1991*).

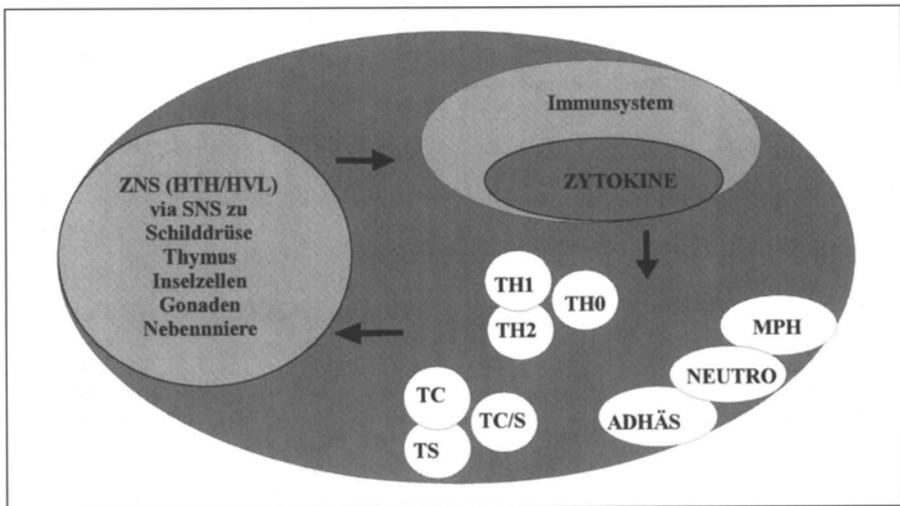
### Vernetzung mit dem Endothelsystem

Eine Reihe von wichtigen Interaktionen des Zytokin-Systemes mit dem Endothelsystem, welches immer mehr an Bedeutung in der Erklärung verschiedenster kardiovaskulärer Erkrankungen gewinnt, sind beschrieben. So findet sich eine Expression von Adhäsionsmolekülen auf venösen Endothelzellen durch verschiede-

ne Zytokine wie Interferon- $\gamma$ , Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  und Interleukin-1 $\beta$  (May 1992). Übersichten finden sich in der jüngeren Literatur (Arai 1990, Pober 1990, Meager 1991, Aggarwal 1992). Diese Interaktionen spielen in verschiedenen klinischen Situationen wie der Angina pectoris bei der Koronaren Herzkrankheit (siehe 1.1.2), beim Postperfusionssyndrom nach extrakorporaler Zirkulation und in der Organtransplantation (Hughes 1990) vermutlich eine pathophysiologische Rolle (Lefer 1990, Menasche 1994). So induzieren z.B. Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  und Interleukin-1 die Expression des Selectins Endothelial-Leukocyte-Adhesion-Molecule-1 (ELAM-1) auf Endothelzellen (Bevilacqua 1989). Dies ermöglicht „rollenden“ Granulozyten eine feste Interaktion mit den Endothelzellen („Sticking“), ein Durchwandern der Endothelzellschicht („Diapedese“) und die nachfolgende Freisetzung zytotoxischer Substanzen.

### Vernetzung mit dem endokrinen System

**Zytokine und sympathisches Nervensystem** (Abbildung 1.1.1C): Zunehmende Hinweise finden sich darauf, daß das Immunsystem unter der Kontrolle des sympathischen Nervensystemes steht.



**Abbildung 1.1.1C:** Das neuroendokrino-immunologische Netzwerk (nach Roitt 1991). Abkürzungen: T = T-Lymphozyten, TH0 = T-Helfer-0-Zellen, TH1 = T-Helfer-1-Zellen, TH2 = T-Helfer-2-Zellen, TC = T-cytotoxic-Zellen, TS = T-suppressor-Zellen, TC/S = T-cytotoxic/suppressor-Zellen, MPH = Makrophagen, Neutro = Neutrophile Granulozyten, ADHÄS = Adhäsionsmoleküle, SNS = sympathisches Nervensystem, RAS = Renin-Angiotensin-System, ZNS = Zentrales Nervensystem, HTH = Hypothalamus, HVL = Hypophysenvorderlappen

Anatomische Studien haben, sowohl im Bereich der Gefäße als auch des Parenchyms, eine ausgedehnte Versorgung von primären und sekundären lymphoiden Organen mit noradrenergen Nervenendigungen gezeigt (Del Ray 1981, Felten 1987). In diesen Geweben formen Lymphozyten und sympathische Nervenendigungen Kontakte in einer Entfernung, die kleiner ist als die in einer Synapse (San-

ders 1985, Felten 1987). Die Gegenwart von Oberflächenrezeptoren für sympathische Neurotransmitter macht die Lymphozyten empfänglich für Sympathikus-Stimulation. Die Rezeptoren sind vom  $\beta_2$ -Adrenozeptoren-Subtyp und koppeln an die Adenylatzyklase, um als zweiten Boten (second messenger) zyklisches Adenosin-Monophosphat (cAMP) zu formen (Brodde 1981, De Blasi 1981, Maisel 1989). Es ist bekannt, daß zyklisches Adenosin-Monophosphat die Mitogen- und Antigen-induzierte T-Zell-Proliferation und zytotoxische T-Lymphozyten-Funktion hemmen kann sowie zu einer Abnahme der Aktivität von Killer(natural killer)-Zell-Aktivität führen kann (Kammer 1988, Irwin 1988, Maisel 1990). Eine erhöhte Aktivität des Sympathischen Nervensystemes geht mit einer Veränderung der T-Suppressor-Funktion, Killer-(natural-killer)-Zell-Funktion, verringerter Mitogen-Antwortbereitschaft und Interleukin-2-Funktion einher (Bourne 1974, Fowles 1979, Eckstein 1982, Maisch 1983, Anderson 1985, Sanderson 1985, Sanders 1985, Yamakawa 1986, Yamakawa 1987, Maisch 1987, Maisel 1990, Takamoto 1991).

Als Produkte aktivierter Zellen des Immunsystemes fungieren Zytokine im Sinne von Botenstoffen, um die Immunantwort in der Entwicklung von Entzündung und Immunität zu koordinieren (Arai 1990, Muegge 1990). Eines der wichtigsten Zytokine, welches für die Proliferation von T-Lymphozyten verantwortlich ist, ist Interleukin-2. Dieses wird, wie oben beschrieben, von aktivierten Lymphozyten produziert und vermittelt seine Wirkung über den Interleukin-2-Rezeptor (Glaser 1990, Robb 1984, O'Garra 1990). Diese Interaktion scheint sehr stark durch die Aktivität des sympathischen Nervensystemes beeinflußt zu werden. Es konnte gezeigt werden, daß  $\beta$ -Agonisten die Expression von Interleukin-2 in aktivierten Zellen blockieren können (Feldman 1987). Weiterhin konnte gezeigt werden, daß die Sympathikus-Aktivierung durch körperliche Belastung die Expression von Interleukin-2-Rezeptoren hemmt (Murray 1992).

Andere Zytokine wie Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ , Interleukin-1 und Interferon- $\gamma$  sind nachweislich erhöht in Situationen von erhöhtem Sympathikustonus und möglicherweise unter der Kontrolle des sympathischen Nervensystemes (Kroemer 1991, Gulick 1989, Severn 1992, Levine 1990).

**Zytokine und Renin-Angiotensin-System:** Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  und Interleukin-1 sind potente Regulatoren des Renin-Angiotensin-Systemes (Horton 1989). Sie stimulieren die Renin-Sekretion, blockieren in Dosen von 5 U/l (Tumor-Nekrose-Faktor) bzw. 50 pg/ml (Interleukin-1) die inhibierende Wirkung von Angiotensin II auf Renin und die stimulierende Wirkung auf Aldosteron. Darüberhinaus stimuliert Interleukin-1 die Aldosteron-Sekretion.

**Zytokine und körperliche Belastung:** Während körperlicher Belastung finden sich eine erhöhte Produktion von Interleukin-1 $\beta$  im Muskelgewebe (Cannon 1989) sowie erhöhte Spiegel von Interleukin-1 $\beta$  (Evans 1986), Interleukin-6 (Northoff 1991) und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (Espersen 1990) im Plasma. Dem Interleukin-1 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  wird eine Muskelproteolyse-Wirkung zugeschrieben (Nawabi 1990). Weiterhin findet sich eine erhöhte in-vitro Produktion von Interleukin-1, Interleukin-6 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  in Überständen von Lipopolysaccharid(LPS)-stimulierten peripheren Blut-Monozyten bei untrainierten Personen 2 Stunden nach Belastung. Nach Fahrrad-Ergometrie, im Gegensatz zum Jogging, findet sich eine Erhöhung von Interleukin-6, nicht jedoch von Interleukin-1 $\alpha$ , Interleukin-1 $\beta$  oder Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (Randall-Simpson 1990, Ullum 1994). Darüberhinaus änderte sich die Konzentration von Interleukin-1 $\alpha$ , Interleukin-1 $\beta$ , Interleukin-6 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  nicht nach Belastung, obwohl entsprechende mRNA in peripheren Blut-Monozyten nachgewiesen wer-

den konnte. Dies legt den Schluß nahe, daß die erhöhten Spiegel von Interleukin-6 nach Belastung möglicherweise nicht das Ergebnis erhöhter Produktion durch aktivierte Monozyten im peripheren Blut sind, obwohl die Konzentrationen von HLA-DR+/CD14+- und HLA-DR-/CD14+-Monozyten während Fahrrad-Ergometrie ansteigen (*Hoffman-Goetz 1994*). Unter körperlicher Belastung kommt es beim Herzinsuffizienten und bei gesunden Kontrollpersonen zu einem Anstieg von Leukozyten und Lymphozyten. Dabei nimmt selektiv die Zahl der Suppressor (T<sub>S</sub>)- und zytotoxischen T-(T<sub>C</sub>)Zellen zu, nicht jedoch die Zahl der T-Helfer(T<sub>H</sub>)-Zellen. Dafür wird eine Aktivierung des sympathischen Nervensystemes über den  $\beta$ -Adrenozeptor-Weg verantwortlich gemacht (*Maisel 1990*).

### **Vernetzung mit dem Nervensystem**

**Zytokine und Psychoendokrines System:** Es gibt eine Vielzahl von Befunden, die darauf hinweisen, daß Zytokine – wie auch Peptidhormone und Neurotransmitter – sowie ihre Rezeptoren endogen im Gehirn, im endokrinen System und im Immunsystem vorkommen. Sie stellen einen kompletten biochemischen Informationskreis innerhalb des Immunsystems sowie zwischen Immunsystem und neuroendokrinem System dar (*Blalock 1994*). Interleukin-1 und Interleukin-6 scheinen als hypothalamische „releasing factors“ zu fungieren (*Bernton 1987, Sapolsky 1987, Berkenbosch 1987, Brines 1994*).

### **Vernetzung mit weiteren Mediatorsystemen**

Beziehungen zwischen dem Zytokin-System und dem Gerinnungssystem, Komplementsystem, Prostaglandinsystem und der extrazellulären Matrix sind Gegenstand intensiver Forschung. Interleukin-1 induziert die Synthese von Prostaglandinen (*O'Garra 1989*). Interferon- $\gamma$  induziert selektiv hohe Spiegel an Komplement-fixierenden zytotoxischen Ig2a-Antikörpern (*O'Garra 1989b*). Die Induktion von Interleukin-1, Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  und Interleukin-6 durch Komplement, sowohl unter extrakorporaler Zirkulation (*Steinberg 1993*) als auch nach Lipopoly-saccharid-Stimulation (*Okusawa 1987, Schindler 1990, Cavaillon 1990, Scholz 1990*), ist beschrieben worden. Der Kontakt zwischen Zellen und Matrix führt zur Produktion von Zytokinen durch diese Zellen. Zytokine induzieren Zellen, die sie umgebende Matrix zu verändern (*Korzybski 1958, Rademacher 1988, Nathan 1991*).

## **1.1.2 Beziehung zu klinischen Syndromen**

### **Infektion/Sepsis/Schock/Organversagen**

Die Zahl der Arbeiten über die Beziehung zwischen Zytokinen und Sepsis, Schock und Organversagen ist groß. Zusammenfassende Übersichten finden sich in der jüngeren Literatur (*Schlag 1993/Faist 1996*). Im Modell von BALB/c Mäusen, die nach Schutzimpfung mit bestrahlten Plasmodium Berghei-Malaria-Erregern Mosquitos ausgesetzt wurden, ist gezeigt worden, daß das Zytokin Interferon- $\gamma$  sowie CD8+-T-Zellen notwendig sind, um über die hepatische Induktion der induzierbaren Nitric-Oxide-Synthase einen Schutz gegen die Parasitämie zu erzeugen (*Seguin 1994*). Bei 100 Patienten, die sich mit Zeichen einer Infektion bzw. Bakteriämie

in der Krankenhaus-Notaufnahme vorstellten, hatten Interleukin-6-Spiegel prognostische Bedeutung für Tod durch Bakteriämie und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Spiegel für Tod jedweder Ursache (*Moscovitz 1994*). Die Erhöhung von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  im septischen Schock kann durch Endotoxin ausgelöst werden, welches bei gesunden Probanden ein für die Sepsis typisches hämodynamisches Bild mit Erhöhung des Herzindex, der Herzfrequenz, Abfall des Systemgefäßwiderstandes sowie der systolischen Funktion bewirkt (*Suffredini 1989*). Die Erhöhung von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  bei 10 von 11 Patienten, die starben, aus einer Studiengruppe von 79 Patienten mit Meningokokken-Sepsis im Gegensatz zu 8/68 Patienten, die diese Krankheit überlebten, veranlaßte zu der Schlußfolgerung, Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  früh im Krankheitsverlauf als Monitoring-Instrument einzusetzen (*Waage 1987*). In einer prospektiven randomisierten Studie mit 86 Patienten im septischen Schock, die entweder Methylprednisolon oder Placebo erhielten (*Marks 1990*), fand sich ein erhöhter Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Spiegel gehäuft bei Patienten mit adult-respiratory-distress-syndrome (ARDS) und letalem Ausgang, unabhängig von Keimart (gram-negativ oder gram-positiv) und unabhängig von Prednisolon-versus Placebo-Gabe. Dabei fanden sich die höchsten Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Spiegel in den ersten Stunden nach Einlieferung auf die Intensivstation mit einem raschen Abfall der Spiegel. Die Autoren schlußfolgern daraus, daß sehr früh bei Sepsis-Verdacht die Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Spiegel bestimmt werden sollten und ggf. eine prophylaktische Gabe von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Antikörpern bei Sepsis-Schock-Verdacht erfolgen sollte. Erhöhte Interleukin-8-Spiegel fanden sich bei 27 Patienten mit septischem Schock, bei denen diese mit der Prognose korrelierten, hingegen nicht bei Patienten mit nichtseptischem Schock. Interleukin-6 war bei beiden Patientengruppen erhöht (*Marty 1994*).

### Trauma/Operation

In einer Gruppe von 13 Patienten, die sich einem elektiven operativen Eingriff unterzogen bzw. ein Trauma erlitten, kam es innerhalb von 4 Stunden postoperativ zu einem deutlichen Interleukin-6-Anstieg, der von einem Anstieg der Akut-Phasen-Proteinen gefolgt war, während Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Spiegel nicht nachweisbar waren (*Pullicino 1990*). Dabei geht die Erhöhung von Interleukin-1 der Erhöhung von Interleukin-6 voraus (*Baigrie 1991*). Kürzlich ist die Erhöhung von Interleukin-6 und Akut-Phase-Proteinen nach abdominalen Eingriffen beschrieben und als neuer Indikator des postoperativen inflammatorischen Zustandes vorgeschlagen worden (*Ohzato 1992*). Nach orthotoper Lebertransplantation ist eine Erhöhung von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  prädiktiv für Abstoßung und eine Erhöhung von Interleukin-6 für Infektion (*Steininger 1994*).

### Chronische Herzinsuffizienz

**Zytokin-Befunde:** Es ist gezeigt worden, daß die schwere Herzinsuffizienz mit einer Erhöhung des Plasma-Spiegels für das Zytokin Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ , welches von aktivierten Makrophagen produziert wird, und Interleukin-2 einhergeht (*Levine 1990, McMurray 1991*). Die Serum-Konzentrationen von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  bei Herzinsuffizienz sind weniger erhöht als bei septischem Schock oder Injektion von Endotoxin bei gesunden Versuchspersonen (*Michie 1988, Marks 1990*). Die Konzentration von löslichen Interleukin-2-Rezeptor- und löslichen CD8-Molekülen ist bei Herzinsuffizienz erhöht (*Fuchs 1993*). In einer ande-

ren Studie war bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz die Konzentration von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  höher als bei gesunden Kontrollpersonen, jedoch noch im Normbereich ( $4.84 \pm 0.81$  vs  $1.00 \pm 0.40$  pg/ml;  $p < 0.05$ ). Eine ähnliche Tendenz fand sich in dieser Studie für das Tumor-Nekrose-Faktor-bindende Protein. Dies deutet auf eine entweder primäre oder sekundäre immunologische Komponente im Krankheitsprozeß bei Herzinsuffizienz hin. Möglicherweise ist die erhöhte Serum-Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Konzentration ein Kompensationsmechanismus für die von verschiedenen Autoren berichtete eingeschränkte vasodilatatorische Antwort auf Aktivierung der konstitutiven Nitric-Oxide-Synthase bei Patienten mit Herzinsuffizienz (*Treasure 1990, Kubo 1991, Katz 1992, Katz 1993*). Bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie wurden erhöhte Spiegel der mRNA von Interleukin-1 und des dazugehörigen Rezeptors nachgewiesen (*Han 1991*). Hingegen fanden sich in den bisher veröffentlichten Arbeiten kontroverse Ergebnisse zum Interleukin-6 (*Katz 1994, Munger 1996/Deng, 1996*).

**Humorales Immunsystem:** Obwohl die humorale Komponente des Immunsystems keine Myozytennekrosen zu induzieren scheint, können Autoantikörper die kardiale Kontraktilität beeinträchtigen und eine Imbalance des humoralen und zellulären Immunsystems mitbedingen (*Yamakawa 1987*). Autoantikörper gegen  $\beta$ -Rezeptoren können sich bei Patienten mit Kardiomyopathie entwickeln (*Limas 1989, Limas 1995*). Diese Autoantikörper könnten den Interleukin-1 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  induzierten Entkopplungsprozeß verstärken, indem sie die Liganden-Bindung inhibieren. Ähnlich könnten Antikörper gegen den mitochondrialen Adenosindiphosphat-Adenosintriphosphat-Translokator, die sich in manchen Patienten mit postinfektiöser Myokarditis oder Kardiomyopathie mit eingeschränkter kardiovaskulärer Pumpfunktion entwickeln (*Schulze 1990*), den Zytokin-induzierten Entkopplungseffekt verstärken.

**Nachlastsenkung:** Erhöhte Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Spiegel bei Herzinsuffizienz korrelieren mit Armblutflußantwort auf regionale Gabe von Azetylcholin und Nitroglycerin. Dies legt nahe, daß sowohl die konstitutive als auch die induzierbare Nitric-Oxide-Synthase an der Regulation des Vasomotorentonus bei Herzinsuffizienz beteiligt sind. Möglicherweise begünstigt Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  spezifisch die vom zyklischen Guanosin-Monophosphat (cGMP) abhängige Vasodilatation bei Herzinsuffizienten (*Katz 1994*).

**Medikamentöse Ansätze:** Eine neuere, erst kürzlich synthetisierte Substanz namens Vesnarinon, ein Quinolon-Derivat, die in ersten Studien in der Dosis von 60 mg/Tag zu einer Verbesserung der 6-Monats-Überlebensrate bei Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz führte (*Feldman 1993*), wurde in 2.5% von einer reversiblen Neutropenie begleitet. Eine ähnliche Nebenwirkung trat beim Einsatz von Vesnarinon in Japan auf (*Sasayama 1992*). Eine auf diesen Beobachtungen basierende Pilotstudie ergab, daß Lipopolysaccharid-stimulierte Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ - und Interferon- $\gamma$ -Produktion bei sieben Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz und gesunden Kontrollpatienten durch Vesnarinon inhibiert wurde (*Matsumori 1994*). Die Autoren ziehen den Schluß, daß Vesnarinon eine bedeutende Rolle in der Regulation von Zytokinen spielt, daß die Reduktion der Zytokin-Freisetzung zur günstigen Wirkung von Vesnarinon bei der Behandlung der Herzinsuffizienz beiträgt und daß Eingriffe in die Regulation proinflammatorischer Zytokine möglicherweise neue therapeutische Strategien in der Behandlung von Herzerkrankungen ermöglichen.

## Extrakorporale Zirkulation

**Aktivierung von Mediator-kaskaden:** Die Operation mittels extrakorporaler Zirkulation ist assoziiert mit einer entzündlichen Antwort des Körpers, die als Postperfusionssyndrom bezeichnet worden ist (*Westaby 1987*). In schweren Fällen ähnelt dieses Syndrom dem des septischen Schockes und kann zum Atemnot (adult respiratory distress)-Syndrom, low-output-Syndrom und/oder Multiorgan-Versagen führen (*Nawroth 1986, Rocke 1987, Baggiolini 1990, Kishimoto 1990*). In diesen Situationen kann es zur Aktivierung einer Reihe von Kaskaden unter Ein-schluß des Komplement-Systemes (*Parker 1972, Chenoweth 1981, Kirklin 1983, Bonser 1990, Videm 1990, Mollnes 1991*), Kallikrein-Systemes (*Pang 1979, Wacht-fogel 1989*) und Eikosanoid-Systemes (*Greeley 1988*) kommen, begleitet von der Freisetzung von Zytokinen, die ihrerseits mit zirkulierenden Zellen wie neutrophilen Granulozyten, Thrombozyten (*Colman 1990, Elliott 1993*) sowie Endothelzellen interagieren (*Moat 1993, Menasche 1994b*).

**Linksventrikuläre Dysfunktion:** Obwohl Verbesserungen der chirurgischen Technik, der Myokardprotektionsverfahren und des perioperativen Monitorings zu einer globalen Verringerung des Operationsrisikos bei herzchirurgischen Eingriffen beigetragen haben, stellt die Operation bei Patienten mit eingeschränkter Pumpfunktion immer noch eine bedeutsame Herausforderung dar. Insbesondere in der Phase nach Abgang von der extrakorporalen Zirkulation, in der sich häufig eine vorübergehende Verschlechterung der Ventrikelpumpfunktion im Zusammenhang mit der sogenannten „reperfusion injury“ findet, ist diese Untergruppe von Patienten einem besonderen Risiko ausgesetzt. In den letzten Jahren finden sich zunehmend Hinweise auf humorale und zelluläre Mediatoren dieser Pumpfunktionsstörung (*Hennein 1994, Deng 1996*).

**Zytokine unter extrakorporaler Zirkulation:** Es ist gezeigt worden, daß es zu einer Freisetzung verschiedener Zytokine in die systemische Zirkulation kommt. Dazu zählen Interleukin-1- $\beta$  (*Haeffner-Cavaillon 1989, Finn 1993, Markewitz 1993, Elgebaly 1992, Steinberg 1993, Menasche 1994a*), Interleukin-2 (*Hisotami 1989, 1992a, 1992b, Ide 1991, Markewitz 1993, Steinberg 1993, Deng 1995a*), Interleukin-6 (*Millar 1993, Steinberg 1993, Hennein 1994, Deng 1995a*), Interleukin-8 (*Finn 1993, Hennein 1994*), Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (*Tracy 1987, Millar 1993, Butler 1993, Finn 1993, Steinberg 1993, Menasche 1994a, Hennein 1994, Deng 1995a*) und Interferon- $\gamma$  (*Markewitz 1993*). Auch bei Kunstherzeinpflanzungen als Überbrückung zur Herztransplantation liegen Berichte über Aktivierungen des Immun-, insbesondere des Zytokin-Systemes vor, die prognostische Bedeutung zu haben scheinen (*Termuhlen 1989, Hummel 1994*). Möglicherweise hängt das Ausmaß der Mediatorenfreisetzung von der Art der extrakorporalen Zirkulation, z.B. mit pulsatilem versus nichtpulsatilem Flow (*Watarida 1994*) und normothermen versus hypothermen Bedingungen (*Menasche 1994a*), ab.

## Herztransplantation

Auch wenn die 1-Jahres-Überlebensrate nach Herztransplantation unter einem Triple-Drug-Immunsuppressionsprotokoll mit Cyclosporin A, Azathioprin und Steroiden gegenwärtig bei mindestens 75% liegt (*Hunt 1991, O'Connell 1992, Hunt 1993*), ist ein besseres Verständnis der Regulationsmuster der Abstoßungsmediatoren und ihrer Beziehung zu funktionellen und strukturellen Parametern

der Abstoßung dringend geboten, da die akute Abstoßung und das ätiologisch bisher unklare frühe Transplantatversagen zusammen für ca. 50 % aller Früh-todesfälle (< 12 Monate postoperativ) nach Herztransplantation verantwortlich sind.

**Kardiale Abstoßung:** Akute Abstoßungsepisoden sind klinisch gekennzeichnet durch Arrhythmien (*Schroeder 1974*), verringerte Voltage im EKG, echokardiographische Zeichen einer systolischen und/oder diastolischen Pumpfunktionsstörung oder Zeichen der manifesten Herzinsuffizienz (*Miller 1991, O'Connell 1992, Hunt 1993*). Die Spannbreite der morphologischen Veränderungen reicht von der leichten Abstoßung mit perivaskulären oder einzelnen interstitiellen mononukleären Zellinfiltraten ohne Nekrose über die mäßiggradige akute Abstoßung, charakterisiert durch herdförmige mononukleäre Zellinfiltrate im Myokard, oft verbunden mit Myozytennekrosen, bis hin zur schweren Abstoßung, gekennzeichnet durch ein gemischtzelliges Infiltrat, Myozytennekrosen und Vaskulitis (*Kemnitz 1987, Billingham 1990*). Der Stellenwert von Myozytennekrosen in der Abstoßungsdiagnostik ist jedoch umstritten (*Sibley 1986*). Die im Rahmen der akuten Abstoßung auftretende kardiale Pumpfunktionsstörung ist gewöhnlich, ebenso wie die histologischen Zeichen der myokardialen Schädigung, reversibel (*Myles 1987*). Die leichte und mittelschwere Abstoßung ohne Myozytennekrosen kann bereits vor dem Auftreten morphologischer Veränderungen mit einer vorwiegend diastolischen kardialen Pumpfunktionsstörung einhergehen (*Valantine 1987, Park 1992*). Ein intrinsischer Myozyten-Defekt trotz normaler Energiespeicher ist vorgeschlagen worden als Basis für die reduzierte kardiale Reserve bei Herztransplantierten (*DiSesa 1991*). Diese Befunde deuten darauf hin, daß der Untergang von Myozyten, der mittels der derzeit als Goldstandard geltenden Biopsie-Klassifikation der International Society for Heart and Lung Transplantation (ISHLT) erfasst wird, nicht die einzige Ursache für verringerte Kontraktilität nach Herztransplantation ist.

**Aktivierung des zellulären Immunsystemes:** Die zellulären Komponenten der akuten Abstoßungsreaktion schließen Makrophagen, T-Lymphozyten des CD4+ und CD8+-Phänotyps, B-Lymphozyten, Plasmazellen, und natürliche Killer (natural killer)-Zellen ein. Darüberhinaus können bei besonders schweren Abstoßungen inflammatorische Zellen wie neutrophile Granulozyten, basophile Granulozyten und eosinophile Granulozyten vorhanden sein (*Kemnitz 1987*). Dieses gemischtzellige Infiltrat bei kardialer Abstoßung hat zu einer erheblichen Diskussion über die relativen Anteile verschiedener Untergruppen von Zellen an der Abstoßung geführt.

Frühe Untersuchungen betonten die Rolle der antigen-spezifischen Lymphozyten-vermittelten Zytotoxizität. Sowohl im Tiermodell als auch beim Menschen konnten Myozyten-spezifische zytotoxische T-Zellen aus abgestoßenen Herztransplantaten isoliert werden (*Bradley 1992*). Im Rattenmodell konnte gezeigt werden, daß CD8+-T-Lymphozyten, die spezifische MHC-Klasse-I Antigene erkennen, welche von Kardiomyozyten exprimiert werden, sich in vitro an diese anheften und sie zerstören. CD4+-T-Lymphozyten können ebenfalls zytotoxisch reagieren, wenn sie durch Antigene, die im Zusammenhang mit MHC-Klasse-II-Molekülen präsentiert werden, aktiviert werden. Die Expression der MHC-II-Moleküle wird durch Exposition gegenüber dem Zytokin Interferon- $\gamma$  induziert (*Strom 1988*).

Die myokardiale Schädigung im Rahmen der akuten Abstoßung nach Herztransplantation kann auch durch andere, nichtzytotoxische immunologische Mechanismen ablaufen. Bei Tieren, die herztransplantiert und anschließend einer De-

pletion von Empfänger-T-Zellen ausgesetzt sind, ist ein anschließender Transfer von Allograft-spezifischen zytotoxischen CD8+-T-Lymphozyten nicht hinreichend, um eine myokardiale Schädigung *in vivo* auszulösen (Hall 1987). Die meisten Zellen, die Herztransplantate während einer Abstossungsreaktion infiltrieren, sind keine CD8+-T-Zellen und sind nicht antigen-spezifisch. Dies weist darauf hin, daß antigen-unabhängige Immuneffektorzellen wie Makrophagen in das Herz rekrutiert werden. Wichtig ist festzuhalten, daß eine bedeutsame elektrische und mechanische Dysfunktion von transplantierten Herzen in Abwesenheit von relevanten Myozytennekrosen auftreten kann (Schroeder 1974). Diese Befunde deuten darauf hin, daß die kardiale Funktion durch lösliche Faktoren reguliert wird. In experimentell induzierter kardialer Abstoßung ist die Spannungsentwicklung in den Papillarmuskeln und die Amplitude des ventrikulären Aktionspotentials in der Gegenwart von interstitiellen mononukleären Zellinfiltraten in der Abwesenheit von Myozytennekrosen reduziert (Binah 1991).

**Aktivierung des Zytokin-Systems:** Lösliche Immunfaktoren, die möglicherweise die kardiale Pumpfunktion beeinflussen könnten, schließen die Zytokine ein, welche *in-situ* durch antigen-aktivierte Lymphozyten oder aktivierte Makrophagen freigesetzt werden. Während kardialer Abstoßungsreaktionen im Maus- bzw. Ratten-Modell können infiltrierende mononukleäre Zellen messenger RNA (mRNA) für Interleukin-1- $\alpha$  und - $\beta$ , Interleukin-2, Interleukin-3, Interleukin-4, Interleukin-5, Interleukin-6, Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ , Interferon- $\gamma$  und acidic fibroblast growth factor (aFGF) exprimieren, wie mittels Polymerase-Chain-Reaction (PCR) und In-Situ-Hybridisierung (ISH) nachgewiesen werden konnte (Dallman 1991, Deng 1993, Zhao 1994). Wie bereits diskutiert, kann die Freisetzung von Interleukin-1 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  direkt die myokardiale Kontraktilität beeinträchtigen. Jüngst ist im Ratten-Herztransplantations-Modell nachgewiesen worden, daß es zu einer Induktion der induzierbaren Nitric-Oxide-Synthase kommt (Yang 1994). Damit kommt dem Nitric-Oxide-System, wie unter 1.1.3 weiter ausgeführt, möglicherweise auch in diesem klinischen Zusammenhang eine Signalvermittlungsfunktion von Zytokin-Wirkungen zu. Dabei ist es wichtig, zu unterscheiden zwischen Zytokinen, die Entzündungsantworten vermitteln und Zytokinen, die die Immunantwort nach Transplantation vermitteln.

**Zell-Oberflächen-Molekül-Aktivierung durch Zytokine:** Im Laufe des letzten Jahrzehntes ist zunehmend deutlich geworden, daß eine wichtige Komponente jeder Entzündungsantwort sowie jeder spezifisch immunologischen Antwort, d.h. auch jeder zellulären Transplantat-Abstoßung, die Fähigkeit von Leukozyten ist, mit anderen Leukozyten und dem Gefäß-Endothel zu interagieren. Diese Interaktionen werden durch spezifische Zelloberflächen-Moleküle vermittelt, welche durch Zytokine zur Expression gebracht werden (Springer 1990, Butcher 1991). Es ist inzwischen bekannt, daß eine Aktivierung verschiedener Zytokine im Zusammenspiel mit Aufwärtsregulation von verschiedenen Zelloberflächenproteinen stattfindet und die Abstoßung hervorruft (Fyfe 1993). Die Aufwärtsregulation von Zell-Oberflächen-Molekülen wird durch Zytokine wie Interleukin-1, Interferon- $\gamma$  und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  bewirkt (Huang 1992). Dabei findet sich eine Assoziation von Intercellular-Adhesion-Molecule (ICAM)-1, jedoch nicht von Vascular-Cell-Adhesion-Molecule (VCAM)-1, E-Selektin oder löslichem Intercellular Adhesion-Molecule (sICAM)-Spiegel mit dem Grad der akuten Abstoßung (Tanio 1994). Für das Fortschreiten der als chronische Abstoßung interpretierten Transplantat-Vaskulopathie des Herzens scheint – nach Aktivierung der Zytokin-Kaskade – eine dauerhafte Aktivierung von Zell-Adhäsions- und Oberflächenmo-

lekülen nicht erforderlich zu sein. Hier findet sich im Gegenteil eine inverse Korrelation zwischen dem Grad der Intima-Hyperplasie der epikardialen Gefäße, gemessen mit intrakoronarem Ultraschall, und der Ausprägung von Zelloberflächenmolekülen im Bereich der durch Endomyokardbiopsie erfaßten Gefäße wie HLA-DR, HLA-DQ und dem endothelspezifischen Integritätsmarker, der durch den monoklonalen Antikörper E1.5 dargestellt wird (*Deng 1995b*).

### **Koronare Herzkrankheit**

Hier liegen Berichte über Aktivierungen des Zytokin-Systemes bei der instabilen Angina pectoris und dem akuten Myokardinfarkt vor (*Biasucci 1996, Neumann 1995*). Es findet sich in der Akutphase, d.h. den ersten 72 Stunden nach Myokardinfarkten eine Erhöhung des Spiegels von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (*Maury 1989*), dessen kardiotoxische Wirkung durch Gabe von Transforming-Growth-Factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) gehemmt werden kann (*Lefer 1990*). In der erstgenannten Studie (*Maury 1989*) wurden 22 Patienten mit anhaltender Angina pectoris prospektiv durch serielle Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Spiegel-Bestimmungen untersucht. Bei 5 Patienten fand sich ein deutlicher Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Anstieg von  $> 145$  pg/ml. Alle diese Patienten hatten große Infarkte, die durch Hypotension, Lungenödem und Arrhythmien (Vorhofflimmern) kompliziert waren. Zwei von ihnen starben. Im Gegensatz dazu fand sich bei Patienten mit kleinen und unkomplizierten Infarkten sowie anhaltender Angina pectoris ohne Infarkt keine oder nur eine geringfügige Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Erhöhung. Inwieweit die Assoziation zwischen der Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Erhöhung und Prognose bzw. Hämodynamik kausal zu sehen war und welche Rolle dabei die Aktivierung des sympathischen Nervensystemes spielte, blieb in dieser Studie offen.

### **Weitere Befunde**

Alle Bereiche der klinischen Medizin erkennen zunehmend die Bedeutung des Zytokin-Systemes. Bei der Graft-vs-Host-Reaktion im B6AF1-Maus-Modell, als Surrogat für die bei Knochenmark-Transplantations-Empfängern klinisch auftretende Situation, z.B. kommt es zu einer erhöhten Kapazität der Lipopolysaccharid-stimulierten Milzzellen zur Produktion von Interleukin-1, Interleukin-6 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ , die durch Immunsuppressiva moduliert werden konnte (*Smith 1991*). Nach allogener Knochenmark-Transplantation hat die Erhöhung des Interleukin-6-Spiegels und des C-reaktiven Proteins, im Gegensatz zu Interleukin-8, prognostische Bedeutung (*Schwaighofer 1994*). Hochdosierte Gaben von Interleukin-2 sind mit gewissem Erfolg bei anderweitig therapieresistenten metastatischen Neoplasien eingesetzt worden (*Rosenberg 1987*).

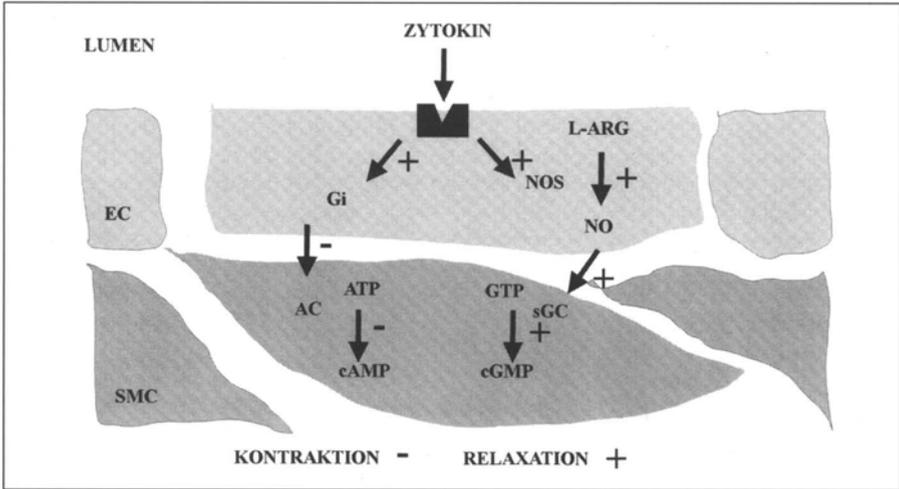
#### **1.1.3 Beziehung zur kardialen Pumpfunktion**

### **Kontraktilität**

**In-vivo-Befunde:** Bereits vor mehr als 25 Jahren wurde eine kontraktilitätshemmende Wirkung durch Entzündungs- und Infektionsmediatoren beschrieben (*Solis 1966, Wagensteen 1971, Guntheroth 1982*). Eine herabgesetzte myokardiale

Kontraktilität findet sich nach Exposition von Zytokinen in-vitro im Rattenmodell (*Hosenpud 1989, Hollenberg 1989, Sobotka 1990*). Wiederholte Infusion von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  führt zu einer dauerhaften Abnahme der myokardialen Kontraktilität und letztendlich zu einer dilatativen Kardiomyopathie im Hundemodell (*Hegewish 1990, Pagani 1992*). Eine herabgesetzte myokardiale Kontraktilität sowohl im Tiermodell wie auch beim Menschen findet sich in verschiedenen Situationen, in denen Zytokine freigesetzt werden, insbesondere der Sepsis und des Endotoxinschockes (*Solis 1966, Kadowitz 1970, Macnicol 1973, Guntheroth 1982, Velkov 1989, Parillo 1993*). Dabei ist nachgewiesen, daß die Applikation von Endotoxin mit konsekutiver Erhöhung von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  bei gesunden Probanden nicht nur indirekt – über veränderte Last- und Frequenzbedingungen – zu einer Herabsetzung der myokardialen Pumpfunktion führt, sondern eine reversible intrinsische Abnahme der myokardialen Leistung hervorruft (*Suffredini 1989*). Eine herabgesetzte myokardiale Kontraktilität beim Menschen findet sich ebenfalls in verschiedenen Situationen, in denen Zytokine freigesetzt werden, einschließlich Antitumorthherapie (*Deyton 1989*) sowie bei der dilatativen Kardiomyopathie (*Smith 1992*). In einer Studie fand sich keine Änderung des Herzindex nach Interleukin-2-Gabe (*Stein 1987*), in anderen hingegen kam es zu einem Anstieg des Herzindex (*Jesmok 1988, Nora 1989, Ognibene 1986*).

**$\beta$ -Adrenozeptor-cAMP-Signaltransduktion:** Es findet sich eine durch Interleukin-1 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  vermittelte selektive Reduktion der Isoproterenolvermittelten Kontraktilität um 75% (*Gulick 1989, Gulick 1991*). Die kontraktile Antwort auf Kalzium hingegen ist normal. Das bedeutet, daß lösliche Faktoren wie Zytokine, die von Makrophagen sezerniert werden, möglicherweise zur kardiopulmonalen Pumpfunktionsstörung beitragen, indem sie die Katecholamin-vermittelte Aktivierung myokardialer Adrenozeptoren herabsetzen. Möglicherweise trägt dieser Mechanismus zur Erklärung des Phänomens der Desensibilisierung der  $\beta$ -Adrenozeptoren bei, die bei Patienten mit kongestiver Herzinsuffizienz (siehe 1.1.2) und dilatativer Kardiomyopathie nachgewiesen wurde (*Bristow 1985, Böhm 1988*). Die Zahl der  $\beta$ -Adrenozeptoren wird durch Interleukin-1 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  nach den vorliegenden Befunden nicht beeinflusst. Ähnliche Befunde wurden in Präparationen von menschlicher Ventrikelmuskulatur erhoben, die mit Interleukin-1 inkubiert wurden (*Wiechmann 1991*). Korrespondierend zu dieser Reduktion der Kontraktilität findet eine deutliche Abnahme der  $\beta$ -Adrenozeptor-vermittelten Adenylatcyclase-Aktivität in Myozyten (*Gulick 1988*). Durch Pertussis-Toxin wird die Zytokin-induzierte Abnahme der Adenylatcyclase-Aktivität blockiert. Dieser Befund impliziert eine Rolle des Proteins  $G_i$  in der Entkopplung der Adrenozeptoren von der Adenylatcyclase. Alle diese Effekte sind reversibel, wenn das verantwortliche Zytokin entfernt wird (*Chung 1990*). Insofern ist es vorstellbar, daß in verschiedenen pathophysiologischen Situationen, in denen sich eine eingeschränkte kardiale Pumpfunktion findet, ein Teil der negativ inotropen Wirkungen durch Zytokin-vermittelte Modifikation des  $G_i$ -Signal-Transduktionsweges erklärt werden kann, wenn die entsprechenden Zytokine in dieser Situation nachgewiesen werden können (Abbildung 1.1.3A). Die myokardiale Expression von  $G_i$ , dem inhibitorischen Protein, welches die Adrenozeptor-Funktion reguliert, ist bei der chronischen Herzinsuffizienz erhöht (*Feldman 1988, Böhm 1990*).



**Abbildung 1.1.3A.** Intrazelluläre Zytokin-Signaltransduktion (nach *Moncada 1994*).

Abkürzungen: EC = Endothelzelle, SMC = glatte Muskelzelle, L-ARG = L-Arginin, Gi = inhibitorisches G-Protein, NOS = Nitric-Oxid-Synthase, NO = Nitric-Oxid, ATP = Adenosintriphosphat, GTP = Guanosintriphosphat, AC = Adenylatzyklase, sGC = lösliche Guanylatzyklase  
+ = Förderung, - = Hemmung

**Nitric-Oxid-cGMP-Signaltransduktion:** Zytokine erhöhen die Konzentration von Nitric-Oxid in nichtkardialen Geweben durch die Aktivierung einer induzierbaren Nitric-Oxid-Synthase (iNOS) (*Green 1991, Stuehr 1991, Li 1991, Gross 1991*). Es ist gezeigt worden, daß Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ , Interleukin-2 und Interleukin-6 im isolierten Hamsterpapillarmuskelpräparat eine negativ inotrope Wirkung entfalten (*Finkel 1992*), die durch Nitric-Oxid über die induzierbare Nitric-Oxid-Synthase vermittelt wird. Das Hinzufügen von rekombinanten Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ , Interleukin-2 und Interleukin-6 zum Lösungsmedium der isolierten Papillarmuskeln führte zu einer konzentrationsabhängigen reversiblen negativ inotropen Wirkung, die innerhalb von 2-3 min auftrat, ihr Maximum nach 5 min erreichte, für mindestens 20 min konstant blieb und nach 40 min verschwunden war. Das Hinzufügen von rekombinanten Interleukin-1- $\alpha$  hatte nur einen minimalen positiv inotropen Effekt. Der rasche Beginn und die Reversibilität der negativ inotropen Zytokin-Effekte spricht gegen einen Mechanismus, der eine transkriptionelle Aktivierung einschließt. Dies ist jedoch nur durch direkte molekularbiologische Untersuchungen der Nitric-Oxid-Synthase-mRNA-Transkripte im betroffenen Gewebe durch Polymerase-Kettenreaktion und In-Situ-Hybridisierung nachzuweisen bzw. auszuschließen. In dieser Studie wurde ferner gezeigt, daß Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Effekte auf die Kontraktilität des Hamsterpapillarmuskels durch N-Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA), einen spezifischen Inhibitor der Nitric-Oxid-Synthase, gehemmt werden konnten und diese Hemmung durch Hinzugabe des Substrates der Nitric-Oxid-Produktion, L-Arginin, wieder aufgehoben werden konnte. Im Rattenmodell findet sich nach Vorbehandlung mit Endotoxin eine Expression der induzierbaren Nitric-Oxid-Synthase im Myokard (*Schulz 1992*). Die negativ inotropen Effekte der genannten Zytokine könnten entweder durch Endothelzellen des Endokards, durch immunkompetente Zellen oder durch Myokardzellen vermittelt werden. In nichtkardialen Gewe-

be gibt es ebenfalls Hinweise dafür, daß die Zytokinwirkungen durch Nitric-Oxide, welches identisch ist mit Endothelium-Derived Relaxing-Factor (EDRF), vermittelt werden. Kürzlich ist eine verstärkte Aktivität der induzierbaren Nitric-Oxide-Synthase in rechtsventrikulären Biopsaten von Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie nachgewiesen worden (*DeBelder 1993*). Die vorliegenden Befunde sprechen dafür, daß die direkt negativ inotropen Zytokin-Effekte zu einem Teil durch eine myokardiale Nitric-Oxide-Synthase vermittelt werden (*Balligand 1993*). Die Wirkungen von Zytokinen wie Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  auf die induzierbare Nitric-Oxide-Synthase müssen unterschieden werden von ihrer Wirkung auf die konstitutive Nitric-Oxide-Synthase (cNOS). Diese scheint supprimiert zu werden, indem Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  die Halbwertszeit von cNOS-mRNA von ca. 48 Stunden auf 3 Stunden verkürzt (*Yoshizumi 1993*). Die von der konstitutiven Nitric-Oxide-Synthase produzierten Nitric-Oxide-Konzentrationen haben jedoch keinen negativ inotropen Effekt (*Weyrich 1994*). Infolgedessen führt die beschriebene Wirkung von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  auf die konstitutive Nitric-Oxide-Synthase theoretisch nicht zu einer Verbesserung der Inotropie, steht somit nicht im Widerspruch zu den vorher geschilderten Befunden. Eine direkte Wirkung von TNF $\alpha$  auf die Kalzium-Homöostase ist möglich (*Mann 1994*).

### Nachlast

Die Vasodilatation ist ein Kardinalzeichen der lokalen Entzündungsreaktion und die systemische Vasodilatation ist eine Hauptkomponente des septischen Schockes (*Cohnheim 1889*). Es gibt starke Argumente dafür, daß Zytokine für die lokale und systemische Vasodilatation in diesen Situation verantwortlich sind (*Beutler 1985, Suffredini 1989, Ohlsson 1990, Doherty 1992*). Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  führt zu einer arteriellen Vasodilatation sowie Erniedrigung des arteriellen Blutdruckes und wird bei der Sepsis mit verantwortlich gemacht für die hyperdynamie Hämodynamik des septischen Schockes (*Hocking 1990*). Interleukin-2 führt zu einer hämodynamischen Situation wie beim septischen Schock (*Ognibene 1986*). Nach Interleukin-2-Gabe kam es zu einem Abfall des Systemgefäßwiderstandes (*Rosenberg 1987, Textor 1987, Jesmok 1988*). Sowohl Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  als auch andere Zytokine induzieren eine periphere Vasodilatation, indem sie die Produktion einer induzierbaren Nitric-Oxide-Synthase in Endothelzellen, glatten Gefäßmuskeln und aktivierten Makrophagen stimulieren (*Radomski 1990, Knowles 1990, Joulou-Schäffer 1991*).

### Vorlast

Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  führt zu einer Lungenödemneigung (*Hocking 1990*). Die Flüssigkeitsansammlung im Körper, insbesondere der Extrazellulärflüssigkeit wird durch rekombinantes Interleukin-2 erhöht (*Rosenstein 1986, Parillo 1993*). Die Geschwindigkeit, mit der sich nach Gabe von rekombinantem Interleukin-2 bei Patienten mit Melanom, renalen und kolorektalen Malignomen renale und hämodynamische Änderungen einstellten und wieder verschwanden, führte zu der Schlußfolgerung, daß dies am ehesten durch eine direkte hämodynamisch destabilisierende Wirkung des Zytokins Interleukin-2 auf das Herz-Kreislauf-System der behandelten Patienten zu erklären sei (*Textor 1987*).

## Herzrhythmus

Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  erhöht die Herzfrequenz (*Pagani 1992*). Gleiches ist für die Gabe von Endotoxin bei gesunden Probanden mit konsekutiver Freisetzung von Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  beschrieben worden (*Suffredini 1989*). Unter rekombinanter Interleukin-2-Gabe fand sich ein Anstieg der Herzfrequenz (*Nora 1989, Parillo 1993*). Während des hochdosierten Einsatzes von Interleukin-2 bei Patienten mit anderweitig therapieresistenten Neoplasien kam es bei 25 von 157 Patienten zu Herzrhythmusstörungen, davon 24 supraventrikulärer Natur, die mit Verapamil beherrschbar waren bzw. bei zwei Patienten die einmalige Gabe von Atropin erforderten (*Rosenberg 1987*).

## Diastolische Funktion

Im Tiermodell sind diastolische Funktionsstörungen beschrieben worden (*Sobotka 1990, Pagani 1992, Parillo 1993*).

## Koronarblutfluß

Es liegen verschiedene Ergebnisse vor (*Sobotka 1990, Pagani 1992*). Es fand sich keine Änderung des koronaren Blutflusses und der Zellmorphologie nach IL-2-Gabe (*Stein 1987, Parillo 1993*). Während des hochdosierten Einsatzes von Interleukin-2 bei Patienten mit anderweitig therapieresistenten Neoplasien kam es bei 4 von 157 Patienten zu einem Myokardinfarkt, der bei zwei Patienten tödlich verlief (*Rosenberg 1987*). Im septischen Schock kommt jedoch es nicht zu einer globalen Ischämie, die für die reduzierte systolische und diastolische Funktion verantwortlich gemacht werden kann (*Cunnion 1986, Dhainaut 1987*).

## Energiestoffwechsel

Eine Herabsetzung des myokardialen Energiestoffwechsels durch Zytokine ist bisher nicht sicher nachgewiesen (*Parillo 1993*). Im Skelettmuskel ist die Erhöhung der Aktivität der verzweigt-kettigen  $\alpha$ -Keto-Aminosäure-Dehydrogenase durch Applikation von rekombinantem menschlichem Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ , Interleukin-1 $\alpha$  oder Interleukin-1 $\beta$  nachgewiesen, wahrscheinlich durch transkriptionelle Aktivierung (*Nawabi 1990*).

### 1.1.4 Molekulare Mechanismen

#### Transkriptionelle Aktivierung von Zytokinen

**Allgemeines:** Die Erforschung der transkriptionellen Aktivierung der Zytokin-Produktion ist ebenfalls Gegenstand intensiver Studien. Bei den meisten Zytokin-Genen enthält die Promotor-regulatorische Region verschiedene Elemente, die die Produktion modulieren (*Drouet 1991*). Zytokin-Transkription kann durch verschiedene infektiöse Agentien, so z.B. das Zytomegalie-Virus-Immediate-Early-

Gen (IE-Gen), induziert werden (*Geist 1994, Kishimoto 1994*). Der Mechanismus, über welchen Vorläufer-T-Zellen sich in T Helfer-1- bzw. T Helfer-2-Zellen mit entsprechend spezifischen Zytokin-Sekretionsprofilen entwickeln, ist bislang nicht bekannt, jedoch gibt es Hinweise für eine transkriptionelle Kontrolle, u.a. im Bereich des Interleukin-4-Promoters (*Bruhn 1993, Todd 1993*). Die Signaltransduktion von Antigen-Rezeptoren auf B- und T-Lymphozyten, die zur intrazellulären Produktion von Zytokinen führt, ist in jüngsten Übersichten umfassend dargestellt (*Weiss 1994*).

**Interleukin-6:** Die transkriptionelle Aktivierung von Interleukin-6 unterscheidet sich von der des Interleukin-4 und Interleukin-2 (*Nakajima 1993*). Interleukin-6-mRNA wird – im Gegensatz zu Interleukin-2-mRNA – nicht durch das Antibiotikum Ciprofloxacin, welches auch als biologischer Antwort-Modifikator (biological response modifier) fungiert und damit einen dem Cyclosporin A entgegengesetzten Effekt besitzt (*Riesbeck 1994b*), induziert (*Riesbeck 1994a*). Die Interleukin-6-Synthese in menschlichen Fibroblasten wird getriggert durch einen Anstieg des intrazellulären zyklischen Adenosinmonophosphat-Spiegels (*Zhang 1988*).

**Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ :** Eine besondere Eigenschaft des Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Promoters ist die Gegenwart von vier Nuclear-Factor (NF)- $\kappa$ B Motiven, die bei der Regulation des Promoters wichtig zu sein scheinen (*Collart 1990, Shakhov 1989*). Zusätzlich ist für das Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Gen ein zyklisches Adenosinmonophosphat-responsive element (*Economou 1989*) sowie eine spezifische Sequenz in der 3'-untranslated region beschrieben (*Caput 1986*). Wenngleich eine post-transkriptionale Regulation der Zytokin-Gen-Expression nicht für alle Zytokine beschrieben ist, so kommt sie doch z.B. sicher bei Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  vor (*Beutler 1986*).

## Signaltransduktion

**Allgemeines:** Verschiedene Signaltransduktionswege der Zytokinwirkung auf die zelluläre Regulation werden diskutiert. Ausführliche Übersichten finden sich in der Literatur (*Nathan 1991, Kishimoto 1994*). Kürzlich wurde eine neue Proteinfamilie von möglichen Signaltransduktoren innerhalb der zytoplasmatischen Domäne des 75 KDa Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$ -Rezeptors, die „TNF-associated factor“-Familie, identifiziert (*Rothe 1994*). Seit der Klonierung von zwei unterschiedlichen, aber strukturell homologen, Rezeptoren für Tumor-Nekrose-Faktor, nämlich p75 und p55 (*Farrar 1992*), hat sich eine Superfamilie von Tumor-Nekrose-Faktor-Rezeptoren herausgestellt, die zusammen mit ihren Liganden die gemeinsame Fähigkeit besitzt, Zelltod (Apoptose) herbeizuführen (*Smith 1994*). Die pleiotrope und redundante Wirkung (siehe 1.1.1) verschiedener Zytokine kann inzwischen gut erklärt werden durch die molekulare Biologie der Zytokin-Rezeptor-Systeme, die auf der molekularen Ebene weitgehend charakterisiert sind. Die meisten Zytokin-Rezeptoren bestehen aus einem Komplex vieler Ketten (multichain complex), einem liganden-spezifischen „privaten“ Rezeptor und einem klassenspezifischen Signaltransduktor (signal transducer). So nutzen z.B. die Zytokine Interleukin-6, Interleukin-11, Leukämie-inhibierender-Faktor (LIF) und Oncostatin M (OM) den gemeinsamen Signaltransduktor gm130 (*Miyajima 1992, Taga 1992*), die Zytokine Interleukin-3, Interleukin-5 und Granulozyten-Makrophagen-Kolonie-stimulierender Faktor (GM-CSF) den gemeinsamen Signal-

transduktor KH97 (*Miyajima 1992*) und die Zytokine Interleukin-2, Interleukin-4 und Interleukin-7 gemeinsam die Interleukin-2-Rezeptor- $\gamma$ -Kette (*Kondo 1993*, *Noguchi 1993*). Da sich jedoch in verschiedenen Zelltypen eine differentielle Expression der „privaten“, liganden-spezifischen Rezeptoren findet, hat jedes Zytokin sein eigenes unverwechselbares Wirkungsprofil.

**Nitric-Oxide/cGMP-Signaltransduktion:** Hierzu finden sich jüngst veröffentlichte Übersichten (*Lange 1994*, *Moncada 1994*). Die erhöhte Produktion von zyklischem Guanosinmonophosphat, ein Maß der Nitric-Oxide-Synthese, die durch Zytokine wie z.B. Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  induziert wird, erfordert nach neuesten Ergebnissen die Anwesenheit des Tetrahydrobiopterins als Kofaktor (*Nathan 1994*). Dabei wird durch die inflammatorischen Zytokine Interleukin-1 $\beta$  oder Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  plus Interferon- $\gamma$ , wie im Modell mit kultivierten Nabelschnur-Endothelzellen gezeigt (*Rosenkranz-Weiss 1994*), einerseits ein Abfall der mRNA der Ca-abhängigen Nitric-Oxide-Synthase bewirkt, andererseits aber durch Erhöhung der Aktivität der Guanosintriphosphat (GTP)-Zyklohydrolase-I, dem geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Tetrahydrobiopterin-Synthese, die Konzentration des Tetrahydrobiopterins erhöht. Dies wiederum führt zu einer Erhöhung der Nitric-Oxide-Synthase-Aktivität.

**$\beta$ -Rezeptor/cAMP-Signaltransduktion:** Wie unter 1.1.3 dargestellt, finden sich inhibitorische Einflüsse (*Lange 1994*). Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  und CD11/CD18 ( $\beta$ 2) Integrine wirken synergistisch im Sinne einer Erniedrigung des Spiegels von zyklischem Adenosinmonophosphat in menschlichen neutrophilen Granulozyten (*Nathan 1990*).

## **Feedback-Mechanismen**

Die Produktion von Interleukin-2 führt nach Bindung an den Interleukin-2-Rezeptor zu einer Loslösung des Rezeptors und Abgabe in die Zirkulation (soluble=löslicher Interleukin-2-Rezeptor). Dieser kann mit dem Interleukin-2 um die membrangebundenen Interleukin-2-R-Moleküle konkurrieren. Dadurch wird die Wirkung des Interleukin-2 reduziert. Es handelt sich also um eine negative Rückkopplung.

---

## **1.2 Linksventrikuläre Dysfunktion**

### **1.2.1 Einleitung**

#### **Begriffsbestimmung**

In der vorliegenden Arbeit wird der Begriff der linksventrikulären Dysfunktion benutzt zur Charakterisierung eines klinisch-pathophysiologischen Syndromes, bei welchem infolge gestörter Funktion des Herzens eine den Stoffwechselbedürfnis-

sen der Körpergewebe entsprechende Pumpleistung nicht oder nur unter erhöhten Füllungsdrücken erbracht wird. Der Begriff schließt die klinischen Stadien I und II gemäß der Einteilung der New York Heart Association und die hämodynamischen Stadien I und II gemäß der Einteilung nach Roskamm und Reindell (*Roskamm 1995*) ein (siehe Abschnitt 2.2.1), beinhaltet somit den Begriff der Herzinsuffizienz (*Braunwald 1992*), schließt jedoch auch die asymptomatischen Frühformen und reversiblen Formen mit ein. Der Begriff der Hämodynamik bezieht sich auf die diesem Syndrom zugrundeliegenden, durch invasive (Rechtsherzkatheter) und nichtinvasive (Echokardiographie) Untersuchungen objektivierbaren Störungen der Kontraktilität, Vorlast, Nachlast, Herzfrequenz, Diastole und neurohumoralen Regulation.

## Epidemiologie

**Chronische Herzinsuffizienz:** In den letzten 20 Jahren hat die Inzidenz und Prävalenz der linksventrikulären Dysfunktion um das Dreifache zugenommen, insbesondere als Folge einer verbesserten Behandlungsmöglichkeit und Überlebenschance beim akuten Myokardinfarkt (*Wittels 1990*). Nach überlebtem Myokardinfarkt entwickelt sich durch Remodelling des linken Ventrikels (*Braunwald 1992*) aus der linksventrikulären Dysfunktion mitunter eine chronische Herzinsuffizienz. Die Prävalenz der chronischen Herzinsuffizienz wird in den industrialisierten Ländern auf 1% der Bevölkerung geschätzt (*McKee 1971, Smith 1985, O'Connell 1992*), die Inzidenz auf 0,15% (*Williams 1995*). Die mittleren 1-Jahres bzw. 5-Jahres-Überlebensraten betragen 60% bzw. 30%, bei Versagen der etablierten konventionellen Therapie 50% bzw. 10% (*McKee 1971, Ho 1993*). Die Kosten für diese Patientengruppe durch medikamentöse Behandlung sind hoch. Im Durchschnitt kostet es 22.000 US\$, einen Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz für die letzten sechs Lebensmonate medizinisch zu versorgen (*Poirier 1986*).

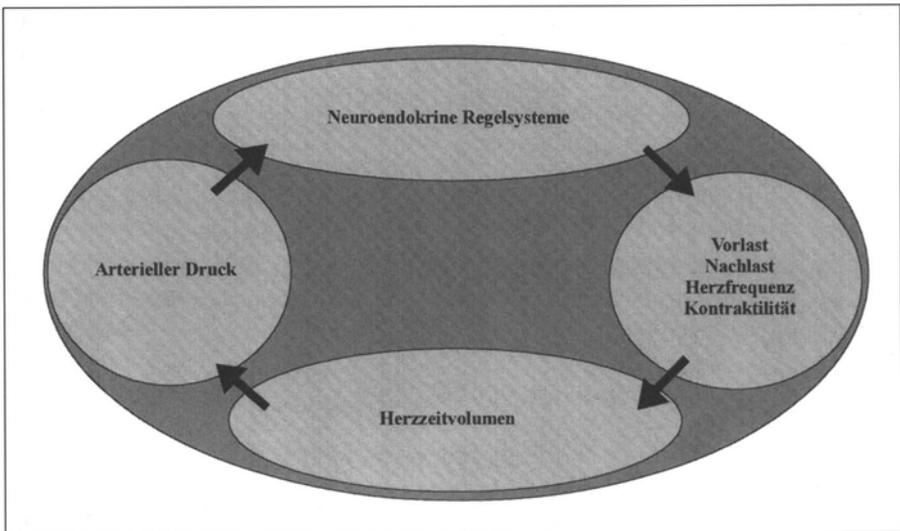
**Herztransplantation:** Einer sorgfältig selektierten Gruppe aus diesem Patientenkollektiv kann heutzutage durch eine Herztransplantation eine deutliche Verbesserung von Lebenserwartung und -qualität angeboten werden. Dabei kostet die Lebensverlängerung pro Jahr durch Herztransplantation die Gesellschaft im Durchschnitt 55.000 DM (*Scheld 1994*). Aus der Notwendigkeit einer sorgfältigen Indikationsstellung, differenzierten Hochrisikochirurgie und Überbrückungsbehandlung sowie wissenschaftlichen Bearbeitung von offenen Fragen der Transplantationsimmunologie haben sich inzwischen spezialisierte, meist universitäre, Betreuungsprogramme, so z.B. das Interdisziplinäre Herzinsuffizienz- und Transplantationsprogramm Münster, entwickelt (*Deng 1993, Deng 1995d*).

**Aortokoronare Bypass-Operation:** Die Aortokoronare-Bypass-Operation (ACB) stellt den weitaus größten Anteil aller Herz-Lungen-Maschinen-Operationen (*Kalmar 1990*). Dabei besitzt ein bedeutender Anteil von Patienten ein erhöhtes Operationsrisiko durch diffuse Koronararterienverengungen (*Scheld 1989*), eine vorbestehende linksventrikuläre Dysfunktion, höhergradige Herzrhythmusstörungen, vorangegangene Herzoperationen, begleitende arteriosklerotische Läsionen in anderen Gefäßabschnitten (*Jausseran 1989*) sowie hohes Lebensalter (*Tsai 1989*). Entsprechend erhöht ist das perioperative Risiko in dieser Patientengruppe.

**Konsequenzen für die Forschung:** Es besteht zunehmender Bedarf an pathophysiologisch begründeten Behandlungskonzepten bei chronischer Herzinsuffizienz, Hochrisiko-Operationen mit der extrakorporalen Zirkulation und für die Langzeitfolgen der Herztransplantation. Diese Entwicklung hat ihren Niederschlag gefunden in der Einrichtung von wissenschaftlichen Arbeitsgruppen zur Thorakalen Organtransplantation und chronischen Herzinsuffizienz seitens der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie, der European Society of Cardiology sowie entsprechenden Empfehlungen zur Forschungsförderung der American Heart Association (Lenfant 1994).

### 1.2.2 Determinanten der Pumpfunktion

Die normale Herztätigkeit ist gekennzeichnet durch den Wechsel zwischen Entleerung und Füllung beider Ventrikel in einer Weise, die das für die jeweilige Tätigkeit des Individuums notwendige Herzzeitvolumen gewährleistet. Dieses ist das Produkt aus Schlagvolumen und Herzfrequenz. Die Größe des Schlagvolumens wird beeinflusst durch die Vorlast, die Nachlast und die Kontraktilität des jeweiligen Ventrikels. Zusammen mit dem Herzzeitvolumen bestimmt der periphere Gefäßwiderstand den für die Durchblutung der Körperorgane notwendigen arteriellen Druck. Dabei ist die Herztätigkeit eingebunden in die neurohumorale Regulation des Herzkreislaufsystems (Abbildung 1.2.2A).

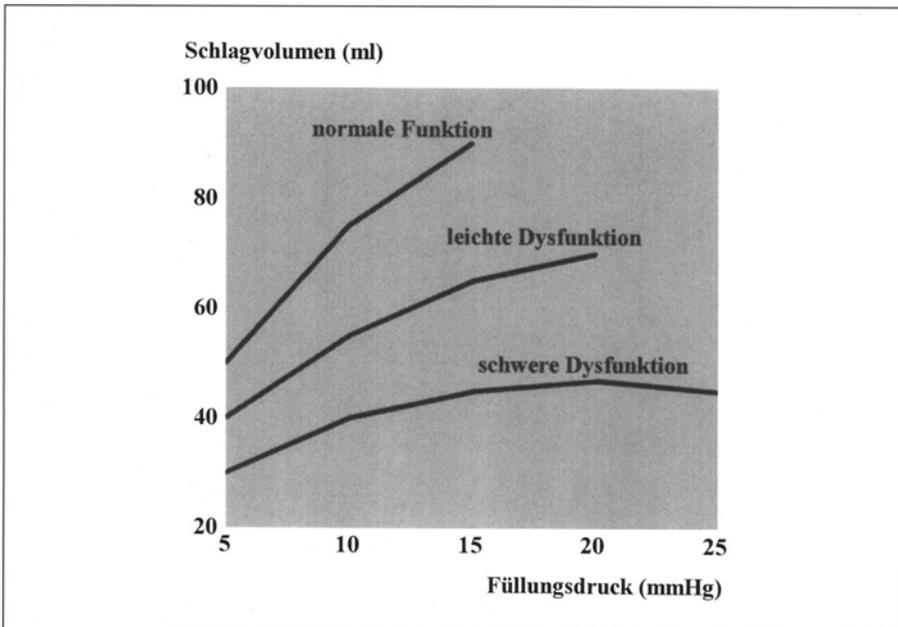


**Abbildung 1.2.2A.** Das Herz-Kreislauf-System im Regelkreismodell.

**Systole**

Die Anspannungs- und Austreibungsfunktion des linken und rechten Ventrikels wird bestimmt durch

1) die Vorlast, definiert als enddiastolisches Füllungsvermögen, entsprechend der enddiastolischen Muskelfaserlänge. Im klinischen Alltag wird sie unter Annahme einer normalen diastolischen Druck-Volumen-Beziehung als enddiastolischer Ventrikeldruck angegeben. Gemäß dem Frank-Starling-Gesetz steigt das Schlagvolumen mit steigender Vorlast (Abbildung 1.2.2B).



**Abbildung 1.2.2B.** Vorlast und Schlagvolumen.

2) die Nachlast, definiert als die Kraft, die nach Einsetzen der Kontraktion auf die Herzmuskelwand einwirkt und gegen die der Ventrikel das Blut austreiben muß. Sie entspricht gemäß dem Laplace- Gesetz der systolischen Wandspannung. Das Schlagvolumen sinkt mit steigender Nachlast (Abbildung 1.2.2C).

3) die Kontraktilität, definiert als die von Vorlast und Nachlast unabhängige systolische Leistung des Myokards. Das Schlagvolumen steigt mit steigender Ventrikelkontraktilität und zwar bei jedem gegebenen enddiastolischen Füllungsvolumen, d. h. von jedem Punkt auf der Ventrikelfunktionskurve (Abbildung 1.2.2D)

4) die Herzfrequenz. Dabei kann das Schlagvolumen bei gleichbleibender Vorlast infolge der Kraft-Frequenz-Beziehung bis zu einer Frequenz von 200/min ansteigen. Bei höheren Frequenzen kommt es normalerweise wegen der verringerten prozentualen diastolischen Füllungszeit und damit Vorlast zu einer Abnahme des Schlagvolumens.

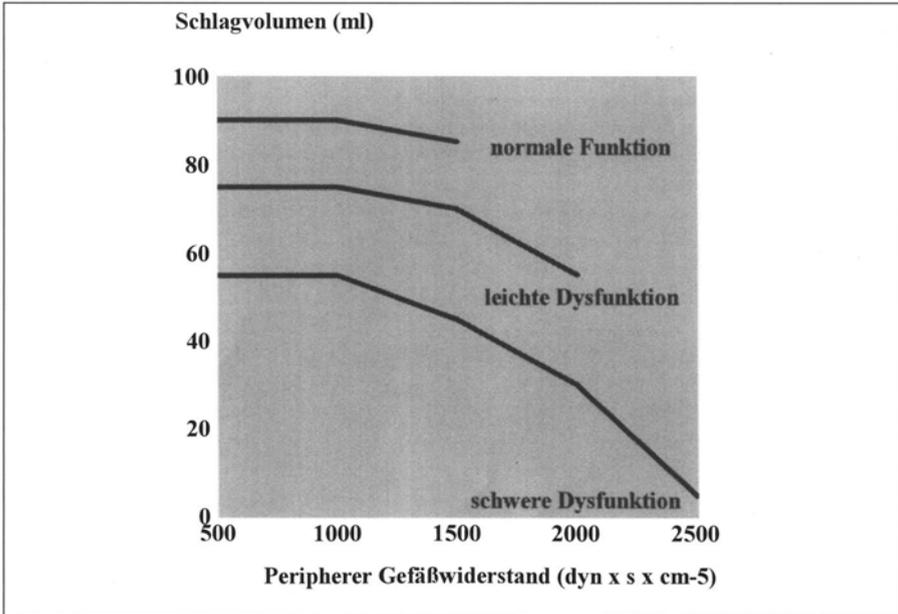


Abbildung 1.2.2C. Nachlast und Schlagvolumen.

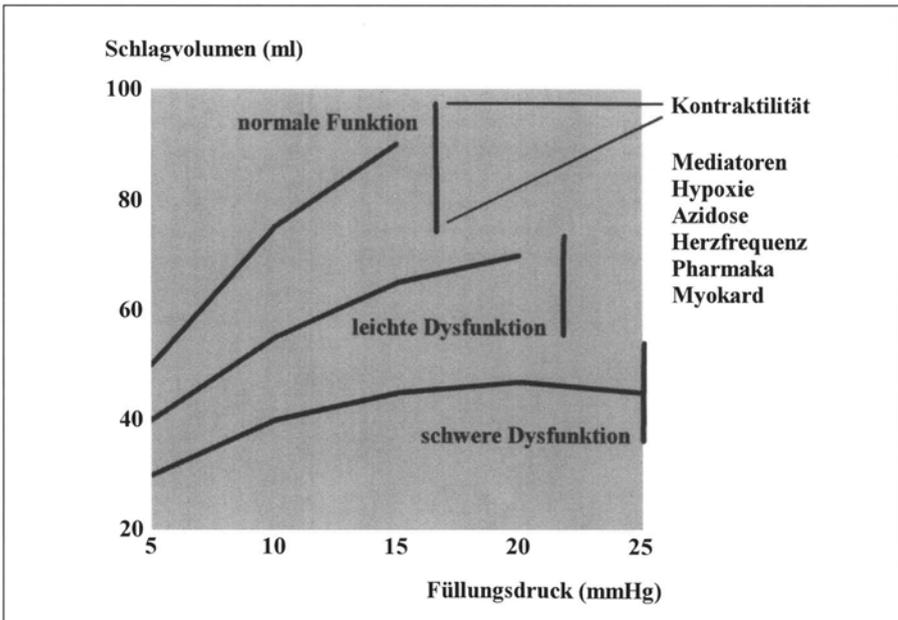


Abbildung 1.2.2D. Kontraktilität und Schlagvolumen.

**Diastole**

Die diastolische Funktion, d. h. die Erschlaffungs- und Füllungsfunktion, wird eingeteilt in die isovolumetrische Relaxationsphase, schnelle Füllungsphase, langsame Füllungsphase und Vorhofkontraktionsphase. Sie wird bestimmt durch

1) die frühdiastolische Relaxation des Myokards, welche abhängt von elastischen Rückstellkräften, Geschwindigkeit der energieverbrauchenden Calcium-Aufnahme in das sarkoplasmatische Retikulum, der zeitlichen Verteilung der Vor- und Nachlast über die Spätsystole und Frühdiastole, Volumen-Stretch-Effekt der frühdiastolischen Koronardurchblutung auf die Ventrikelwand, Grad der zeitlich-örtlichen Inhomogenität der Erregungsausbreitung und -rückbildung und Herzfrequenz.

2) die Dehnbarkeit (Compliance), definiert als Änderung des diastolischen Ventrikeldruckes in Abhängigkeit von der Änderung des diastolischen Ventrikelvolumens im diastolischen Druck-Volumen-Diagramm (Abbildung 1.2.2E).

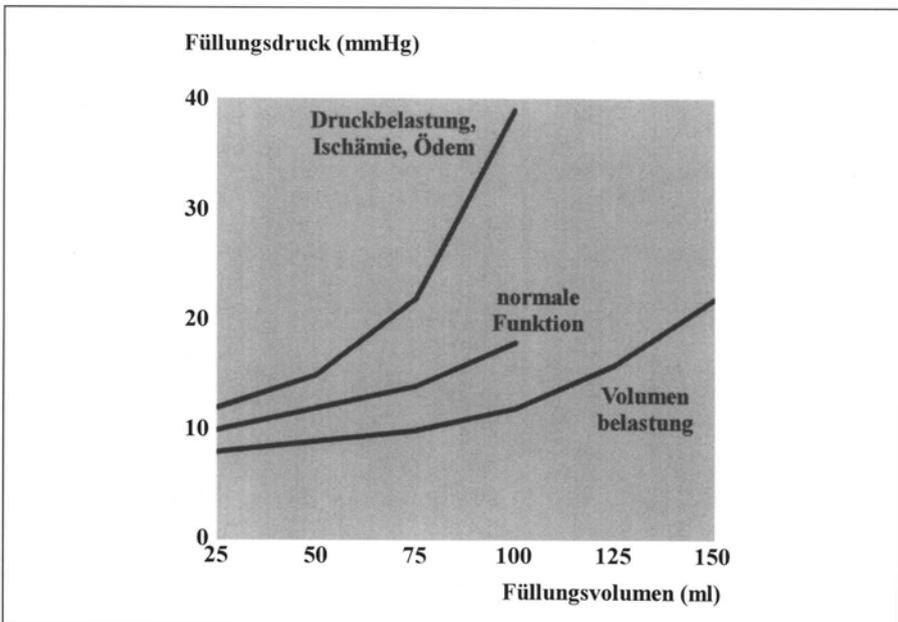


Abbildung 1.2.2E. Dehnbarkeit (Compliance).

**Koronarblutfluß**

Der koronare Blutfluß ist gemäß dem Ohm-Gesetz

1) proportional dem effektiven Perfusionsdruck, definiert als Differenz zwischen Aortendruck und Druck im rechten Vorhof bzw. linksventrikulärem Füllungsdruck.

2) umgekehrt proportional dem Koronargefäßwiderstand, der gemäß dem Hagen-Poiseuille-Gesetz mit der Länge des Gefäßes und der Blutviskosität zunimmt und mit der vierten Potenz des Radius fällt. Durch Autoregulation wird der

koronare Blutfluß bei einem Perfusionsdruck zwischen 60 und 130 mmHg weitgehend konstant gehalten. Durch pharmakologische Vasodilatation kann der autoregulative Anteil am Gesamtkoronarwiderstand um das 3- bis 5-fache gesenkt werden. Dies entspricht der Koronarreserve.

### **Energiestoffwechsel**

Der myokardiale Energiestoffwechsel ist angewiesen auf die kontinuierliche Zufuhr von

1) Sauerstoff, der ca. 98% der energiereichen Phosphate durch aeroben Stoffwechsel und nur ca. 2% durch anaerobe Glykolyse gewonnen werden. Da bereits unter Ruhebedingungen die Sauerstoffextraktion des Herzmuskels mit 11 Vol.% fast vollständig ausgeschöpft ist, kann ein erhöhter Sauerstoffbedarf nur über eine Zunahme des koronaren Blutflusses, d. h. Ausschöpfung der Koronarreserve, gedeckt werden.

2) energieliefernden Substraten Freie Fettsäuren (unter Ruhe ca. 30%), Glucose (unter Ruhe ca. 30%) und Lactat (unter Ruhe ca. 30%, unter Belastung bis 60%).

### **Neurohumorale Regulation**

**Sympathisches Nervensystem:** Dieses bewirkt bei Abfall des arteriellen Mitteldruckes, bei Absinken des Sauerstoffpartialdruckes, Anstieg des Kohlendioxidpartialdruckes, Anstieg der H<sup>+</sup>-Ionen-Konzentration oder hypothalamisch vermittelter Gefühle eine Steigerung von Vorlast, Nachlast, Kontraktilität und Herzfrequenz. Infolgedessen steigen das Herzzeitvolumen, der periphere Gefäßwiderstand und damit der arterielle Mitteldruck. Für diesen Regelkreis ist charakteristisch, daß die negative Rückkopplung innerhalb von Sekunden erfolgt, am empfindlichsten in einem Mitteldruckbereich zwischen 80 und 120 mmHg ist, die Ansprechbarkeit am größten bei schnellen Änderungen des Mitteldruckes ist und bei langsamen Blutdruckänderungen wegen der Adaptation keine Blutdruckänderung mehr erfolgt.

**Renin-Angiotensin-System:** Dieses bewirkt bei Abfall des Mitteldruckes in den afferenten Nieren-Arteriolen und Erhöhung der NaCl-Konzentration im Bereich der Macula Densa über die Freisetzung von Renin aus dem juxtaglomerulären Apparat eine vermehrte Produktion von Angiotensin II, damit Vasokonstriktion und Steigerung des peripheren Gefäßwiderstandes sowie Freisetzung von Aldosteron, damit Kochsalz- und Wasserretention, Vorlast-, Schlagvolumen- und Herzzeitvolumensteigerung. Infolgedessen steigt der arterielle Mitteldruck. Charakteristisch für diesen Regelkreis ist, daß die Regulation langsam erfolgt und die Regulation lange anhält.

**Anti-Diuretisches Hormon:** Dies wird bei akutem starken Abfall des arteriellen Mitteldruckes vermehrt aus der Hypophyse freigesetzt und bewirkt über Wasserrückresorption im Bereich der distalen Nierentubuli und Vasokonstriktion der Arteriolen einen Anstieg des arteriellen Mitteldruckes.

**Atriales Natriuretisches Peptid:** Dies wird bei Füllungsvolumenzunahme der Vorhöfe und Impulsratenzunahme von Vorhofdehnungsrezeptoren verstärkt ausgeschüttet und bewirkt über Kochsalz- und Wasserdiurese im Bereich der Nierentubuli, arterioläre Vasodilatation und Hemmung der Aldosteron-Sekretion in der

Nebennierenrinde eine Abnahme von Vor- und Nachlast und damit des arteriellen Mitteldruckes.

Somit herrscht eine sich ständig neu aufbauende Balance zwischen global und regional wirksamen vasokonstriktorisches, vasodilatatorischen, positiv und negativ inotropen, kochsalz- und wasserretinierenden und diuresestimulierenden sowie herzfrequenzsteigernden und -senkenden Einflüssen zur Optimierung von Vorlast, Nachlast, Kontraktilität und Herzfrequenz und damit von Herzzeitvolumen, peripheren Gefäßwiderstand und arteriellem Mitteldruck.

### 1.2.3 Pathophysiologie

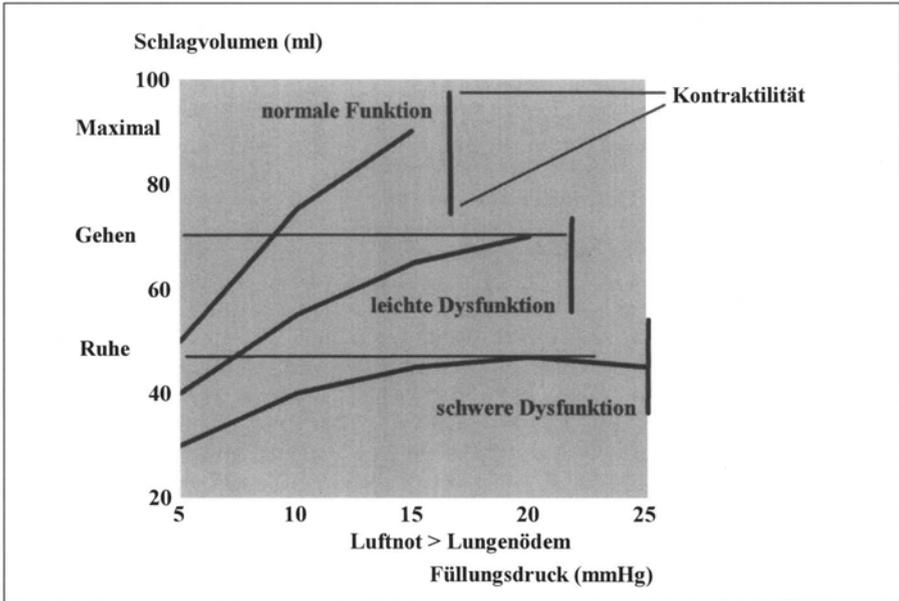
#### Pumpfunktions-Indices

Die systolische Funktion ist bei der linksventrikulären Dysfunktion herabgesetzt. Dies zeigt sich zunächst an einer Verringerung der maximalen Verkürzungsgeschwindigkeit, dann einer Verringerung der maximal entwickelbaren isometrischen Kraft, später einer Verringerung der Ejektionsfraktion und des Schlagvolumens, einer regionalen bzw. globalen Hypokinesie des Ventrikels, einer Verkürzung der linksventrikulären Ejektionszeit, einer Verringerung des Belastungs-herzzeitvolumens und schließlich des Ruheherzzeitvolumens. Die diastolische Funktion des insuffizienten Ventrikels ist häufig bereits in einer Phase herabgesetzt, in der die systolischen Funktionsparameter noch normal sind. Es findet sich eine verlängerte frühdiastolische Relaxation sowie verringerte Dehnbarkeit. Die Dehnbarkeit ist in chronisch volumenüberlasteten Ventrikeln erst bei deutlich vergrößerten Füllungsvolumina, in chronisch drucküberlasteten Ventrikeln bereits bei verkleinerten Füllungsvolumina herabgesetzt. Der koronare Blutfluß des insuffizienten Ventrikels ist bei Verringerung des effektiven Perfusionsdruckes infolge der Abnahme des arteriellen Mitteldruckes bzw. Zunahme des atrialen und ventrikulären Füllungsdruckes und bei Zunahme des Koronargefäßwiderstandes, z.B. durch systolische Zunahme der extravasalen Widerstandskomponente bei Hypertrophie, nach Ausschöpfung der Koronarreserve herabgesetzt. Der myokardiale Energiestoffwechsel des insuffizienten Ventrikels zeigt bei herabgesetztem koronarem Blutfluß eine verringerte Sauerstoffaufnahme. Der Energieverbrauch ist insbesondere bei Hypertrophie durch Veränderung der Zusammensetzung der kontraktile Proteine (Myosin-Isoenzyme) herabgesetzt. Die myokardiale Energieproduktion ist erst in fortgeschrittenen Stadien, d. h. wenn eine signifikante Verringerung des Myofibrillenanteiles am Zellvolumen vorliegt, eingeschränkt. Mit zunehmendem Schweregrad der Herzinsuffizienz werden nacheinander das sympathische Nervensystem, das Renin-Angiotensin-System, das Anti-Diuretische-Hormon-System und gegenregulatorisch das Atriale-Natriuretische-Peptid-System dauerhaft aktiviert und das parasympathische Nervensystem gehemmt. Hierdurch werden die nachfolgenden Kompensationsmechanismen in Gang gesetzt (*Braunwald 1992*).

#### Vorlaststeigerung

Die Vorlaststeigerung, d. h. die Vergrößerung des Ventrikelfüllungsvolumens und Verlängerung der Sarkomere auf 2,2  $\mu\text{m}$  zwecks Bereitstellung einer optimalen Überlappung zwischen dicken und dünnen Filamenten führt im druckbelasteten,

volumenbelasteten oder kontraktionsgestörten Ventrikel zur Optimierung der eingeschränkten systolischen Ventrikelleistung. Dies läßt sich veranschaulichen durch Verschiebung des Arbeitspunktes auf einer abgeflachten Ventrikelfunktionskurve nach rechts (Abbildung 1.2.3A).



**Abbildung 1.2.3A.** Ventrikelfunktionskurve bei linksventrikulärer Dysfunktion.

### Kontraktilitätssteigerung

Die Kontraktilitätssteigerung des insuffizienten Myokards durch Erhöhung der efferenten sympathischen Nervenimpulse und der zirkulierenden Katecholamine zeigt sich an einer auf  $\beta$ -Blockade reversiblen Zunahme des maximal entwickelbaren Druckes, Schlagvolumens und Herzzeitvolumens.

### Herzfrequenzsteigerung

Die Ruheherzfrequenz wird infolge der Daueraktivierung des sympathischen Nervensystems und Hemmung des parasympathischen Nervensystems gesteigert. Aufgrund einer Desensibilisierung des Barorezeptorreflexes kommt es unter Lageänderung, pharmakologischer Intervention und Belastung zu einem gegenüber dem Gesunden verringerten Anstieg der Herzfrequenz.

### Hypertrophie

Im Rahmen der chronischen Herzinsuffizienz kommt es kompensatorisch zur Ausbildung einer Ventrikelhypertrophie. Dabei führt eine chronische Druckbelastung

durch vorwiegend systolisch überhöhte Wandspannung zur Parallelausbildung von Myofibrillen, Verdickung der Myozyten und damit zur konzentrischen Druckhypertrophie. Die chronische Volumenüberlastung führt durch vorwiegend diastolisch überhöhte Wandspannung zur seriellen Ausbildung von Myofibrillen, Verlängerung von Myozyten und damit zur exzentrischen Volumenhypertrophie. Die Mechanismen der Hypertrophie-Entstehung betreffen neben den Myozyten auch die Bindegewebmatrix und Mikrozirkulation. Voraussetzung auf molekularbiologischer Ebene ist die Aufhebung der DNA-Repression mit Ermöglichung von Transkription, Translation und Proteinsynthese. Der Hypertrophie-Stimulus besteht wahrscheinlich in der Aktivierung miteinander vernetzter lokaler Regulationssysteme wie Gewebs-Renin-Angiotensin-System, Endothelin und weiterer Peptid-Wachstumsfaktoren wie der in der vorliegenden Arbeit untersuchten Zytokine.

### **Vasokonstriktion**

Bei fortgeschrittener Herzinsuffizienz kommt es durch organbezogene Vasokonstriktion zur Umverteilung des zunächst unter Belastung, später unter Ruhe reduzierten Herzzeitvolumens von weniger kritischen Organen wie Haut, Nieren und Magen-Darm-Trakt zu vital wichtigen Organen wie Herz und Gehirn.

#### **1.2.4 Determinanten der Progression**

##### **Neurohumorale Daueraktivierung**

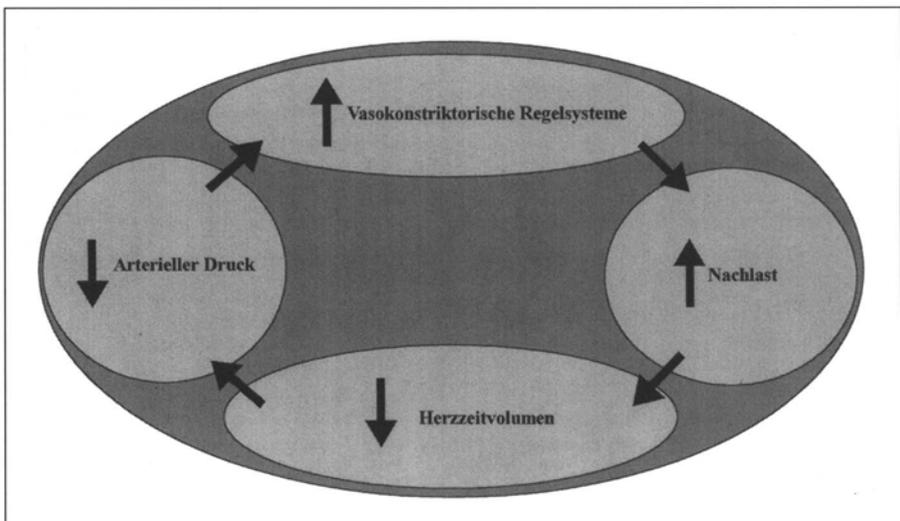
Bei der chronischen Herzinsuffizienz kommt es im Rahmen der Aktivierung der neurohumoralen Systeme zur Erhöhung der Plasma-Spiegel von Noradrenalin, Renin, Angiotensin II, Aldosteron, Anti-Diuretischem Hormon und als Folge der Aldosteron- und Anti-Diuretischen-Hormon-Erhöhung zu einer Erniedrigung des Serum-Natrium-Spiegels. Das Ausmaß der Veränderungen der genannten Parameter korreliert mit dem Schweregrad der Herzinsuffizienz und damit mit der Prognose des Patienten. Dabei ist die Aktivierung der vasokonstriktorisches Regulationsmechanismen nicht nur Folge, sondern auch Ursache des Fortschreitens der schweren chronischen Herzinsuffizienz. Denn auf der einen Seite kommt es zu einer verringerten Dichte, d. h. Down-Regulation, von  $\beta$ -Rezeptoren, zu einem verringertem Ausmaß an Isoproterenol-vermittelter Adenylcyclase-Stimulation, zu einer Verringerung der myokardialen Kontraktilität. Auf der anderen Seite kommt es durch die hohe Konzentration zirkulierender Katecholamine zu einer arteriellen Vasokonstriktion mit konsekutiver Nachlastserhöhung für den insuffizienten Ventrikel sowie zu einem direkt toxischen und arrhythmogenen Effekt auf den insuffizienten Herzmuskel. In jüngster Zeit mehren sich die Hinweise darauf, daß es ein gewebsständiges Renin-Angiotensin-System gibt, das bei fortgeschrittener Herzinsuffizienz aktiviert wird (*Studer 1994*). Diese und das endogene Endothelpeptid Endothelin werden bei der chronischen Herzinsuffizienz aktiviert und bewirken als Wachstumsfaktoren eine myokardiale Hypertrophie und Fibrose sowie Kontraktilitätssteigerung und regionale Vasokonstriktion. Auf der anderen Seite werden bei der chronischen Herzinsuffizienz lokal Endothelium Derived Relaxation Factor (= Stickoxid = nitric oxide = NO) und Prostaglandin I<sub>1</sub>/E<sub>2</sub> vermehrt freigesetzt und bewirken eine Vasodilatation sowie Kochsalz- und Wasser-

diurese. Obwohl sich diese Gegenregulation und eine Erhöhung des atrialen natriuretischen Peptides findet, geht diese nicht mit einer effektiven Gegensteuerung, d. h. Vasodilatation, einher. Dieses wird mit einem Überwiegen der ebenfalls daueraktivierten vasokonstriktorischen Systeme erklärt. Auch die anderen vasodilatatorischen Systeme wie die Prostaglandine scheinen das Überwiegen der vasokonstriktorischen Einflüsse nicht aufheben zu können.

### **Circulus vitiosus**

Damit kommt es zu einer Imbalance zwischen vasokonstriktorischen und vasodilatatorischen Einflüssen zugunsten der vasokonstriktorischen. Durch die damit verbundene Nachlasterhöhung kommt es zu einer weiteren Funktionseinschränkung des insuffizienten Ventrikels (Abbildung 1.2.4A).

Die überschießende Erhöhung der Plasma-Katecholamin-Spiegel begünstigt kardiale Arrhythmien auf Vorhof- und Ventrikelebene, die ihrerseits zu einer Verschlechterung der hämodynamischen Situation beitragen. Die aktivierten neurohumoralen Systeme führen über die Tätigkeit von verschiedenen Wachstumsfaktoren zum einen zur Herzmuskelhypertrophie, somit zu vermehrter Wandspannung, erhöhtem koronaren Perfusionswiderstand und verringerten Dehnbarkeit, zum anderen zu zunehmender Vermehrung des bindegewebigen Anteils im Herzmuskel, d. h. Fibrose. Beide tragen zur weiteren Verschlechterung der Pumpfunktion bei.



**Abbildung 1.2.4A.** Circulus vitiosus bei linksventrikulärer Dysfunktion.

## 1.2.5 Therapeutische Strategien

### Therapieziele

Aufbauend auf das Verständnis der Pathophysiologie der linksventrikulären Dysfunktion lassen sich folgende derzeit allgemein akzeptierten Therapieziele formulieren:

- 1) Beseitigung der Ursache, z.B. durch Behandlung von Endokarditis, Vitien, und arterieller Hypertonie.
- 2) Beseitigung der Auslöser, z.B. durch Behandlung von Infekten.
- 3) Verringerung einer überhöhten Ventrikelnachlast, z.B. durch körperliche Schonung, Unterbrechung der überschießenden neurohumoralen Regulation und Verringerung der Ventrikeldilatation.
- 4) Verringerung einer überhöhten Ventrikelvorlast, z.B. durch Flüssigkeits- und Kochsalzeinschränkung, Diuresestimulation und Venodilatation.
- 5) Erhöhung der eingeschränkten Kontraktilität, z. B. durch positiv inotrope Pharmaka.
- 6) Optimierung des Herzrhythmus, z.B. durch A-V-Synchronisation und Arrhythmiebehandlung.

### Stufenkonzept

Aufbauend auf die formulierten Therapieziele läßt sich folgender Therapie-Stufenplan für die Behandlung der linksventrikulären Dysfunktion (*Braunwald 1992*) angeben:

- 1) Als Basismaßnahmen dienen die körperliche Schonung zur Verringerung der Ventrikelnachlast sowie die Kochsalz- und Flüssigkeitsrestriktion zur Verringerung der Ventrikelvorlast.
- 2) Im NYHA-Stadium II/III kommen Diuretika und Nitrate zur Vorlastsenkung, Digitalis zur Inotropie-Steigerung sowie ACE-Hemmer, Hydralazin und Nitrate zur Nachlastsenkung zum Einsatz.
- 3) Im NYHA-Stadium IV finden Katecholamine und Phosphodiesterasehemmer als positive Inotropika Anwendung. Ist die Herzinsuffizienz in diesem Stadium therapierefraktär, ist der Einsatz von Herzunterstützungssystemen und Herztransplantation gerechtfertigt.

---

## 1.3 Studienhypothese

Die Hypothese der vorliegenden Arbeit geht davon aus, daß bei chronischer Herzinsuffizienz, unter Operation mit extrakorporaler Zirkulation und nach Herztransplantation eine ähnliche Regulation von Zytokinen besteht und daß diese mit dem Schweregrad der linksventrikulären Dysfunktion und mit dem postoperativen klinischen Verlauf korreliert. Das zentrale Postulat dieser Arbeit ist die Existenz einer Syndrom-unspezifischen Regulation von Zytokinen mit vergleichbaren Beziehungen zur kardialen Funktion im Sinne einer gemeinsamen Endstrecke. Die vorherrschenden gegenwärtigen Auffassungen der Pathophysiologie der drei

Syndrome bestehen in einer jeweils spezifischen Erklärung für die Entstehung der linksventrikulären Dysfunktion in den drei untersuchten Situationen, nämlich eine chronische neuroendokrine Aktivierung bei der chronischen Herzinsuffizienz, eine Mediatorvermittlung nach extrakorporaler Zirkulation und eine Immunvermittlung nach Herztransplantation.

Die Begründung für die dargestellte Hypothese liegt darin, daß für jedes dieser drei klinisch und pathophysiologisch unterschiedlichen Syndrome klinische und experimentelle Befunde vorliegen (siehe 1.1.2), die eine pathophysiologische Rolle der Zytokine Interleukin-2, Interleukin-6 und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  bei der Entstehung und dem Verlauf der linksventrikulären Dysfunktion vermuten lassen.

Die Bedeutung dieser Hypothese liegt darin, daß bei Verifizierung eines korrelativen Zusammenhanges und Nachweis einer kausalen Beziehung in weiteren Experimenten Ansätze für ein verbessertes intensivmedizinisches Monitoring, eine effektive Prophylaxe sowie eine Therapie mit spezifischen Inhibitoren bzw. Rezeptor-Antagonisten daraus herzuleiten sind.