
Aus der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin I
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. Stefan Frantz

**„Zusammenhänge zwischen der Immunantwort und den
myokardialen Heilungsprozessen (Remodeling) bei
Patienten nach akutem transmuralen Erstinfarkt bzw.
nach akuter Myokarditis“**

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg

vorgelegt von
Sina von der Heide
aus Würzburg
Würzburg, 2021

Referent: Prof. Dr. med. R. Jahns

Koreferent: Priv.-Doz. Dr. N. Beyersdorf

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 05.11.2021

Die Promovendin ist Zahnärztin.

Hinweis

Die im nachfolgenden Text genannten Handelsnamen, Warenbezeichnungen und Gebrauchsbezeichnungen sind teilweise patent- und urheberrechtlich geschützt. Aus dem Fehlen eines besonderen Hinweises bzw. des Zeichens ® darf nicht geschlossen werden, dass kein patent- oder urheberrechtlicher Schutz besteht.

Aus Gründen der besseren Lesbarkeit wird auf die gleichzeitige Verwendung männlicher und weiblicher Sprachformen verzichtet. Sämtliche Personenbezeichnungen gelten gleichwohl für beiderlei Geschlecht.

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Pathogenese einer Ischämie-bedingten Herzinsuffizienz	1
1.2	Pathogenese einer inflammatorischen Herzschädigung.....	3
1.3	Immunologische Reaktionen bei Herzerkrankungen.....	6
1.4	Labormarker einer (kardialen) Inflammation.....	11
1.4.1	Proinflammatorische Zytokine	11
1.4.2	Antiinflammatorische Zytokine	16
1.4.3	Die Bedeutung von CTLA-4 (CD125) und die Rolle der CTLA-4-Genotypen.....	18
1.4.4	Bestimmung der CK und ihre Bedeutung	20
1.5	Der adrenerge Rezeptor und (Auto-)Antikörper gegen den β_1 -Rezeptor	21
1.6	Die prospektive ETiCS-Studie.....	23
1.7	Zielsetzung der Arbeit (Analyse von Inflammation und Immunaktivierung)	24
2.	Material und Methoden	25
2.1	Studiendesign und Patientenkollektive der ETiCS-Studie	25
2.2	Immunologische Analytik / Detektion von β_1 -Autoantikörpern.....	29
2.2.1	Messung/Detektion von β_1 -Autoantikörpern mittels Durchflusszytometrie (FACS)	29
2.2.2	Bestimmung des Zytokinprofils mittels Multiplex array	30
2.2.3	CTLA-4 Genotypen und CTLA-4 Expression	33
2.2.4	Datenauswertung	34
3.	Ergebnisse	35
3.1	Studienpopulationen / Rekrutierungszahlen	35
3.2	Vergleich der β_1 -Autoimmunreaktivität und Verlauf der LV-Pumpfunktion.....	36
3.3	Zytokinprofile im Verlauf bei AMitis versus FAMI-Patienten	39
3.4	Grad der Aktivierung des Immunsystems und Ausbildung von β_1 -AAk	51
3.5	CTLA-4 Haplotypen und Ausbildung von β_1 -AAk	61
4.	Diskussion	64
4.1	Prävalenz/Ausbildung von β_1 -AAk und Verlauf der LV-Pumpfunktion	64
4.2	Zytokinprofile im Vergleich zwischen AMitis/FAMI und Grad der Immunaktivierung und Ausbildung von β_1 -AAk.....	65
4.3	CTLA-4 Haplotypen und Ausbildung von β_1 -AAk	69
4.4	Bedeutung der Ergebnisse für zukünftige Diagnostik und Therapie.....	70

4.5	Limitationen der Arbeit.....	72
5.	Zusammenfassung.....	74
6.	Literatur.....	76
Appendix		
I.	Abkürzungsverzeichnis	
II.	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	
III.	Danksagung	

1 Einleitung

1.1 Pathogenese einer Ischämie-bedingten Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz (HI) ist gekennzeichnet durch eine (Pump-)Funktionsstörung einer oder beider Herzkammern, was zu einer Erhöhung der kardialen Wandspannung, einer verminderten Auswurfleistung des Herzens und somit zu einer unzureichenden Organperfusion schon in Ruhe oder bei Belastung führt. Dies resultiert in einer verminderten körperlichen Belastbarkeit. Klinische Leitsymptome sind Flüssigkeitsretention, Dyspnoe und Müdigkeit^[177]

Bei dem Syndrom der HI handelt sich um ein langsam aber kontinuierlich fortschreitendes Krankheitsbild als gemeinsame Endstrecke unterschiedlicher Ätiologien. Die Hauptursachen sind laut der Framingham Heart Study arterielle Hypertonie (49%), koronare Herzerkrankungen (29%), Diabetes mellitus (9%), Herzklappenerkrankungen (8%) und eine isolierte LV-Hypertrophie (5%).^[90] Weitere Ursachen sind Herzrhythmusstörungen, Entzündungen des Herzmuskels (sog. Myokarditiden) und sekundäre Herzbeteiligung bei systemischen (Speicher-) Erkrankungen.^[87]

Die Prävalenz ist sowohl alters- als auch geschlechtsabhängig. Zwischen 45 – 55 Jahren leidet ca. 1% der Bevölkerung an einer Herzinsuffizienz, zwischen 65 – 75 Jahren sind es 2 – 5%, bei Menschen über 85 Jahren 10%. Männer sind im Vergleich zu Frauen im Verhältnis von 1,5:1 betroffen.^[87, 94]

Der Schweregrad einer HI wird nach einer Klassifikation der New York Heart Association (NYHA) in vier Stadien eingeteilt. Im Stadium I besteht subjektiv Beschwerdefreiheit bei normaler körperlicher Belastung, ohne Symptome wie Dyspnoe, Angina pectoris, Müdigkeit oder Herzklopfen. Im Stadium II treten die genannten Beschwerden bei stärkerer körperlicher Belastung auf. In Ruhe und bei geringer körperlicher Belastung sind die Patienten jedoch beschwerdefrei. In Stadium III machen sich Symptome bereits bei leichterer körperlicher Belastung bemerkbar. Die physische Aktivität der Patienten ist deutlich eingeschränkt. Bei Stadium IV treten Beschwerden schon in Ruhe auf; eine größere physische Aktivität ist bei diesen Patienten kaum noch möglich. Im NYHA-Stadium IV wird die Ein-Jahres-Überlebensrate mit <50% angegeben.^[185]

Tabelle 1: **Klassifikation der Herzinsuffizienz nach New York Heart Association (NYHA)**

beruhend auf dem Schweregrad der klinischen Symptomatik und der physischen Aktivität der Patienten;
DGK Leitlinie Herzinsuffizienz 2016^[85]

Klasse I	Keine Einschränkung der physischen Aktivität Normale körperliche Belastung führt nicht zu Dyspnoe, Palpitationen oder Müdigkeit
Klasse II	Leichte Einschränkung der physischen Aktivität In Ruhe Beschwerdefreiheit, bei stärkerer körperlicher Belastung jedoch Symptome (Dyspnoe, Palpitationen, Müdigkeit)
Klasse III	Deutliche Einschränkung der physischen Aktivität In Ruhe Beschwerdefreiheit, bereits bei geringer körperlicher Belastung Auftreten von Symptomen (Dyspnoe, Palpitationen, Müdigkeit)
Klasse IV	Auftreten von Symptomen bei jeglicher Art von physischer Aktivität Beschwerden können in Ruhe vorhanden sein Verstärkung der Symptome bei zunehmender körperlicher Belastung

Man unterscheidet zwischen einer akuten und einer chronischen Herzinsuffizienz. Die akute Form kann sich im Verlauf weniger Minuten bis Tagen entwickeln und weist eine hohe Letalität auf. Sie ist meist Folge akuter Ereignisse, wie zum Beispiel einem Myokardinfarkt, einer fulminanten Myokarditis oder einer hypertensiven Krise. Die chronische HI entsteht innerhalb von Monaten bis zu Jahren und ist durch Reparatur- und Umbauphänomene bedingt. Sie findet sich häufig z.B. nach einem Herzinfarkt, bei chronischer Myokarditis, hypertensiver Herzschrägung oder einem progredienten Herzklappenfehler.

Zu unterscheiden sind weiterhin die kompensierte von der dekompenzierten chronischen HI. Die kompensierte Form weist meist nur eine geringe Leistungsminderung auf, während es bei der dekompenzierten Form akut zu einer deutlichen Verminderung der Herzleistung kommt.^[185]

Zur Kompensation der reduzierten ventrikulären Pumpfunktion werden verschiedene Anpassungsmechanismen aktiviert, die zu einer temporären Stabilisierung der Myokardfunktion und somit zur Sicherung der Organperfusion beitragen. Nach einem Myokardinfarkt verändert das die Narbe umgebende, nicht infarzierte Myokard durch strukturelle und molekulare Anpassungen seine Form und sein Volumen. Diese mit zunehmender Fibrosierung des Herzmuskels einhergehenden Reparaturvorgänge werden als „ventrikuläres Remodeling“ bezeichnet und führen letztlich zu einer

Progression der HI. Der linke Ventrikel erfährt durch die Größenzunahme eine Veränderung von einer elliptoiden hin zu einer kugeligen Form.^[185] Zugleich nimmt die Wandspannung auch in dem den Infarkt benachbarten Myokardarealen zu. Dies führt zu einem vermehrten Sauerstoffverbrauch, einer beeinträchtigten subendokardialen Durchblutung, einer verminderten systolischen Verkürzungsfraction und einer gesteigerten Apoptose (Zelltod) von Kardiomyozyten. Die Apoptose der Herzmuskelzellen und deren Ersatz durch fibrotisches Gewebe werden von der Aktivierung oder Inhibierung bestimmter Signalwege begleitet und erlauben so eine molekulare Charakterisierung des Remodelings.^[8, 112, 118] Trotz einer erfolgreichen frühen Reperfusion, entwickelten ca. 20% der Patienten eine (links-) ventrikuläre Dilatation^[52], die im Laufe der Zeit in eine terminale Herzinsuffizienz münden kann.^[51]

1.2 Pathogenese einer inflammatorischen Herzschiidigung

Entzundliche Herzerkrankungen k6nnen in Endo-, Peri- und Myokarditis eingeteilt werden. Bei Myokarditiden verlauft der Entzundungsprozess im Herzmuskelgewebe, es kommt zu einer nicht-ischamischen Schadigung von Kardiomyozyten. Inflammatorische Zellen infiltrieren das Myokard und verursachen eine Degeneration und Nekrose der Myozyten. Ausloser der inflammatorischen Kardiomyopathie k6nnen sowohl infekti6se Erreger wie Viren, Bakterien und Parasiten sein; sie kann aber auch begleitend bei Systemerkrankungen wie rheumatoiden Erkrankungen (z.B. Sj6gren-Syndrom), Sarkoidose und/oder Speicherkrankheiten (z.B. M. Fabry, Hämochromatose) auftreten. Zudem kann eine Entzundung des Herzmuskels idiopathisch oder Folge einer (Auto-) Immunaktivierung sein. Sie kann unter anderem postinfekti6s nach einer Grippeimpfung, bei entzundlichen Darmerkrankungen oder einem systemischen Lupus erythematodes auftreten. Riesenzellmyokarditis und eosinophile Myokarditis sind typische immunologische Erkrankungen aus dem rheumatischen Formenkreis. Die weitaus h6ufigste Ursache in westlichen Industrielandern ist eine virale Infektion des Myokards. Zu den auslosenden Viren zahlen z.B. Enteroviren, Adenoviren, das humane Herpesvirus 6, das Ebstein-Barr-Virus, Influenzaviren, das Hepatitis C-Virus, HIV, das Herpes-simplex-Virus und das Varicella-Zoster-Virus. In Entwicklungslandern sind eher Bakterien, Pilze und Protozoen Verursacher einer Herzmuskelentzundung.^[82, 121, 144]

Da die Symptome und Beschwerden bei einer Myokarditis zu Beginn meist uncharakteristisch sind, wird diese h6ufig erst diagnostiziert, wenn auch schwerere kardiale Symptome eintreten. Diese au6ern sich in Palpitationen, pektangi6sen

Beschwerden und einer Belastungsdyspnoe. Eine Myokardbeteiligung kann dann meist auch durch erhöhte Herzenzyme und ST-Streckenveränderungen im EKG nachgewiesen werden. Eine zweifelsfreie (und dann auch für die weitere Therapie relevante) Diagnose kann nur durch den Nachweis einer Myokardbiopsie gestellt werden.^[82, 144]

Generell lässt sich das menschliche Immunsystem in zwei verschiedene Abwehrsysteme einteilen, welche miteinander vernetzt sind. Das angeborene, unspezifische Immunsystem ist jederzeit aktiv und steht innerhalb weniger Minuten bis Stunden für die Immunabwehr zur Verfügung, während die spezifische (erworbene) Immunabwehr erst innerhalb von einigen Tagen nach Erstkontakt mit einer Fremdsubstanz reagiert. Aus pluripotenten hämatopoetischen Stammzellen des Knochenmarks entwickeln sich unter Beteiligung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren Zellen für das angeborene und das erworbene Immunsystem. Zu den Zellen der angeborenen, unspezifischen Immunabwehr gehören Mastzellen, Makrophagen, Monozyten, Granulozyten (neutrophil, eosinophil, basophil), natürliche Killerzellen und Thrombozyten. Das spezifische Immunsystem reagiert auf die Präsentation von Antigenen mit der Produktion von Antikörpern. Wichtige Zellen des spezifischen, adaptiven Immunsystems sind Antigenpräsentierende Zellen (APCs), dendritische Zellen, sowie T- und B-Lymphozyten.^[148]

Nach heutiger Vorstellung läuft die Entzündung des Herzmuskels in drei Phasen ab. Am Anfang steht die Akutphase, gekennzeichnet durch eine Infiltration des Myokards durch Leukozyten (v.a. neutrophile Granulozyten), Erythrozyten, Thrombozyten und Lymphozyten sowie Mediatoren, die Zellen des unspezifischen Immunsystems anlocken und für eine gesteigerte Permeabilität des Gewebes sorgen.

Danach folgt die subakute Phase: Es kommt zu einer Exsudation von Blutplasma in das umgebende Gewebe sowie der Proliferation und Differenzierung von Granulozyten, Monozyten, Makrophagen, Endothelzellen, Fibroblasten, natürlichen Killerzellen, Thrombozyten und T-Lymphozyten. Nach erfolgter Differenzierung von Monozyten zu Makrophagen vernichten diese zusammen mit den zytotoxischen T-Zellen die virusinfizierten Herzmuskelzellen.

Anschließend findet in der Ausheilungsphase eine Fibrose des beeinträchtigten Myokards statt. Durch umliegende Endothelzellen kommt es zu einer Angiogenese von Blutkapillaren, welche das Granulationsgewebe bilden, sowie der Proliferation von Fibroblasten. Die Fibroblasten differenzieren sich zu Fibrozyten, die die Bildung der

extrazellulären Matrix bewirken, was letztendlich in einer Narbenbildung und dem Remodeling des Gewebes resultiert^[121, 124, 145]

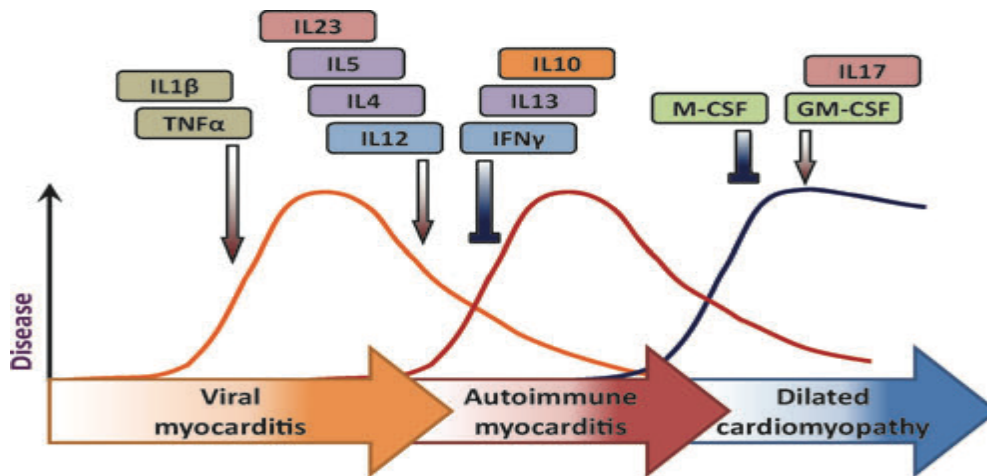


Abbildung 1: Einfluss der Zytokine auf die Entwicklung einer viralen Myokarditis zu einer autoimmunen Myokarditis und einer dilatativen Kardiomyopathie nach Rose, N.: Critical Cytokine Pathways to Cardiac Inflammation, J Interferon Cytokine Res, 2011^[135]

Bei 60 – 70 % der Patienten findet im Krankheitsverlauf eine Besserung statt, bei 30 – 40 % tritt allerdings nach Monaten oder Jahren eine chronische Herzinsuffizienz oder eine dilatative Kardiomyopathie auf.^[82] Besonders bei persistierender Entzündung des Myokards, bei der keine ausreichende Bekämpfung der Infektionserreger erfolgt oder sich eine Bildung pathogener Autoantikörper gegen myokardiale Strukturen, Sarkosplasma- oder Sarkolemm-Proteine zeigt, wird ein Fortschreiten der Myokarditis zu einer dilatativen Kardiomyopathie, kurz DCM, beobachtet.^[81] Eine DCM äußert sich in einer Dilatation und beeinträchtigen Kontraktilität des linken oder beider Ventrikel.^[76, 129] Ferner können aufgrund des Untergangs von Myokardgewebe, ausgelöst durch eine Myokarditis, die myokardiale Pumpleistung sowie die Füllung der Herzkammern beeinträchtigt sein. Dies führt zur Abnahme des Herzzeitvolumens verbunden mit einer vermehrten Arbeitsleistung des Herzens zur Kompensation, was wiederum eine Hypertrophie des Myokards und eine Dilatation des linken Ventrikels auslösen kann. Folge dieser Prozesse kann letztendlich eine Herzinsuffizienz sein.^[153]

Ausgelöst durch eine diffuse Apoptose von virus-befallenen Kardiomyozyten infolge einer viralen Myokarditis kann sich eine kongestive Herzinsuffizienz und später eine dilatative Kardiomyopathie entwickeln. Bei (seltener) subendothelialer Infiltration und Vernarbung kann eine restriktive Kardiomyopathie entstehen.^[99]

1.3 Immunologische Reaktionen bei Herzerkrankungen

Viele Studien beschäftigen sich mit den Konzentrationen von immunologischen Markern bei Patienten nach einem erlittenen Myokardinfarkt und bei KHK-Patienten. Diese Marker können einen Einfluss auf das Remodeling des linken Ventrikels haben und sind mit dem Risiko für zukünftige Myokardinfarkte assoziiert.^[54, 119, 154] Die Serumspiegel der verschiedenen Zytokine und Chemokine lassen zum Teil auch eine Prognose für den weiteren Verlauf der Erkrankung zu.

Die Wundheilung nach einem Myokardinfarkt erfolgt in drei Phasen. Zu Beginn steht die inflammatorische Phase. Durch die akute Nekrose des Myokards und Schädigung der Zellmatrix werden endogene Alarmsignale freigesetzt, sogenannte DAMPs (*damage-associated molecular patterns*).^[161] Diese aktivieren das Komplementsystem und gleichzeitig wird die pro-inflammatorische Signaltransduktion über Toll-like-Rezeptoren und Interleukin-1 (IL-1) stimuliert. Dies initiiert das NF-κB-System und die Freisetzung von Chemokinen, Zytokinen und Adhäsionsmolekülen durch Leukozyten, Fibroblasten und Endothelzellen.^[55, 115] Als Folge davon werden nekrotische Zellen durch in das Infarktgebiet einwandernde neutrophile Granulozyten und Monozyten abtransportiert. Das Ende dieser Phase ist gekennzeichnet durch eine Apoptose neutrophiler Granulozyten. Nachfolgend können entzündungshemmende Signale das Auflösen der Leukozyteninfiltrate begünstigen.^[45]

Es schließt sich nun die Proliferationsphase an, die durch die Chemotaxis von Monozyten in das infarzierte Myokard charakterisiert ist. Dort angekommen differenzieren sich diese zu Makrophagen. Makrophagen spielen eine Rolle bei der Phagozytose nekrotischer Zellen.^[111] Differenzierung und Wachstum von Myofibroblasten und Endothelzellen führen zu einem „Verschleiß“ bzw. der „Heilung“ der Wunde: Es wird Narbengewebe aus strukturellen Matrixproteinen gebildet.

Abschließend kommt es in der sogenannten „Maturationsphase“ zu einer fortschreitenden Apoptose von Zellbestandteilen und einer Vernetzung von Kollagen. Im Zuge der Infarktheilung dilatiert der linke Ventrikel, nichtinfarzierte Areale hypertrophieren und weisen eine erhöhte interstitielle Fibrose auf.^[45]

Bei Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt zeigt sich eine vermehrte Ausschüttung von neutrophilen Granulozyten und Monozyten, die Gesamtanzahl der Lymphozyten ist dagegen herabgesetzt.^[42] CD4+ T-Lymphozyten werden nach einem akuten Myokardinfarkt vermindert exprimiert, während es dagegen zu einer verstärkten Bildung

von CD8+ T-Lymphozyten kommt.^[3, 91] Besteht dieses Missverhältnis über einen längeren Zeitraum, ist dies prognostisch ungünstig.^[17]

Bei Kontakt einer aktivierten dendritischen Zelle (DC) mit CD4+- oder CD8+-T-Zellen entstehen im Rahmen der T-Zell-Antwort T-Effektorzellen. Aus CD4+-T-Zellen entstehen je nach Stimulation durch verschiedene Zytokine T_H1-, T_H2-, T_H3-, T_H17-, T_H19-, T_H22- und induzierte regulatorische T-Zellen (iT_{Reg}).

Wird vermehrt IFN- γ und IL-12 sezerniert kommt es zu einer Differenzierung der T_H0-Zellen zu T_H1-Zellen. Eine weitere Voraussetzung für die Bildung von T_H1-Zellen ist die Bindung des Antigens auf dem MHC-II-Molekül der dendritischen Zelle an den T-Lymphozyten-Rezeptors (TCR) mit mittlerer Affinität. T_H1-Zellen setzen proinflammatorische Zytokine frei, die für die Immunantwort wichtig sind. Dazu gehören IFN- γ , IL-2, IL-6, IL-12, IL-15, TNF- α , GM-CSF und Lymphotoxin. T_H1-Zellen dienen zur Abwehr von Viren und Bakterien, außerdem regen sie B-Lymphozyten zur Antikörperproduktion und einen Klassenwechsel von IgM hin zu IgG1 und IgG3 an (adaptives Immunsystem). Durch die Aktivierung von natürlichen Killerzellen (= NK), Makrophagen und Endothelzellen kommt es zudem zu einer verstärkten Reaktion des angeborenen Immunsystems. Des Weiteren besteht ein Zusammenhang zwischen T_H1-Zellen und Autoimmunerkrankungen und Hypersensitivitätsreaktion vom verzögerten Typ.^[132, 149]

Findet eine Bindung von geringer oder sehr hoher Affinität zwischen dem antigenen Peptid auf dem MHC-II-Molekül der DC und dem TCR statt, während weiterhin die Konzentration von IL-12, IL-23, IL-27 und IFN- γ niedrig ist, werden T_H2-Zellen gebildet. Diese produzieren IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, IL-13, IL-14, TGF- β und GM-CSF. B-Lymphozyten werden durch T_H2-Zellen aktiviert, es wird ein Klassenwechsel, hauptsächlich von IgE und IgA, verursacht. T_H2-Zellen sind maßgeblich an der Abwehr mehrzelliger Parasiten durch die Stimulation der Proliferation von eosinophilen Granulozyten beteiligt. Auch bei der Reaktion auf Allergien vom Soforttyp und bei Asthma spielen sie eine wichtige Rolle. Über IL-4 und IL-10 vermögen die T_H2-Zellen die T_H1-Antwort zu unterdrücken.^[132, 149] Laut jüngsten Ergebnissen scheinen erhöhte T_H2-Zahlen mit einer verminderten Intima-Media-Dicke der Carotiden und folglich mit einem geringeren Myokardinfarkttrisiko zu korrelieren, weshalb T_H2-Zellen vermeintlich eine protektive Wirkung haben.^[41]

Zur Differenzierung von T_H17-Zellen aus naiven CD4+ T-Zellen wird eine erhöhte Konzentration an IL-6, IL-1 β , IL-21 und TGF- β benötigt, während IL-2, IL-4, IL-12 und IFN- γ die Bildung von T_H17-Zellen inhibieren. Die Lebensdauer von T_H17-Zellen wird

durch IL-23 positiv beeinflusst. T_H17-Zellen vermitteln eine inflammatorische Reaktion des angeborenen Immunsystems. Dies geschieht durch die Sezernierung proinflammatorischer Zytokine wie IL-6, IL-17, IL-21, IL-22, IL-26, GM-CSF und TNF- α . Ferner werden Makrophagen, Granulozyten, Endothelzellen, Epithelzellen, Fibroblasten sowie Hepatozyten durch T_H17-Zellen aktiviert. Bedingt durch IL-17 wird auch das erworbene Immunsystem beeinflusst. Es erfolgt eine Hemmung zytotoxischer CD8+ T-Lymphozyten sowie die Aktivierung von T_H2-Zellen. Die durch T_H17-Zellen ausgelöste Reaktion des Immunsystems richtet sich unter anderem gegen extrazelluläre Bakterien und Pilze. Eine Überexpression von T_H17-Zytokinen kann in Zusammenhang mit einer Vielzahl an Autoimmunerkrankungen gebracht werden. Durch die Hemmung der Differenzierung von T_H1-Zellen kann es zu einer viralen Persistenz kommen. Zudem können T_H17-Zellen die Produktion pathogener Autoantikörper in B-Zellen anregen.^[132, 149]

Eine Studie wies bei Patienten mit einer akuten viralen Myokarditis eine erhöhte Serumkonzentration von T_H17-Zellen und IL-17 im Vergleich zu gesunden Probanden nach. Dies deutet darauf hin, dass T_H17-Zellen in der Pathogenese einer viralen Myokarditis von Bedeutung sein könnten.^[183]

Regulatorische Lymphozyten (T_{Reg}) werden unterteilt in natürliche (nT_{Reg}) und induzierte (iT_{Reg}). Im Thymus findet die Differenzierung der nT_{Reg} unter simultanem Einfluss von IL-2, TGF- β und TNF- α statt. In der Peripherie gehen iT_{Reg} aus naiven CD4+ T-Zellen durch die Wirkung von IL-2, IL-10, TNF- α und TGF- β hervor. Die Entwicklung, Funktion und Homöostase wird maßgeblich von FOXP3 beeinflusst. Beiden Formen der regulatorischen Lymphozyten ist gemein, dass sie immunsuppressive Zytokine wie IL-10 und TGF- β produzieren, sowie auch den Transkriptionsfaktor FOXP3, CD4 und CD25. Da T_{Reg} selbst kein IL-2 produzieren können, vermögen sie ihre Vervielfältigung nicht zu beeinflussen. Etwa 5 – 10% der zirkulierenden CD4+ T-Zellen sind T_{Reg}. Der Wirkmechanismus besteht in der Steuerung der Prägung von T_H1-, T_H2- und T_H17-Lymphozyten sowie in der Reaktion auf sowohl körpereigene als auch körperfremde Antigene. Zudem hemmen sie die Aktivierung und Differenzierung von Makrophagen, dendritischen Zellen und B-Lymphozyten. Generell findet eine Unterdrückung der T-Zell-Antwort durch T_{Reg} statt, um Über- und Fehlreaktionen des Immunsystems zu vermeiden. Jedoch kann es zu einer vermehrten Replikation von Viren kommen, da auch die antivirale Immunreaktion abgeschwächt wird. Dies kann eine Persistenz der viralen Infektion zur Folge haben. Beeinträchtigungen von FOXP3

können eine Dysregulation des Immunsystems und gravierende Entzündungs- oder Autoimmunerkrankungen zur Folge haben.^[66, 132, 149, 180]

Zu den erhöhten Markern nach einem kardiovaskulären Ereignis zählen IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, IL-8, TNF- α , MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1, IFN- γ und Eotaxin, während IL-12 und IL-18 vermindert sind.

Die Rolle von IL-10 wird kontrovers diskutiert: Einige Studien berichten eine erhöhte, andere hingegen eine verminderte Sekretion. Mit einer schlechteren Prognose von Herzerkrankungen assoziiert scheinen erhöhte Werte von TNF- α , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-6, IL-10, IL-18 und MCP-1.^[5, 12, 16, 89, 109, 136, 165, 168]

Im Verlauf einer Myokarditis wurden erhöhte Spiegel an IL-1 α , IL-1 β , IL-2, TNF- α und GM-CSF nachgewiesen.^[99-101]

Interleukin IL-1 ist der Prototyp proinflammatorischer Zytokine. Es induziert eine Rekrutierung von Leukozyten in das infarzierte Gewebe und beeinflusst zudem die Synthese chemotaktisch wirksamer Mediatoren.^[22, 23] Für die Prozessierung und Produktion von aktiviertem IL-1 β werden sogenannte Inflammasome benötigt. Diese Proteinkomplexe, die sich in Leukozyten, Fibroblasten und Kardiomyozyten nachweisen lassen, wurden vermehrt im infarzierten Myokard gefunden.^[74, 106]

Als wichtiger Entzündungsmediator scheint IL-1 eine wichtige Rolle bei der Progression der koronaren Herzkrankheit (KHK) zu spielen.^[138] Bei Patienten mit stabiler KHK zeigten sich die Serumspiegel von IL-1 β und IL-1RA erhöht, was dann bei Entwicklung eines akuten Koronarsyndroms zu einer höheren Mortalität führte.^[12, 61, 89, 109]

Das von aktivierten T-Lymphozyten freigesetzte IL-2 aktiviert vor allem B- und T-Lymphozyten sowie Monozyten. Bei Patienten mit KHK, die einen Myokardinfarkt durchgemacht haben oder an einer instabilen Angina pectoris leiden sowie bei Myokarditis-Patienten, konnten im Vergleich zu gesunden Probanden erhöhte IL-2 Spiegel nachgewiesen werden.^[99, 101, 109] Ergebnisse einer Studie fanden ebenfalls erhöhte Werte an IL-2 bei Patienten mit alleiniger Koronarsklerose.^[98]

Eine erhöhte Expression des antiinflammatorischen Zytokins IL-4, das eine Stimulation der IgE-Produktion und eine Hemmung der Sekretion proinflammatorischer Zytokine, wie TNF- α und IL-1, bewirkt, wurde bei KHK erstmals 2006 festgestellt,^[98] was erst kürzlich (2015) nochmals bestätigt werden konnte.^[107]

In verschiedenen KHK-Studien wurden erhöhte Serumspiegel an IL-6 gemessen.^[44, 62, 98, 108] Dieses proinflammatorische Zytokin stammt hauptsächlich aus der Produktion von Makrophagen und stimuliert in der Leber die Freisetzung von CRP (C-reaktives Protein). Da IL-6 wesentlich zu einer generellen Entzündungsreaktion beiträgt, spielt es

wahrscheinlich auch bei der Entstehung einer KHK und einer Arteriosklerose eine Rolle. Eine erhöhte Expression von IL-6 wurde als Risikofaktor für zukünftige Myokardinfarkte und kardiovaskuläre Ereignisse beschrieben.^[13, 14, 60, 93, 108, 131]

IL-10 hat eine starke antiinflammatorische Wirkung. Es beeinflusst die Expression von Matrix-Metalloproteasen und supprimiert die Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine.^[34, 45, 110, 186] Zur Sekretion von IL-10 nach einem Myokardinfarkt gibt es widersprüchliche Angaben in der Literatur. Zum einen wurde ein Abfall der Konzentration nachgewiesen, zum anderen wurde ein Konzentrationsanstieg bemerkt.^[41, 109] Das Mortalitätsrisiko und die Wahrscheinlichkeit, einen Myokardinfarkt zu erleiden, scheint bei erhöhten Serumspiegeln deutlich reduziert. Dies lässt darauf schließen, dass IL-10 kardioprotektive und antiinflammatorische Eigenschaften besitzt.^[62]

IL-12, das einer Induktion von T_H1-Zellen dient und die Sekretion von IFN- γ stimuliert, war im Serum von KHK-Patienten vermindert.^[98]

Die Stimulation mononukleärer Zellen durch TNF- α führt zu einer Freisetzung weiterer proinflammatorischer Zytokine, Chemokine und Adhäsionsmoleküle.^[46] Verschiedene Studien konnten eine erhöhte Konzentration an TNF- α bei Patienten nachweisen, die an einer akuten Myokarditis oder einer KHK leiden, sowie nach einem Myokardinfarkt.^[41, 99, 101, 104, 109] TNF- α hat allerdings nur eine sehr kurze Halbwertszeit hat, so dass der Plasmaspiegel zum Zeitpunkt der Blutentnahme erheblichen Schwankungen unterliegen kann. Somit fanden sich keine signifikanten Unterschiede zu gesunden Probanden.^[98] TNF- α -Konzentrationen sieben und 30 Tage nach dem Infarkt waren gegenüber dem Ausgangswert bereits vermindert.^[109] Erhöhte TNF- α -Spiegel wirkten sich ungünstig auf die Prognose aus, es wurden vermehrt kardiovaskuläre Ereignisse und eine erhöhte kardiovaskuläre Mortalität beschrieben.^[89, 109, 130, 168] Zudem waren Kontraktilitätsstörungen des linken Ventrikels nach einem Myokardinfarkt mit erhöhten TNF- α -Spiegeln assoziiert.^[163, 165] Da die Effekte von TNF- α und IL-1 β nahezu identisch sind, spielt TNF- α vermutlich auch eine wichtige Rolle in der Entstehung einer KHK.^[138]

Durch die Wirkung des Chemokins MCP-1 erfolgt eine Transmigration proinflammatorischer Monozyten in das durch den Myokardinfarkt geschädigte Herzmuskelgewebe, wo diese nekrotische Kardiomyozyten beseitigen und die Bildung von Granulationsgewebe induzieren.^[36, 83] In einer Studie wurden erhöhte MCP-1-Serumspiegel bei KHK-Patienten festgestellt. Zudem konnten erhöhte MCP-1 Werte bei Personen ohne KHK mit kardiovaskulären Risikofaktoren korreliert werden.^[97] Dem widersprechend konnten in einer anderen Studie keine Unterschiede zwischen

KHK-Patienten und gesunden Probanden in Bezug auf erhöhte MCP-1 Konzentrationen ermittelt werden.^[136]

Zu von der Norm abweichenden Serumspiegeln von MIP-1 α und MIP-1 β infolge einer KHK oder eines Myokardinfarkts gibt es bislang in der Literatur wenig Hinweise. Im Rahmen einer Studie wird von einer vermehrten Expression der beiden Chemokine berichtet, während es in einer anderen Studie keine Unterschiede zwischen KHK-Patienten und gesunden Probanden in Bezug auf MIP-1 α -Spiegel gab.^[111, 136]

Studienergebnisse belegen eine gesteigerte Aktivität von IFN- γ produzierenden T_H1-Zellen infolge eines akuten Koronarsyndroms bzw. bei KHK-Patienten.^[29, 41]

Eine Erhöhung von GM-CSF, der Granulozyten/Makrophagen Kolonie-stimulierende Faktor, wurde einer Studie nach sowohl nach einer akuten Myokarditis, nach einem akuten Myokardinfarkt, bei DCM und Angina pectoris vermehrt nachgewiesen. Dies lässt darauf schließen, dass diese Ereignisse eine Aktivierung von Endothelzellen und Makrophagen bewirken.^[99-101]

1.4 Labormarker einer (kardialen) Inflammation

1.4.1 Proinflammatorische Zytokine

Zytokine sind lösliche, immunmodulierende Signalmoleküle, die für die Vermittlung von Interaktionen zwischen Zellen verantwortlich sind. Sie können die jeweiligen Zielzellen aktivieren und wirken sich auf die Zellteilung und Differenzierung aus.

Signale von oder auf Zellen des Immunsystems und lokale Reaktionen werden mithilfe von Zytokinen (Chemokine, Interleukine, Tumor-Nekrose-Faktoren und Interferone) über spezifische Rezeptoren auf der Zellmembran übertragen.

Zytokine wirken sowohl unmittelbar am Bildungsort als auch weit entfernt, z.B. im Knochenmark durch die Aktivierung anderer Immunzellen. Bei diesen Molekülen handelt es sich meist um Monomere, die bereits in niedriger Konzentration ihre Wirkung zeigen und je nach aktuellem Bedarf sezerniert werden können.^[123, 133, 142, 146]

Zytokine sind maßgeblich an Entzündungsreaktionen beteiligt. Man kann sie in proinflammatorische und antiinflammatorische Zytokine unterteilen. In der Phase der akuten Inflammation spielen IL-1, TNF- α , IL-6, IL-11, IL-8 und GM-CSF eine Rolle. Bei einer chronischen Entzündung wird die humorale Immunantwort durch die Zytokine IL-4, IL-5, IL-6, IL-7 und IL-13 vermittelt, während die zelluläre Immunantwort durch die

Zytokine IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-7, IL-9, IL-10, IL-12, Interferone, TGF- β und TNF- α erfolgt.^[150]

TNF- α

Der Tumor-Nekrose-Faktor- α , ein multifunktionales Zytokin, entstammt der Produktion von aktivierten Monozyten und Makrophagen, dendritischen Zellen, B- und T-Lymphozyten, Endothelzellen und Fibroblasten. Dieses proinflammatorische Zytokin entfaltet seine Wirkung als Wachstums- und Differenzierungsfaktor in nahezu allen Körperzellen. TNF- α und IL-1 β weisen eine fast identische Wirkweise auf. Außerdem ist TNF- α für viele transformierte Zellen zytotoxisch, löst eine Chemotaxis auf Monozyten aus, steigert die Funktion phagozytierender und antigenpräsentierender Zellen und spielt eine wichtige Rolle bei Entzündungsreaktionen und der hierdurch induzierten Apoptose. Ferner wird die Sekretion weiterer proinflammatorischer Zytokine durch Leukozyten und Endothelzellen gefördert, die Kollagensynthese reduziert und die Aktivität von Matrix-Metalloproteasen stimuliert.^[11, 31, 84, 109, 111, 152, 164]

IFN- γ

Interferon- γ , der einzige Vertreter der Typ-II-Interferone, ist ein heterodimeres Immuninterferon, welches von CD4⁺- und CD8⁺ T_H1-Zellen, NK-Zellen (natürliche Killerzellen), Makrophagen, dendritischen Zellen (DC) und zytotoxischen T-Lymphozyten gebildet wird. Ein Effekt besteht in der Aktivierung, dem Wachstum und der Differenzierung von T-Zellen, B-Zellen, Makrophagen, NK-Zellen und Endothelzellen. Darüber hinaus agiert es synergistisch mit IFN- α und IFN- β in Bezug auf die antivirale Wirkung, es führt zu einer gesteigerten Expression von MHC-Klasse-I-Molekülen auf virusinfizierten Zellen und fördert so deren Abtötung durch zytotoxische T-Zellen. Antigen-spezifische B-Zellen werden zum Klassenwechsel nach IgG1 und IgG3 aktiviert. Außerdem werden MHC-II-Moleküle auf Endothelzellen und anderen nichtprofessionell antigenpräsentierenden Zellen vermehrt exprimiert.

IFN- γ ist ein wichtiger proinflammatorischer Effektor, der eine Verschiebung des T_H1/T_H2-Gleichgewichts in Richtung T_H1 sowie eine gesteigerte Phagozytose von Immunkomplexen durch Granulozyten bewirkt. Außerdem fördert es die zellvermittelte Immunität.^[40] Zudem wird in Kombination mit IL-2 oder TNF- α die Zytotoxizität von CD8⁺-Zellen und NK-Zellen gesteigert. Dies wiederum führt zu einer erhöhten Sekretion von IFN- γ , TNF- α und IL-17.^[123, 133, 150]

IL-1

IL-1 lässt sich unterteilen in IL-1 α , IL-1 β und den Rezeptorantagonisten IL-1RA, die alle denselben Rezeptor verwenden.

Interleukin-1 α und Interleukin-1 β , die beide von Monozyten, Makrophagen, dendritischen Zellen, Astrozyten, NK-Zellen, B-Zellen, Endothelzellen und Fibroblasten sezerniert werden, setzen eine Vielzahl immunologischer und inflammatorischer Prozesse in Gang. IL-1 induziert die Differenzierung von T_H17-Zellen. Die Freisetzung von IL-1 β bewirkt eine Aktivierung von B- und T-Lymphozyten sowie von Makrophagen und fördert die Zellteilung. Durch Stimulation der Prostaglandinsynthese wird Fieber ausgelöst. Es kann zudem zu Gewichtsverlust und Hypotonie führen. Zusätzlich wird die Produktion verschiedener Zytokine und Chemokine stimuliert. IL-1 wirkt proinflammatorisch und regt die Akutphase-Reaktion an. Auf Endothelzellen fördert IL-1 β die Expression von Adhäsionsmolekülen.^[22, 23, 123, 146, 150]

IL-1RA wird von Monozyten und Makrophagen gebildet und bindet an den gleichen Rezeptor wie IL-1, wirkt dort aber als Rezeptorantagonist (= RA) und löst kein Signal aus. Nach der Bindung von IL-1RA an den Rezeptor ist dieser blockiert für die aktivierenden Formen von IL-1. Gebildet wird dieses Zytokin von Monozyten, neutrophilen Granulozyten, Makrophagen, Fibroblasten und Epithelzellen.^[133, 150]

Die antiinflammatorischen Zytokine IL-4, IL-10 und IL-13 können die Synthese von IL-1 β hemmen und gleichzeitig die Synthese von IL-1RA fördern. Die Sekretion von IL-1 β kann durch IL-6 sowohl gehemmt wie auch stimuliert werden.^[150]

IL-2

Eine weitere Bezeichnung für IL-2 ist *T-cell growth factor*. Es wird freigesetzt von aktivierten T-Lymphozyten. Zu den Zielzellen zählen T- und B-Zellen, NK-Zellen, Monozyten, Makrophagen und Oligodendrozyten. IL-2 ist bei chronischen Entzündungen sowohl an der humoralen als auch an der zellulären Immunantwort beteiligt. Die Wirkweise von IL-2 besteht aus der Differenzierung, Aktivierung und Proliferation von B- und T-Lymphozyten, einer Stimulation der Zytokinsynthese, sowie einer Aktivierung von Monozyten. Des Weiteren steigert es die Produktion von Zytokinen durch Immunzellen, während es zugleich für deren Vermehrung sorgt.^[123, 132, 133, 146, 150]

IL-6

IL-6, auch *B-cell stimulating factor-2* genannt, wird infolge einer Infektion oder Verletzung von T- und B-Lymphozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen und Knochenmark-Stromazellen gebildet. IL-6 war lange nur für seine proinflammatorischen Eigenschaften bekannt. Es spielt eine wichtige Rolle bei Entzündungen und in der Reaktion auf eine Gewebsverletzung. Es führt zu einer Steigerung von Wachstum und Differenzierung von B-Zellen und T_H17-Zellen, sowie einer Proliferation von zytotoxischen T-Zellen. Ferner fungiert es als wichtiger Mediator in der Akutphase-Reaktion. Es fördert zudem die Antikörperproduktion und stimuliert die Produktion von CRP.^[50, 92, 95, 98, 123, 150] Eine Freisetzung von IL-1 β und IL-2 sowie deren Rezeptoren kann durch IL-6 ausgelöst werden. IL-6 weist jedoch gleichzeitig auch antiinflammatorische Eigenschaften auf. Es kann die Synthese der proinflammatorischen Zytokine IL-1, GM-CSF, IFN- γ und TNF- α hemmen, steigert zugleich die Produktion von IL-1RA und induziert die Synthese von Glucocorticoiden.^[150]

IL-7

Bei IL-7 handelt es sich um einen proliferationsstimulierenden Faktor, welcher auf die Hämatopoese von T-Zellen sowie B-Zell-Progenitorzellen wirkt. Gebildet wird das Zytokin von Knochenmarkszellen, Thymus-Stromazellen und Milzzellen.^[123, 146, 150]

IL-12

Das heterodimere Zytokin IL-12, auch *natural killer cell stimulatory factor* genannt, wird nach einer Antigenstimulation von Monozyten, Makrophagen, DC, aktivierten B-Zellen und T-Lymphozyten sezerniert. Die Freisetzung von IL-12 hat die Aktivierung der zellulären Immunantwort zur Folge und ist beteiligt an der Regulation der Produktion von Immunglobulinen. Es löst die Produktion von IFN- γ und TNF- α durch T-Zellen und NK aus und fördert eine Differenzierung von T_H1-Zellen aus naiven T-Lymphozyten. Die antiinflammatorischen Zytokine IL-4 und IL-10 können die Freisetzung von IL-12 unterdrücken.^[123, 146, 150]

IL-17

Die Sekretion von IL-17 erfolgt durch aktivierte CD4⁺ T-Gedächtniszellen. Es besitzt, ebenso wie TNF- α , eine entzündungsfördernde Wirkung. Zielzellen für IL-17 sind T_H17-Zellen. Neutrophile Granulozyten und Monozyten werden vermehrt rekrutiert und die Produktion von Zytokinen wie IL-6, IL-8, GM-CSF und MCP-1 wird stimuliert. Durch die Eigenschaft der Zellaktivierung spielt IL-17 bei Autoimmunerkrankungen eine Rolle.

Die Sezernierung von IL-17 beeinträchtigt die Differenzierung von T_H1-Zellen und hat eine verminderte Produktion von IL-2 und IFN- γ zur Folge. Dies könnte eine Viruspersistenz nach sich ziehen. Allerdings gibt es auch Hinweise, dass T_H17-Zellen ein Aufflammen einer viralen Erkrankung unterdrücken können. ^[96, 123, 146, 150]

GM-CSF

Der Granulozyten/Makrophagen Kolonie-stimulierende Faktor, kurz GM-CSF, ist ein Zytokin, welches von T-Zellen, Makrophagen, Fibroblasten und Endothelzellen als Reaktion auf entzündliche und immunologische Reize und nach Zytokinstimulation gebildet wird.

Eine Wirkung findet auf die Proliferation, Reifung und Funktion hämatopoetischer Vorläuferzellen im Knochenmark und die Proliferation und Migration von Endothelzellen statt. Außerdem sorgt es für die Differenzierung und Aktivierung von Monozyten und Granulozyten. GM-CSF spielt bei der Entwicklung einer Autoimmunität eine Rolle, da es, abhängig vom IL-6-Spiegel, an der Entwicklung und Langlebigkeit von T_H17-Zellen beteiligt ist. ^[123, 133, 150]

MCP-1

Die Produktion von MCP-1, das *monocyte chemoattractant protein-1*, erfolgt von Monozyten, Makrophagen, Fibroblasten, Endothelzellen, Keratinozyten, glatten Muskelzellen, Astrozyten sowie unterschiedlichen Tumorzelllinien nach einer Induktion durch inflammatorische Stimuli, wie IL-1, TNF- α , IFN- γ , IL-6. Das CC-Chemokin besitzt einen aktivierenden und chemotaktischen Effekt auf Monozyten und Makrophagen, durch welche eine Phagozytose der nekrotischen Kardiomyozyten und die Bildung von Granulationsgewebe bewirkt wird. Außerdem wird in basophilen Granulozyten eine Histamin-Freisetzung ausgelöst. ^[15, 36, 83, 113, 166, 181]

MIP-1 α

Nach einer Stimulation durch bakterielle Endotoxine produzieren Monozyten und Makrophagen sowie B-Lymphozyten und aktivierte T-Lymphozyten das CC-Chemokin *macrophage inflammatory protein-1 α* (MIP-1 α). Es bewirkt eine chemotaktische Wirkung auf Monozyten, gleichzeitig verbessert es die Haftung von Monozyten an Endothelzellen. Des Weiteren hemmt MIP-1 α die Hämatopoese und verursacht eine Migration von T-Zellen. In Fibroblasten und Makrophagen wird die Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen wie IL-1, IL-6 und TNF- α stimuliert. ^[111, 123]

MIP-1 β

Wie MIP-1 α auch, entstammt das *macrophage inflammatory protein-1 β* (MIP-1 β) der Produktion von Monozyten und Makrophagen nach einem Einwirken von bakteriellen Endotoxinen sowie von aktivierten T-Gedächtnis-Zellen. Es bewirkt eine Stimulation des Wachstums hämatopoetischer Vorläuferzellen, fördert die Adhäsion von T-Lymphozyten an Endothelzellen und aktiviert NK. Außerdem werden durch MIP-1 β Lymphozyten und Monozyten rekrutiert.^[111, 123]

1.4.2 Antiinflammatorische Zytokine

IL-4

Das multifunktionale Zytokin IL-4, auch bekannt als *B-cell stimulating factor-1*, wird von Mastzellen, aktivierten T-Zellen, Makrophagen, basophilen Granulozyten und Knochenmark-Stromazellen produziert. Als Zielzellen sind T- und B-Zellen, Monozyten, Endothelzellen und Fibroblasten bekannt. IL-4 bewirkt einen Klassenwechsel von IgM zu IgG1/IgG4 und IgE in B-Lymphozyten und steigert die Differenzierung weiterer T_H2-Zellen aus nativen CD4+ T-Zellen in peripheren lymphatischen Organen, während die Entwicklung von T_H1-Zellen gehemmt wird. Außerdem handelt es sich bei IL-4 um einen wichtigen Mediator der humoralen Immunität. Weiterhin bewirkt IL-4 eine Stimulation der IgE- und IL-1RA-Produktion sowie eine Hemmung der Sekretion der proinflammatorischen Zytokine TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12 und MIP-1 α . IFN- γ wiederum kann die Freisetzung von IL-4 herabsetzen.^[98, 123, 133, 146, 150]

IL-5

Die Produktion von IL-5 geschieht durch Mastzellen, CD4+ T-Lymphozyten und eosinophile Granulozyten. Dieses Zytokin bewirkt im Knochenmark eine Differenzierung und Produktionssteigerung von eosinophilen und basophilen Granulozyten. Die Bildung von IL-5 erfolgt hauptsächlich nach einem Kontakt mit Allergenen oder parasitären Antigenen. IL-5 führt zu einer Aktivierung und Stimulierung der Immunglobuline und regt die IgA-Produktion an.^[123, 132, 150]

IL-10

Der *cytokine synthesis inhibitory factor* IL-10 ist ein bedeutendes antiinflammatorisches Zytokin, welches von aktivierten CD4⁺ und CD8⁺ T-Zellen, T_{Reg}, und T_{H2}-Zellen, aktivierten B-Zellen, Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen produziert wird. Im Vergleich zu anderen Zytokinen wird IL-10 meist verzögert und verlängert sezerniert. Es fördert die Vermehrung und Differenzierung von B-Lymphozyten, Thymozyten und Mastzellen. Außerdem verhindert IL-10 die Bildung, Aktivierung und die Freisetzung von Zytokinen der T_{H1}-Population. IL-10 wird teilweise als „Anti-Zytokin“ bezeichnet, da es die Produktion proinflammatorischer Zytokine, wie IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ und TNF- α hemmt.^[45, 47, 123, 132, 150, 186] Das humane IL-10 teilt ca. 84% seiner genetischen Sequenz mit viralem IL-10, das vom Epstein-Barr-Virus kodiert wird und an der Entwicklung einer Myokarditis beteiligt sein kann.^[27]

IL-13

Aktivierte T-Lymphozyten, NK und Mastzellen setzen IL-13 frei, welches funktionelle Ähnlichkeiten mit IL-4 aufweist. Dieses Zytokin führt in B-Zellen zu einem Klassenwechsel von IgM zu IgE. Ferner werden in den Schleimhäuten die Epithelzellen zur Produktion von Chemokinen und zu einer erhöhten Sekretion von Schleim aktiviert. Dies sorgt für eine gesteigerte Chemotaxis von T_{H2}-Zellen und eosinophilen Granulozyten. Außerdem kann IL-13 die Produktion proinflammatorischer Zytokine wie IL-1 β , TNF- α , IL-8, MIP-1 α und IL-6 hemmen.^[123, 132, 146, 150]

IFN- α

Interferon- α , auch als Leukozyten-Interferon bezeichnet, wird von Lymphozyten, Monozyten und Makrophagen sezerniert und zeigt eine Wirkung auf die meisten Körperzellen. IFN- α zählt zu den Typ-I-Interferonen, welche an den heterodimeren IFN- α -Rezeptor binden. Es inhibiert die Zellproliferation, aktiviert DC und steigert die Expression von MHC-Klasse-I-Molekülen, über die virale Antigene zytotoxischen T-Zellen präsentiert werden. Zudem kommt es durch einen Kontakt mit Typ-I-Interferonen zu einer vermehrten Apoptose, was die Abtötung durch NK und zytotoxische T-Zellen vereinfacht. Eine antivirale Wirkung wird durch die Hemmung der Proteinsynthese vor allem bei Viren erreicht, da IFN- α in infizierten Zellen virale und zelluläre Nukleinsäuren abbaut.^[123, 133, 146]

1.4.3 Die Bedeutung von CTLA-4 (CD125) und die Rolle der CTLA-4-Genotypen

Bei dem inhibierenden Glykoprotein-Rezeptor CTLA-4 (*cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4*), auch als CD125 bezeichnet, handelt es sich um ein membranständiges Homodimer, welches gemeinsam mit CD28 und ICOS auf Chromosom 2q33 (Lokus IDDM12) lokalisiert ist.^[28]

Die Gensequenz von CTLA-4 besteht aus vier Exons, wobei Exon 1 das Hauptpeptid kodiert, Exon 2 die Domäne zur Ligandenbindung, Exon 3 die transmembrane Domäne und Exon 4 den zytoplasmatischen Schwanz des Proteins.

CTLA-4 ist homolog zu CD28 und wirkt co-stimulierend. Beide weisen jedoch entgegengesetzte Effekte auf die T-Zell-Aktivierung auf. Liganden der beiden Moleküle sind B7-1 (CD80) und B7-2 (CD86). Diese befinden sich auf antigenpräsentierenden Zellen (APCs). Nach Ligandenbindung erfährt CTLA-4 keine Konformitätsänderung. CTLA-4 und CD28 konkurrieren um die Bindung an die Liganden CD80 und CD86. Da CTLA-4 eine ca. 100-fach stärkere Affinität zu den Liganden als CD28 aufweist, verhindert es somit eine Signaltransduktion von CD28. Bevorzugt bindet CTLA-4 an CD80.^[57, 140, 147, 171, 182]

CD28 ist ein aktivierender Rezeptor, welcher eine Proliferation und Aktivierung von naiven T-Lymphozyten bewirkt. Die Aktivierungsschwelle für naive T-Zellen wird herabgesetzt, die Transkription von Zytokin-Genen, insbesondere IL-2, verstärkt, sowie die Apoptose verhindert.

Der inhibierende Rezeptor CTLA-4 findet sich nur in sehr geringer Anzahl im Zytoplasma ruhender T-Zellen, während CD28 auf der Zelloberfläche der meisten CD4+ T-Zellen und bei etwa der Hälfte der CD8+ T-Zellen vorhanden ist. CTLA-4 wird als Folge einer T-Zell-Rezeptor (TCR)-spezifischen Stimulation auf aktivierten CD4+ und CD8+ T-Lymphozyten, B-Lymphozyten, Granulozyten und hämatopoetischen Stammzellen exprimiert.^[57, 147]

Hauptsächlich für die Expression von CTLA-4 verantwortlich sind regulatorische T-Zellen (T_{Reg}).^[128, 159] Der Transkriptionsfaktor *Forkhead-Box-Protein P3* (FOXP3) wird von CD4⁺ CD25⁺ T_{Reg}-Zellen exprimiert. Dieser ist unabdingbar für den Erhalt der immunologischen Selbsttoleranz und der Homöostase durch Unterdrückung von pathologischen und physiologischen Immunreaktionen.^[139, 178] CTLA-4 ist konstant auf FOXP3⁺ CD25⁺ CD4⁺ T_{Reg} exprimiert, während die Freisetzung von CTLA-4 durch konventionelle T-Zellen nur nach erfolgter Aktivierung geschieht.^[66, 159]

Bindet ein Ligand an CTLA-4, bewirkt dies entsprechend seiner inhibierenden Funktion eine Herunterregulierung der Proliferation von T-Zellen, eine Verringerung der Produktion von IL-2 und IL-2R sowie anderen proinflammatorischen Zytokinen.^[147, 179]

Für das Auslösen einer Immunreaktion benötigt die T-Zelle zwei verschiedene Signale von APCs. Zuerst findet eine Interaktion des T-Zell-Rezeptors und dem Antigen-Liganden/MHC-Liganden statt. Daraufhin wird ein zweites Signal durch co-stimulierende Moleküle auf APCs ausgelöst und führt, abhängig von der Art der Co-Stimulation, zu einer Verstärkung oder Abschwächung des ersten Signals. Folglich wird die T-Zelle entweder aktiviert oder anergisch.^[179]

CTLA-4 überwacht die Immuntoleranz, inhibiert die Aktivierung und Proliferation von autoreaktiven T-Zellen und APCs und spielt somit eine Rolle in der Erhaltung der peripheren Toleranz. Autoimmunerkrankungen können Folge eines Defekts oder einer Dysfunktion der FOXP3⁺ T_{Reg} sein, was durch eine CTLA-4-Defizienz ausgelöst werden kann. Ferner sind auch andere immunpathologische Erkrankungen wie Allergien und entzündliche Darmerkrankungen mögliche Konsequenzen.^[179]

Bei Menschen, bei denen eine niedrige CTLA-4-Konzentration festgestellt wurde, konnte eine signifikante Steigerung der Produktion von T_{Reg} nachgewiesen werden. Die Kompensation einer asymptomatischen CTLA-4-Defizienz könnte durch eine vermehrte Produktion von IL-10 erfolgen, was einen Schutz vor der Entwicklung einer Autoimmunität darstellen kann.^[30]

Es besteht ein Zusammenhang zwischen Einzelnukleotid-Polymorphismen (*Single-Nucleotid-Polymorphism* = SNP) und Autoimmunerkrankungen. Bei SNPs kommt es zu einer veränderten Sequenz der Aminosäuren von CTLA-4. Mehrere Polymorphismen wurden in der Promoter-Region und in Exon 1 nachgewiesen. Der bislang am besten untersuchte SNP +49G/A (rs231775) befindet sich in Exon 1 von CTLA-4. Hierbei kommt es zu einem Austausch eines A-Allels durch ein G-Allel, was dazu führt, dass sich die Aminosäuresequenz des Hauptpeptids an dieser Stelle von Threonin zu Alanin verändert.^[116] Dieser Haplotyp spielt bei mehreren Autoimmunerkrankungen eine Rolle. Hierzu zählen Diabetes mellitus Typ 1^[6, 39, 116], die autoimmune Thyreoiditis^[38, 77, 117], Zöliakie^[37], Morbus Basedow^[4, 39, 184], Morbus Addison^[38, 75], systemischer Lupus erythematodes^[10], rheumatoide Arthritis^[86, 167] und die primäre progressive multiple Sklerose^[103]. Durch den SNP +49G/A werden sowohl IL-2 wie auch IL-2R verstärkt produziert^[176]

Ein weiterer SNP im CTLA-4-Gen auf Chromosom 2q33 ist 3'UTR CT60A/G (rs3087243) im untranslatierten Bereich (*untranslated region* = UTR). Dieser wird in Verbindung mit

einem höheren Risiko von Diabetes Typ 1 und einer gleichzeitig vorliegenden autoimmunen Thyreoiditis gebracht.^[67] Ebenfalls scheint es eine Häufung von rheumatoider Arthritis^[125] als auch von Morbus Basedow^[73] beim Auftreten des SNP CT60A/G zu geben.

Zu den anderen bekannten SNPs von CTLA-4 zählen -318C/T (rs5742909), +1822C/T (rs231779), -1661A/G (rs4553808) sowie -1722T/C (rs733618).

Bei den beiden SNPs +49G/A und CT60A/G gibt es folgende mögliche Haplotypen: Die Homozygoten A/A und G/G sowie die Heterozygote A/G.

Betrachtet man die Ausprägung der Genotypen bei SNP +49G/A und CT60A/G näher, findet man ein gehäuftes Auftreten der Genotypen +49A/G, +49G/G und CT60G/G bei Patienten mit autoimmuner Hypothyreose verglichen mit einer Kontrollgruppe. Dies scheint die mRNA Expression von CTLA-4 zu beeinflussen, während es zu keiner Veränderung der CTLA-4 mRNA Expression bei Vorliegen der Genotypen +49A/A, CT60A/A und CT60A/G kam.^[9, 78, 114, 117, 120, 162] Der Haplotyp +49G/G scheint bei Patienten mit autoimmuner Hypothyreose eine eingeschränkte Proliferation von T-Zellen zu verursachen.^[126] Ebenso besteht bei Vorliegen dieses Allels ein etwa doppelt so großes Risiko an Diabetes Typ 1 zu erkranken.^[28]

Folge einer heterozygoten Mutation von CTLA-4 kann die Ausbildung einer Immundysregulation sein bedingt durch die quantitative Beeinträchtigung der Regulation von CD80 und CD86.^[80, 143]

1.4.4 Bestimmung der CK und ihre Bedeutung

Das Enzym Kreatinkinase (CK) phosphoryliert Adenosindiphosphat (ADP) zu Adenosintriphosphat (ATP) durch das Übertragen einer N-Phosphorylgruppe von Phospho-Kreatin. Als Energielieferant wird ATP besonders in Myozyten und Gehirnzellen gebraucht, weshalb es dort vor allem freigesetzt wird. Die Kreatinkinase kommt in vier verschiedenen Formen vor. Im Skelettmuskel liegt der Typ CK-MM vor, im Gehirn der Typ CK-BB, in Mitochondrien der Typ CK-MiMi und im Herzen der Typ CK-MB.^[141, 158] Die Normwerte des Gesamt-CK-Werts aller Isoenzyme liegt bei Frauen <145 U/l und bei Männern <170 U/l. Erhöhte Gesamt-CK-Werte kommen bei Herz- oder Skelettmuskelerkrankungen vor. Der CK-MB-Wert ist infolge eines Herzinfarkts erhöht. Er beträgt dann >6% des Gesamt-CK-Werts. Der Normwert für CK-MB für Männer und Frauen liegt bei <24 U/l.^[158]

1.5 Der adrenerge Rezeptor und (Auto-)Antikörper gegen den β_1 -Rezeptor

Adrenerge Rezeptoren lassen sich in α - und β -Adrenozeptoren unterteilen, die das zentrale Nervensystem und den Sympathikus beeinflussen. Die β -adrenergen Rezeptoren bestehen im Wesentlichen aus drei funktionell unterschiedlichen Subtypen (β_1 , β_2 , β_3).^[172] Die Hauptfunktion des β_1 -Adrenorezeptors (β_1 -AR) ist die Steuerung der Herzaktivitäten wie Herzfrequenz, die Erregungsweiterleitung sowie die Kontraktilität des Herzens. Der β_2 -AR befindet sich überwiegend in der glatten Muskulatur des Uterus sowie der Bronchien. Der β_3 -AR ist hauptsächlich im braunen Fettgewebe lokalisiert.^[63] Das Myokard weist die höchste Expression von β_1 -AR auf. Hier gehören 70-80% der β -AR zum Subtyp β_1 , gefolgt von den juxtaglomerulären Zellen der Niere sowie den Speicheldrüsen. In der Niere beeinflusst der β_1 -AR vermutlich durch eine „Costimulation“ von Renin den Blutdruck.^[19, 70]

Der β_1 -AR gehört zur Familie der sogenannten G-Protein gekoppelten Rezeptoren. Durch die Bindung von Rezeptorantagonisten (z.B. Adrenalin oder Noradrenalin) an den β_1 -AR wird eine Signalkaskade ausgelöst. Diese beginnt nach Bindung eines Liganden mit einer Änderung der Rezeptorkonformation. Dies führt durch den Austausch von an das G-Protein gebundene GDP zu GTP zu einer Aktivierung des sogenannten stimulierenden G-Proteins, ein heterotrimeres Protein, das aus einer $G\beta\gamma$ - und $G\alpha$ -Untereinheit besteht. Durch die Aktivierung kommt es zu einer Spaltung der Untereinheiten. $G\alpha$ vermag verschiedene Enzyme zu regulieren. Zum einen aktiviert $G\alpha$ die Phospholipase C, welche IP_3 (Inositol-1,4,5-triphosphat) erzeugt, zum anderen aktiviert $G\alpha$ die Adenylatcyclase, die aus ATP cAMP generiert, welches dann wiederum unterschiedliche intrazelluläre Kinasen aktivieren kann. Eine der wichtigsten Kinasen ist die cAMP-abhängige Proteinkinase A (PKA). Die PKA phosphoryliert Calciumkanäle, was sowohl zu einer Erhöhung der intrazellulären Ca^{2+} -Konzentration im Sarkoplasma als auch der Ca^{2+} -Konzentration im endoplasmatischen Retikulum führt. Die Folge einer Aktivierung dieser Kaskade ist eine Steigerung der Inotropie (Kontraktionskraft), Dromotropie (Leitungsgeschwindigkeit), Chronotropie (Herzfrequenz) und Lusitropie (Relaxationsgeschwindigkeit) der Herzmuskelzellen.^[48]

Das Rezeptorprotein besteht aus sieben transmembranen α -Helices, einem extrazellulären Amino-Terminus und einem intrazellulären Carboxy-Terminus. Die transmembranen Domänen werden durch je drei intra- (β_1 -IC_{I-III}) und drei extrazelluläre (β_1 -EC_{I-III}) Schleifen verbunden.^[175] Die hydrophobe Agonist-Ligandenbindungstasche des β_1 -AR wird durch die α -Helices III, V und VI gebildet.

Da β_1 -EC_{II} eine komplexe Struktur aufweist, welche bis in die Ligandenbindungstasche reicht und die Konformation der Ligandenbindungstasche stabilisiert, können sterische Veränderungen an dieser Schleife auch zu einer Beeinflussung der Rezeptorkonformation führen.^[24]

Antikörper, die gegen die EC_{II} des β_1 -AR gerichtet sind, können bis zu einem gewissen Grad auch die Interaktionen zwischen Ligand und Rezeptor beeinflussen. Autoantikörper gegen den N-Terminus oder den C-Terminus des β -Rezeptors bewirken hingegen keine relevante Veränderung der Rezeptorfunktion.^[174]

Insbesondere bei einer entzündlichen Schädigung des Myokards kann z.B. im Rahmen einer Myokarditis von der durch die Viren angestoßenen Immunreaktion auch körpereigenes Herzgewebe angegriffen werden. Ebenfalls können nach dem Untergang (Nekrose) von Herzmuskelzellen im Rahmen eines Myokardinfarkts und der dann möglichen Freisetzung von körpereigenen Antigenen „Auto“-Antikörper gegen diese „Antigene“ durch das Immunsystem gebildet werden.^[25] So könnte eine Autoimmunreaktion auf präsentierte Autoantigene erklärt werden. Autoantikörper können aber auch Folge von Antigen-Mimikry sein, da Ähnlichkeiten zwischen Erreger-Proteinen und Bestandteilen der Myozytenzelloberfläche (z.B. Membranrezeptoren) bestehen.^[65]

Erste Hinweise darauf, dass β_1 -AAk bei der Entwicklung einer Herzinsuffizienz beteiligt sein könnten, wurden 1976 bei der Chagas-Krankheit gefunden. Hierbei handelt es sich wahrscheinlich um eine Kreuzreaktion eines bestimmten Proteins (das sogenannte PO-Protein) des parasitären Erregers mit dem β_1 -AR.^[21, 155] In den folgenden Jahren ergab sich der Verdacht, dass diese Autoantikörper ebenso bei der Pathogenese der dilatativen Kardiomyopathie von Bedeutung sein könnten.^[174] Funktionell aktive β_1 -AAk könnten den β_1 -AR auf der Myozytenoberfläche erkennen und durch ihre Bindung am Rezeptor eine Konformationsänderung derart verursachen, dass z.B. der β_1 -AR aktiviert wird.^[69] Die β_1 -AAk-induzierte „Modulation“ im Sinne einer chronischen Aktivierung des Rezeptors führte in einem kleineren untersuchten Kollektiv von betroffenen DCM-Patienten zu einer signifikanten Verschlechterung der Prognose.^[48, 70] Die systolische Pumpleistung war bei Patienten mit DCM und β_1 -AAk deutlich reduziert. Weiterhin traten bei ihnen häufiger ventrikuläre Rhythmusstörungen auf, als bei β_1 -AAk-negativen DCM-Patienten.^[68, 71] Generell scheint in Anwesenheit von β_1 -AAk das Risiko zu steigen, einen plötzlichen Herztod zu erleiden, wobei die kardiovaskuläre Mortalität in einem kleineren Kollektiv von β_1 -AAk-positiven Patienten um den Faktor 3 erhöht war.^[156]

1.6 Die prospektive ETiCS-Studie

Bei ETiCS (*Etiology, Titre-Course and effect on Survival of cardiac autoantibodies Study*) handelt es sich um die größte europaweit angelegte prospektive Studie, die bisher im Bereich der kardialen Autoimmunität initiiert wurde.^[35] Die Studie beschäftigt sich mit dem Einfluss des Immunsystems und der Entwicklung von kardialen Autoantikörpern infolge eines erstmalig auftretenden Myokardinfarkts oder einer ersten (bioptisch oder im MRT gesicherten) akuten Myokarditis.

Bei ca. 1,5 Millionen Menschen in Deutschland liegt eine Herzschwäche vor.^[43] Ursache einer Herzinsuffizienz ist in ca. zwei Drittel der Fälle ein Verschluss der Koronargefäße mit folgender Minderversorgung des Myokards.^[157] Die Ursache der HI kann jedoch bei ca. 30% der Patienten nicht eindeutig geklärt werden; diese ungeklärten Fälle einer Herzschwäche werden oft als sogenannte „idiopathische“ dilatative Kardiomyopathie (DCM) bezeichnet.^[129] Eine mögliche Ursache für die Entwicklung und den klinischen Verlauf einer idiopathischen DCM könnten kardiale Autoimmunreaktionen sein. Durch Schädigungen des Myokards z.B. nach einer Entzündung des Herzmuskels oder einem Untergang (Nekrose) von Kardiomyozyten könnte die Leistungsfähigkeit des Herzens dadurch vermindert werden, dass herzeigene Autoantigene, die zuvor dem Immunsystem verborgen waren, freigesetzt werden und so eine autoimmune Reaktion auslösen.^[64] Infolge dieser immunologischen Reaktionen könnte es dann zur Bildung funktionell aktiver, schädlicher β_1 -AAk kommen.^[49, 64, 70]

In einer klinischen Studie konnten Autoantikörper gegen den β_1 -Adrenorezeptor im Blut von ca. 30% der Patienten mit einer DCM und bei ca. 13% der Patienten mit einer ischämischen Kardiomyopathie (ICM) nachgewiesen werden, während solche Antikörper bei gesunden Probanden nur bei deutlich unter 5% der untersuchten gesunden Kontrollgruppe (Blutspender) zu finden waren.^[71, 173]

Im Langzeit-Follow-up dieses Patienten-Kollektivs über mehr als elf Jahre konnte dann ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Prävalenz von aktivierenden β_1 -AAk und einer im Verlauf schlechteren Herzpumpfunktion^[71], einer höheren Inzidenz an lebensbedrohlichen ventrikulären Arrhythmien^[68] und einem dreifach höheren Risiko an einem Tod kardiovaskulärer Ursache zu versterben, festgestellt werden.^[156]

1.7 Zielsetzung der Arbeit (Analyse von Inflammation und Immunaktivierung)

Das Ziel der vorliegenden Promotionsarbeit war die Untersuchung der Bedeutung des Immunsystems für die Entwicklung von β_1 -adrenergen Autoantikörpern nach kardialer Ischämie oder Inflammation und deren Einfluss auf den Verlauf der Herzfunktion.

Gegenstand der Arbeit war insbesondere die Frage, ob die Schwere des Herzmuskelschadens und damit der Grad der Aktivierung des Immunsystems die Häufigkeit der Ausbildung sowie den Titerverlauf von β_1 -Autoantikörpern über 12 Monate beeinflusst.

Zudem beschäftigt sich die Arbeit mit der Frage, ob der Grad der Immunaktivierung bzw. die Ausbildung stimulierender β_1 -AAk die Pumpfunktion des Herzens negativ beeinflusst.

Konkrete Fragestellungen waren:

1. Unterscheiden sich die Zytokinprofile zwischen FAMI und AMitis initial und im Verlauf über 12 Monate?
2. Haben Unterschiede in den Zytokinprofilen einen Einfluss auf die Entwicklung der LV-Pumpfunktion?
3. Haben die Zytokinprofile einen Einfluss auf die Ausbildung von β_1 -Autoantikörpern?
4. Haben die CTLA-4 Expression und CTLA-4 Haplotypen einen Einfluss auf die Ausbildung von β_1 -Autoantikörpern?

2. Material und Methoden

2.1 Studiendesign und Patientenkollektive der ETiCS-Studie

Die Studie hatte einen prospektiven und einen retrospektiven Teil. Die prospektive ETiCS-Studie untersuchte ca. 150 Patienten mit einer ersten akuten Myokarditis (AMitis) und ca. 200 Patienten mit einem ersten akuten Myokardinfarkt (FAMI). Ziel der Studie war die Untersuchung der Häufigkeit des Auftretens von Autoantikörpern gegen den β_1 -Adrenorezeptor nach AMitis oder FAMI, und die Frage, ob diese β_1 -AAk eine Auswirkung auf den Schweregrad und den Verlauf einer Herzinsuffizienz haben.^[35] Alle in die Studie eingeschlossenen Patienten wurden über 12 Monate beobachtet. Nach einer ausführlichen Erstdiagnostik wurden drei Follow-Up-Untersuchungen (FUP) zu den Zeitpunkten 2-3 Monate, 6 Monate und 12 Monate nach dem Studieneinschluss durchgeführt.

Die Ethikkommission der Julius-Maximilians-Universität Würzburg hatte keinerlei Bedenken/Einwände gegen die Durchführung der ETiCS-Studie (Aktenzeichen **186/07**, Bescheid vom 14.01.2008). Ebenso wurden alle nachfolgenden Studien- bzw. Protokoll-Amendments (vom 19.05.2008, 16.02.2009, 20.07.2009, 12.01.2011 und zuletzt vom 23.11.2015) von der lokalen Ethikkommission Würzburg ohne Bedenken/Einwände votiert.

Der retrospektive Teil von ETiCS untersuchte die Prävalenz und den Titerverlauf von β_1 -AAk bei insgesamt 1200 Patienten, die an einer ischämischen Kardiomyopathie (n=300), dilatativen Kardiomyopathie DCM (n=300) oder einer hypertensiven Herzkrankheit litten (n=300) gegenüber einer gesunden Kontrollgruppe (n=300).^[35]

Beide Studienteile untersuchten, ob β_1 -AAk einen Einfluss auf das Remodeling des Herzens, den Krankheitsverlauf sowie die Prognose des Patienten haben.^[35]

Einschlusskriterien für den prospektiven Teil der ETiCS-Studie waren:

- I. Patienten mit akuter Myokarditis (***Acute Myocarditis***; AMitis)

Der Verdacht auf AMitis musste durch mindestens ein Hauptkriterium und zwei Nebenkriterien sowie durch eine Myokardbiopsie bestätigt werden. Die endomyokardiale Biopsie wurde nach den Vorgaben der WHO/ISFC oder der Dallas Kriterien beurteilt. Bei Patienten, bei denen keine Biopsie möglich war, wurde innerhalb von neun Tagen vor oder nach dem Studieneinschluss ein cMRT mit Kontrastmittel durchgeführt, um eine akute Myokarditis zu diagnostizieren.

Zu den Hauptkriterien zählten:

- ST-Streckenhebung im EKG,
- ventrikuläre Arrhythmien,
- der echokardiographische Nachweis eines Perikardergusses,
- und/oder der Nachweis regionaler oder globaler Wandbewegungsstörungen des Myokards.

Zu den Nebenkriterien zählten:

- Brustschmerzen,
- Dyspnoe,
- Palpitationen,
- ein kürzlich zurückliegender Infekt mit Fieber über 38°C in den vergangenen 30 Tagen vor Einschluss in die ETiCS-Studie.

II. Patienten mit erstem akuten Myokardinfarkt (*First acute myocardial infarction*; FAMI)

Eingeschlossen in die ETiCS-Studie wurden nur Patienten mit einem ersten akuten Myokardinfarkt, der durch Koronarangiographie bestätigt wurde.

Es musste dokumentiert sein:

- entweder eine signifikante Elevation der ST-Stecke in mindestens zwei benachbarten Ableitungen ($\geq 0,1$ mV in den Extremitätenableitungen, $\geq 0,2$ mV in den Brustwandableitungen) im EKG,
- oder ein neu aufgetretener Linksschenkelblock,
- zusätzlich zu den klassischen klinischen Symptomen (thorakaler ausstrahlender Schmerz, bradykarde/tachykarde Herzrhythmusstörungen, Symptome evtl. analog einer Angina pectoris)
- und laborchemischen Anzeichen eines Herzinfarkts (CK, CK-MB, Troponin I, Troponin T)

Die Ausschlusskriterien beinhalteten:

- Minderjährigkeit,
- das Vorliegen eines malignen Tumors mit einer Lebenserwartung des Patienten von unter einem Jahr,
- Nierenversagen im terminalen Stadium,
- sowie chronisch dialysepflichtige Patienten,
- Drogen- und Alkoholmissbrauch,

- Gravidität,
- fortgeschrittene Autoimmun- oder rheumatische Erkrankungen, die einer immunmodulatorischen Therapie bedürfen sowie
- Patienten, die an Myasthenia gravis, Morbus Basedow oder angeborenen neuromuskulären Erkrankungen leiden.
- Weiterhin mussten die Patienten psychisch und physisch in der Lage sein, nach Aufklärung in die Studienteilnahme einzuwilligen und die entsprechende Erklärung selbstständig zu unterschreiben.

Beim Einschluss wurden standardisiert die Baseline-Werte erhoben. Diese umfassten:

- einen klinischen Status,
- standardisierte Fragebögen (SF-36 und PHQ-9^[79]),
- die Ergebnisse des Herzkatheters (Druck im linken und rechten Herzen, Hämodynamik),
- Echokardiogramm,
- Elektrokardiogramm (EKG),
- Langzeit-EKG (Holter-EKG),
- Blutproben
- und eine histologische und molekulare Beurteilung der endomyokardialen Biopsie bei Myokarditis-Patienten
- Ein cMRT (kardiale Magnetresonanztomographie) wurde bei allen FAMI-Patienten in den ersten 24 - 96 Stunden nach der stationären Aufnahme durchgeführt.

Aus den zu den Zeitpunkten 0, 2-3, 6 und 12 Monaten nach dem Indexereignis gewonnenen Blutproben wurden die immunologischen Marker der Patienten mit FAMI oder AMitIs bestimmt und dann mit dem Ausmaß des entstandenen Schadens am Myokard und der Entwicklung der Morphologie und der Funktion des Herzens über einen Zeitraum von zwölf Monaten verglichen.

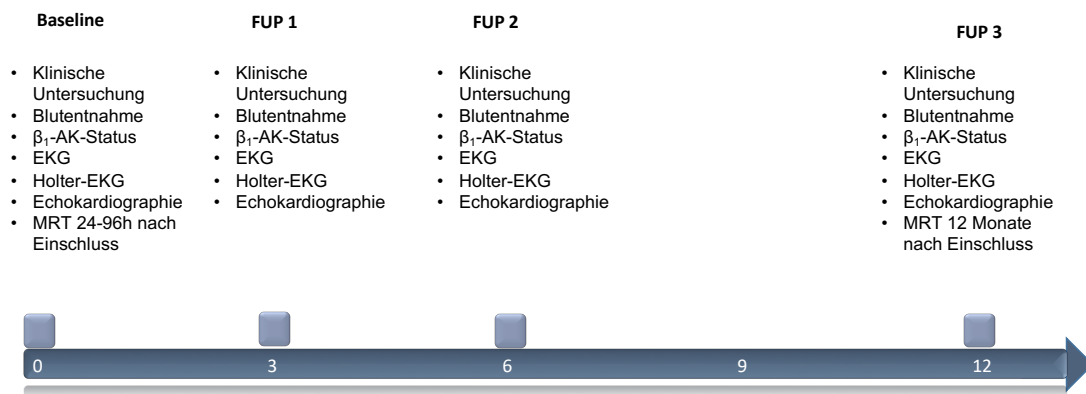


Abbildung 2: Übersicht der Einschluss- und FUP-Untersuchungen nach 3, 6, 12 Monaten

Modifiziert nach Deubner N. et al.: Cardiac β_1 -adrenoceptor autoantibodies in human heart disease: rationale and design of the ETiCS-Study, Eur J Heart Fail, 2010^[2]

Ein wesentlicher Aspekt der ETiCS-Studie hatte zum Inhalt, die immunologischen Reaktionen nach einer Entzündung oder nach einer Ischämie des Myokards zu bestimmen, um die hiermit möglicherweise assoziierte Entstehung von β_1 -AAk zu erfassen. Zudem wurden im Serum zu Beginn und zu den Zeitpunkten 2-3, 6 und 12 Monate nach dem Indexereignis Entzündungsmarker („*Human Cytokine Magnetic 25-Plex Panel*“, Invitrogen) und $T_H1/T_H2/T_H17$ -Zytokinprofile zur Erfassung zellulärer Immunreaktivitäten mittels FACS (*fluorescence-activated cell sorting*) und Elispot bestimmt.

Da das zytotoxische T-Lymphozyten Antigen 4 (CTLA-4) ein wirksamer indirekter Hemmer des Immunsystems ist, wurde die Hypothese aufgestellt, dass dessen Mutation oder veränderte Expression mit einer Hyperreaktivität des Immunsystems gegenüber Autoantigenen vergesellschaftet sein könnte.^[53] Deshalb sollte bei allen Patienten der prospektiven Studie die CTLA-4-Rezeptor Expression mittels FACS und die CTLA-4-Genotypen mittels PCR (Polymerase-Kettenreaktion) ermittelt werden.

Die Studienleitung lag beim Universitätsklinikum Würzburg. Weitere an der Studie beteiligte Zentren waren die Universitätskliniken in Berlin-Charité, Göttingen, Greifswald, Hannover, Heidelberg, Leipzig, Marburg, Schweinfurt sowie das Robert-Bosch-Krankenhaus in Stuttgart. Internationale Unterstützung kam durch die Universität Belgrad (Serbien).

2.2 Immunologische Analytik / Detektion von β_1 -Autoantikörpern

2.2.1 Messung/Detektion von β_1 -Autoantikörpern mittels Durchflusszytometrie (FACS)

Bei der Durchflusszytometrie handelt es sich um ein Laborverfahren zum quantitativen Nachweis von Membranmolekülen, Peptiden und Proteinen. Die Durchflusszytometrie ist auch bekannt als FACS, kurz für *fluorescence activated cell sorting*. Diese Methode ermöglicht eine schnelle Untersuchung von großen Zellpopulationen. Die zu untersuchenden Zellen werden hierbei in Einzelzellsuspension gebracht. Um eine Fluoreszenz zu erhalten, erfolgt eine Inkubation der Zellen mit fluoreszierenden monoklonalen Antikörpern. So werden nur Zellen mit dem gesuchten Membranprotein markiert. Fluoreszierende Zellen werden unter Computerkontrolle positiv elektrisch geladen, während Antigen-negative nichtfluoreszierende Zellen eine negative elektrische Ladung erhalten. Durch elektrische Ablenkungsplatten werden die positiv geladenen, Antigen-positiven und die negativ geladenen, Antigen-negativen Zellen getrennt. Anschließend werden die sortierten Zellen durch eine Kapillare gesaugt und in der Durchflusszelle durch einen Laser angeregt. Es erfolgt eine Aufzeichnung des ausgelösten Streu- und Fluoreszenzlichtes.

Die Quantität der Lichtstreuung ist abhängig von der Zellgröße und deren Oberflächenbeschaffenheit. Das Volumen der Zelle bestimmt die Beugung des Lichts im flachen Winkel, dem sogenannten Vorwärtsstreulicht (*Forward Scatter* = FSC). Wird das Licht im rechten Winkel gebrochen, spricht man vom Seitwärtsstreulicht (*Sidewards Scatter* = SSC). Das SSC wird beeinflusst von der strukturellen Beschaffenheit des Zellkerns sowie dessen Größe und der Anzahl der intrazellulären Vesikel. [58, 122, 134, 142]

Um mit dem Durchflusszytometer Fluoreszenzfarben zu messen, werden spezielle Farbstoffe verwendet, welche mit spezifischen Zellbestandteile reagieren oder an Marker-AK gebunden sind.

In Kooperation mit dem Institut für Immunologie der Universität Würzburg wurde im Rahmen der ETiCS-Studie eine neue *high-throughput* FACS-Methode verwendet. Hierbei gelang mittels antigen-beschichteter Beads der Nachweis von β_1 -Autoantikörpern, die gegen den EC_{II}-Loop des β_1 -Rezeptors gerichtet sind. Über einen Zeitraum von 72 Stunden hinweg wurden steigende Konzentrationen von β_1 -EC_{II}-Peptid (2, 5, 10, 20, 40, 60, 80, 100 $\mu\text{g/ml}$) an M-270 Epoxy-Dynabeads (Life Technologies) gekoppelt. Zur Kontrolle wurden 10 $\mu\text{g/ml}$ *scrambled peptide* (aleatorische

Reihenfolge derselben Aminosäuren) eingesetzt. Nach Aufbringen von 1×10^4 Epoxy-Beads auf 96-well-Platten wurden diese mit PBS/10% Humanalbumin geblockt und für 15 Minuten auf Eis inkubiert. Anschließend erfolgte eine 15-minütige Inkubation des 50 μ l Reaktionsvolumens auf Eis zusammen mit den 1:100 verdünnten Patientenseren (PBS, 0,1% BSA, 0,02% NaN_3). Als Positivkontrolle wurde ein monoklonaler β_1 -EC_{II}-Rattenantikörper (MAk 13F6) verwendet. Nach viermaligem Waschvorgang wurden die Beads auf eine neue 96-well-Platte transferiert und dort mit FITC (Dianova)-markierten Esel-anti-human IgG-Fab₍₂₎ bzw. für die Ratten-MAk mit FITC-markierte Esel-anti-Ratte-IgG sekundären Antikörpern inkubiert. Nach erneutem Waschen erfolgte die Messung der Grün-Fluoreszenz mit einem FACScan-flow Zytometer.

2.2.2 Bestimmung des Zytokinprofils mittels Multiplex array

Als Weiterentwicklung und Alternative zum konventionellen *Enzyme-linked immunosorbent assay* (ELISA) wurden *Multiplex arrays* entwickelt. Diese ermöglichen den simultanen Nachweis mehrerer sekretorischer Proteine wie Zytokine, Chemokine und Wachstumsfaktoren, aus einer Probe. *Multiplex arrays* für das Durchflusszytometer basieren auf der Verwendung von Beads. Spezifische Antikörper befinden sich auf der Oberfläche der Beads und bilden so einen Komplex mit den gebundenen Zytokinen. An diesen Komplex binden wiederum fluoreszierende Antikörper. So können mit Standard-Multiplex-Arrays bis zu 25 verschiedene Zytokine in einer Probe nachgewiesen und gemessen werden. Die Detektion von bis zu 100 verschiedenen sekretorischen Proteinen ist mit individuell für die gesuchten Antigene erstellen Beads möglich.^[88] Die Vorteile gegenüber einem ELISA sind die Zeit- und Materialersparnis, da mit nur einer kleinen Menge der Probe gleich mehrere Zytokine getestet werden können. Man erhält des Weiteren gleich einen Überblick über alle bestimmten Zytokine im Vergleich.

Beim verwendeten *Multiplex array* handelt es sich um das „*Human Cytokine Magnetic 25-Plex Panel*“ von Invitrogen.

Der 25-Plex Assay wird auf einer 96-well Platte durchgeführt.

Das „*Human Cytokine Magnetic 25-Plex Panel*“ von Invitrogen dient der quantitativen Bestimmung der Zytokine GM-CSF, IFN- α , IFN- γ , IL-1RA, IL-1 β , IL-1, IL-2R, IL-4, IL-5,

IL-6, IL-7, IL-8, IL-10, IL-12 (p40/p70), IL-13, IL-15, IL-17, IP-10, MCP-1, MIG, MIP-1 α , MIP-1 β , RANTES, Eotaxin und TNF- α aus Serum- und Gewebeproben.

Verwendet werden magnetische Beads, die intern mit roten und infraroten Fluoreszenz-Farbstoffen verschiedener Intensitäten angefärbt sind. Jedem Bead wird eine eigene Nummer zugewiesen, um eine sichere Differenzierung der verschiedenen Beads zu gewährleisten. Den Beads werden Nachweisantikörper und die zu untersuchenden Proben hinzugefügt. Während der zweistündigen Inkubationszeit binden Proteine an die Nachweisantikörper. Nach dem Waschen der Beads mit Waschpuffer werden biotinylierte Nachweisantikörper hinzugegeben und zusammen mit den Beads eine Stunde inkubiert. Währenddessen binden die protein-spezifischen biotinylierten Nachweisantikörper an die passenden immobilisierten Proteine. Nach Entfernen des Überschusses an biotinylierten Nachweisantikörpern durch zweimaliges Waschen mit Waschpuffer wird das fluoreszierende Protein R-Phycoerythrin mit Streptavidin versehen, Streptavidin-RPE genannt, hinzugegeben und für 30 Minuten inkubiert. Das Streptavidin-RPE bindet an die biotinylierten Nachweisantikörper und die Immunkomplexe an den Beads, sodass eine feste Phase aus den vier Bestandteilen entsteht. Nach Entfernen des Überschusses an Streptavidin-RPE durch dreimaliges Anwenden einer Waschlösung erfolgt die Analyse mit dem Luminex[®] 200. Mit der zugehörigen Software Luminex xPONENT[®] (Version 3.1) erfolgt anschließend die Auswertung und Erstellung der Standardkurven zu jedem der untersuchten 25 Zytokine.

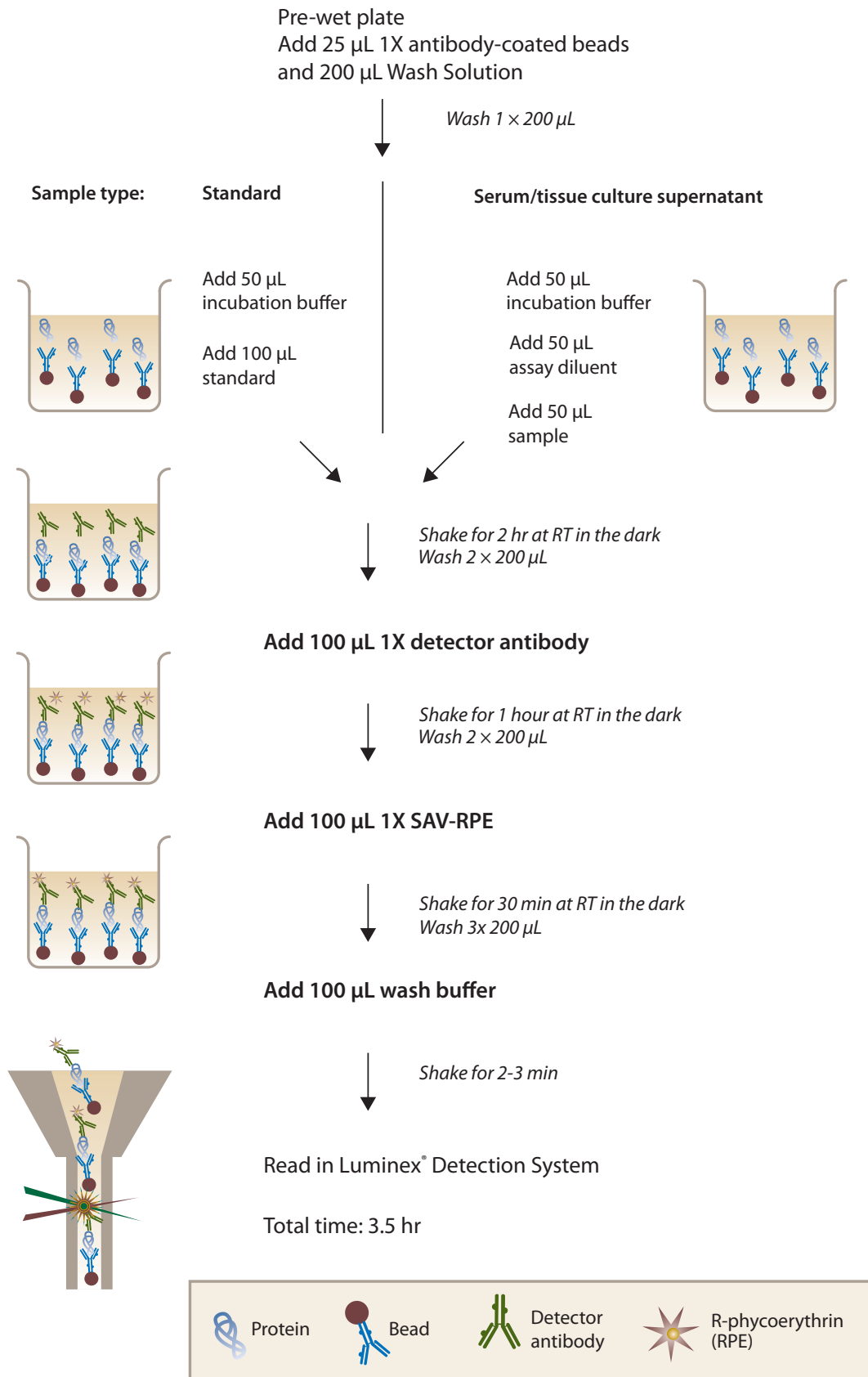


Abbildung 3: Vorgehensprotokoll Multiplex array „Human Cytokine Magnetic 25-Plex Panel“ von Invitrogen^[7]

2.2.3 CTLA-4 Genotypen und CTLA-4 Expression

Die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) ermöglicht die Vervielfältigung der nachzuweisenden Nukleinsäuresequenzen. Zu Beginn erfolgt eine Denaturierung der DNA bzw. RNA (nach Gewinnung von cDNA mittels Reverser Transkriptase) bei 94-96°C und anschließende Abkühlung auf 65°C. Im nächsten Schritt, dem *Primer Annealing*, lagern sich spezifische Primer an die gebildeten Einzelstränge. Daraufhin folgt die Elongation, wobei eine thermostabile DNA-Polymerase, wie z.B. die Taq-Polymerase, bei einer Temperatur von 68-72°C die Einzelstränge beginnend am 3-Ende komplementär mit freien Nukleotiden zu Doppelsträngen vervollständigt. Die Schritte der Denaturierung, des Annealings und der Elongation werden nun wiederholt, bis eine ausreichende Amplifikation der gesuchten Nukleinsäuresequenz erfolgt ist.^[122]

Bei KASP, *kompetitive allele specific PCR*, handelt es sich um eine fluoreszenzbasierte Variante der PCR, um SNPs und Inserts sowie Deletionen (InDels) an spezifischen Lokalisationen in Genen nachzuweisen. Für die Durchführung eines KASP Assays werden die zu untersuchenden DNA-Template, der KASP Assay Mix (zwei Allel-spezifische Vorwärtsprimer sowie ein Rückwärtsprimer) und der KASP Master Mix (KASP Taq-Polymerase, Desoxyribonukleosidtriphosphate, Pufferlösung) benötigt. Die beiden Vorwärtsprimer unterscheiden sich in der Schwanzregion, im Master Mix enthalten ist für beide jeweils ein komplementärer FAM- und ein HEX-Farbstoff an Oligonukleotide gebunden, welche mit einem FRET-Gerät (*Fluorescence Resonance Energy Transfer*) ausgelesen werden können. Beim *Annealing* bindet der an das Allel des SNP passende Vorwärtsprimer an den gesuchten SNP und vervielfältigt anschließend in der Elongation zusammen mit dem reversen Primer den DNA-Doppelstrang. Bei Vorliegen eines homozygoten Genotyps bindet nur einer der beiden Vorwärtsprimer, bei einem heterozygoten Genotyp hingegen binden beide Primer und generieren ein gemischtes Fluoreszenzsignal.^[160]

Es erfolgte eine separate Analyse der FAMI- und AMitis-Patienten, jeweils unterteilt in die AK-negative Gruppe sowie in die β_1 -AAk-positiven Gruppen (*low affinity vs. high affinity*). Hierbei wurden die verschiedenen CTLA-4-Genotypen +49G/A (rs231775, Thr17Ala) und CT60A/G (rs3087243, Gly21Ala) untersucht.

2.2.4 Datenauswertung

Die statistische Auswertung der Daten wurde mithilfe des Computerprogramms „GraphPad Prism“, Version 8 (La Jolla, USA) durchgeführt. Die Analyse erfolgte mit 2way ANOVA, einer zweifachen Varianzanalyse, und dem Tukey's Multiple Comparison Test. Als statistisch signifikant wurde ein p-Wert $\leq 0,05$ definiert, Werte $\leq 0,01$ als hochsignifikant.

Alle verwendeten Diagramme wurden mit Microsoft Excel[®] angefertigt.

Die Zytokinprofile wurden mit dem Luminex[®] 200 analysiert und anschließend mit der zugehörigen Software Luminex xPONENT[®] (Version 3.1) ausgewertet.

3. Ergebnisse

3.1 Studienpopulationen / Rekrutierungszahlen

Der Rekrutierungszeitraum für den AMitis-Arm der prospektiven klinisch-diagnostischen ETiCS-Studie reichte von April 2010 bis Januar 2017. Die letzten Follow-Ups der deutschen Zentren (Universitätskliniken Würzburg, Berlin-Charité, Göttingen, Greifswald, Hannover, Heidelberg, Leipzig, Marburg, Schweinfurt, Robert-Bosch-Krankenhaus Stuttgart) wurden im Januar 2018 durchgeführt. Erst im April 2018 folgten die finalen Untersuchungen in der Universität Belgrad (Serbien). Während dieser Zeit konnten nach Bereinigung durch die Zentrale für klinische Studien (= ZKS) Leipzig (Einschlusskriterien, Protokoll-Verletzungen) von 140 eingeschlossenen AMitis-Patienten letztlich 101 Patienten als Studienpatienten gewertet werden, da bei 39 Patienten aufgrund eines späteren Studienabbruchs nur die Baseline-Werte vorlagen. Weiteren 5 Patienten mussten wegen fehlendem Kontrast-MRT oder Biopsie ausgeschlossen werden; So konnten letztendlich n=96 AMitis-Patienten mit komplettem Follow-Up hinsichtlich der Fragestellung nach dem Autoantikörper-Verlauf ausgewertet werden. Von diesen Patienten wiesen **n=43/96 (45%)** einen positiven β_1 -AAk-Status auf. Mittels *high-throuput* FACS konnten die β_1 -AAk-positiven Patienten in **n=33/96 (34%)** Patienten mit hochaffinen Autoantikörpern und **n=10/96 (10%)** Patienten mit niedrigaffinen Autoantikörpern differenziert werden. Als β_1 -AAk-positiv gewertet wurden bei Baseline AK-negative Patienten (egal ob FAMI oder AMitis), die dann in (mindestens) einem (FACS-)Follow-Up (nach 3, 6 oder 12 Monaten) AK-positiv waren.

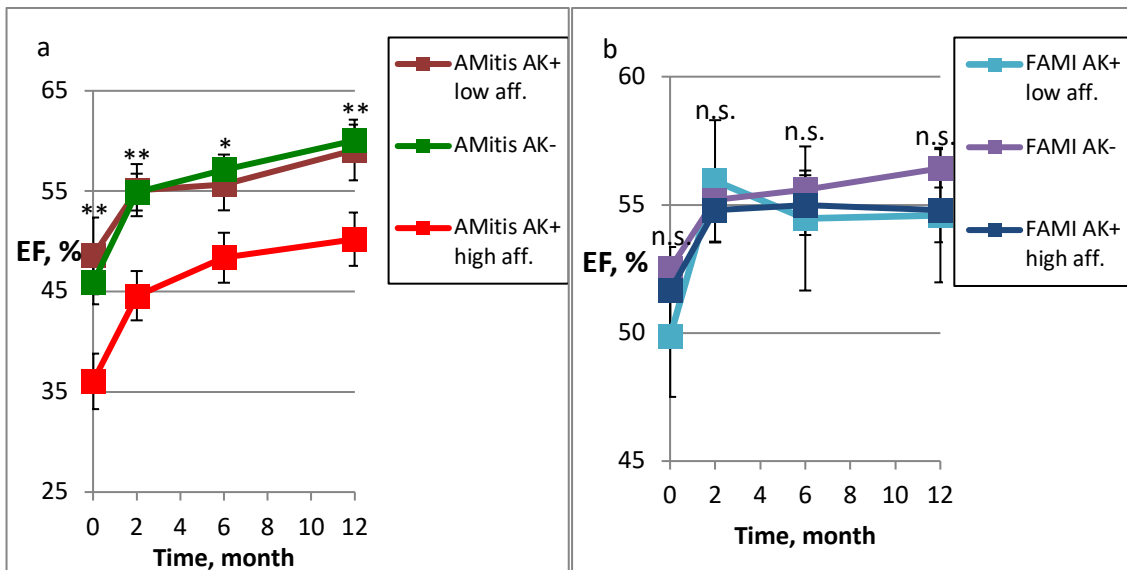
Dies zeigt, dass v.a. AMitis-Patienten häufig eine herzgerichtete Autoimmunität entwickeln. Bei Patienten, die positiv auf β_1 -AAk mit hoher Affinität getestet wurden, konnte zudem ein signifikant schlechterer Verlauf der echokardiographischen Pumpfunktion (LVEF in %) festgestellt werden. Da jedoch der Gesamt-IgG-Spiegel bei diesen Patienten nicht erhöht war, ist ein unspezifischer IgG-Bindungseffekt im FACS bei diesen Patienten praktisch auszuschließen.

Im FAMI-Arm konnten von April 2010 bis Mai 2015 nach Datenbereinigung durch das ZKS Leipzig von 226 eingeschlossenen FAMI-Patienten letztlich 202 Patienten als Studienpatienten gewertet werden. Das letzte Follow-Up wurde im Juni 2016 durchgeführt. Von den ursprünglich 226 Patienten lagen bei 24 Patienten aufgrund eines Studienabbruchs nur die Baseline-Werte vor. Bei weiteren 22 Patienten fehlte das gemäß dem Protokoll geforderte MRT, so dass schließlich nur n=180 FAMI-Patienten mit vollständigem Follow-Up hinsichtlich des Autoantikörper-Verlaufs ausgewertet

werden konnten. Einen positiven β_1 -AAk-Status wiesen **n=57/180 (32%)** der Patienten auf. Diese konnten anschließend mittels FACS in **n=42/180 (23%)** Patienten mit hochaffinen und **n=15/180 (8%)** Patienten mit niedrigaffinen β_1 -AAk differenziert werden.

3.2 Vergleich der β_1 -Autoimmunreaktivität und Verlauf der LV-Pumpfunktion

Vergleicht man die zeitliche Entwicklung der LVEF (LVEF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion) bei AMitis-Patienten gegenüber FAMI-Patienten (Abb. 4), wird deutlich, dass die Ausbildung von Autoantikörpern gegen den β_1 -Adrenozeptor bei der FAMI-Gruppe keinen nennenswerten Einfluss hatte (Abb. 4b). Dagegen war bei der AMitis-Gruppe die LV-Pumpfunktion bei den Patienten, die hochaffine β_1 -AAk entwickelt haben, wesentlich stärker beeinträchtigt als bei Patienten mit niedrigaffinen β_1 -AAk oder Patienten die keine β_1 -AAk entwickelt haben (Abb. 4a). Der Verlauf der LVEF zeigt, dass niedrigaffine β_1 -AAk keinen wesentlichen Einfluss auf die Entwicklung der LVEF haben. Deshalb werden in den weiteren Betrachtungen der vorliegenden Arbeit lediglich β_1 -AAk negative AMitis-Patienten den AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenübergestellt.



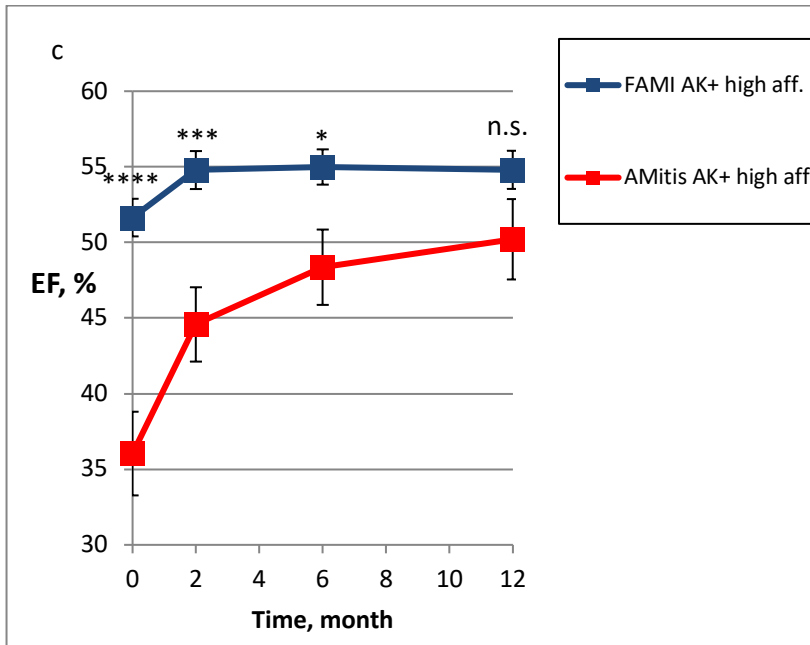


Abbildung 4: Verlauf der echokardiographisch bestimmten LVEF-Pumpfunktion (EF, %) von AMitis- und FAMI-Patienten der ETiCS-Studie abhängig vom AAK-Status

Verlauf (12 Mon.) der LVEF-Pumpfunktion von β_1 -AAK-positiven AMitis- und FAMI-Patienten (differenziert nach low- und high affinity) und AAK-negativen Patienten; t=0, 2, 6, 12 Monate; * $p < 0,05$, ** $p < 0,05$, *** $p < 0,001$, **** $p < 0,0001$; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) AMitis-Patienten; (b) FAMI-Patienten; (c) Vergleich zwischen AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAK

Abb. 4a zeigt eine statistisch signifikant schlechtere LVEF bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAK; niedrigaffine β_1 -AAK scheinen im direkten Vergleich mit β_1 -AAK-negativen Patienten keinen Effekt auf die LVEF zu haben.

In Abb. 4b sieht man keine statistisch signifikanten Unterschiede hinsichtlich der LVEF zwischen Patienten mit niedrig- oder hochaffinen β_1 -AAK gegenüber AAK-negativen FAMI-Patienten.

Im direkten Vergleich in Abb. 4c ist eine statistisch hochsignifikant schlechtere LVEF bei AMitis- gegenüber FAMI-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAK zu sehen.

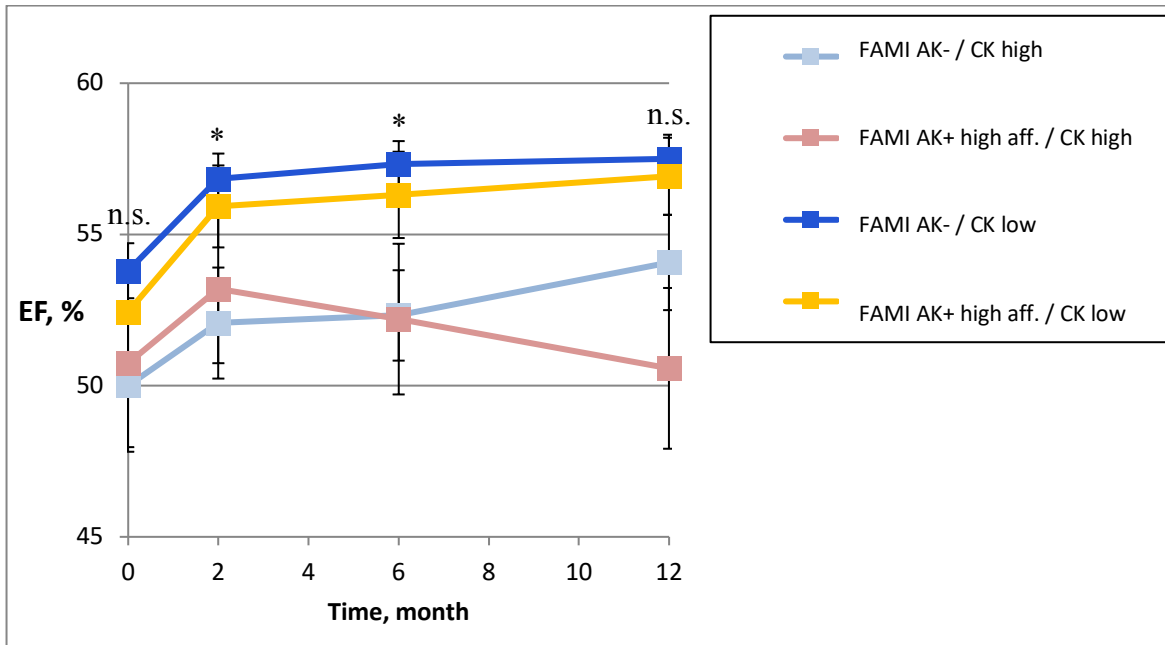


Abbildung 5: Verlauf der echokardiographisch bestimmten LVEF (EF, %) von FAMI-Patienten abhängig vom AAK-Status und des CK-Werts

Verlauf (12 Mon.) der LVEF-Pumpfunktion (EF, %) und des CK-Werts (niedriges Gesamt-CK <1000 U/l, hohes Gesamt-CK >1000 U/l) von β_1 -AAk-positiven FAMI-Patienten (differenziert nach low- und high affinity) und β_1 -AAk-negativen FAMI-Patienten; t=0, 2, 6, 12 Monate; *p<0,05; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM

Die FAMI-Patienten lassen sich mit dem Surrogat der Kreatinkinase (CK) im Hinblick auf das Ausmaß der Myokardschädigung und die damit verbundene Reduktion der LVEF in vier verschiedene Gruppen unterteilen:

- Patienten mit niedrigem CK-Wert (Gesamt-CK <1000 U/l; kleiner Infarkt) und negativem β_1 -AAk-Status (AK- / low CK)
- Patienten mit niedrigem CK-Wert (Gesamt-CK <1000 U/l; kleiner Infarkt) und hochaffinen β_1 -AAk (AK+ high aff. / low CK)
- Patienten mit hohem CK-Wert (Gesamt CK >1000 U/l; großer Infarkt) und negativem β_1 -AAk-Status (AK- / high CK)
- Patienten mit hohem CK-Wert (Gesamt CK >1000 U/l; großer Infarkt) und hochaffinen β_1 -AAk (AK+ high aff. / high CK)

In Abb. 5 sieht man eine statistisch signifikant schlechtere LVEF bei Patienten mit hohem CK-Wert, unabhängig vom Antikörper-Status. Dies zeigt, dass bei FAMI-Patienten der CK-Effekt (Ausmaß des Myokardschadens) für die Entwicklung der LVEF viel aussagekräftiger ist als die Produktion von β_1 -AAk.

3.3 Zytokinprofile im Verlauf bei AMitIs versus FAMI-Patienten

Wie in Abb. 4a und 4b schon gezeigt, scheinen – zumindest bei AMitIs-Patienten – lediglich die hochaffinen β_1 -AAk einen Einfluss auf die LVEF zu haben. Daher wurden für die vorliegende Arbeit nur die Patienten der FAMI- und AMitIs-Gruppe verglichen, die positiv für hochaffine β_1 -AAk waren.

Im Folgenden werden die Zytokinprofile der verschiedenen pro- und antiinflammatorischen Zytokine ausschließlich zwischen diesen beiden Gruppen verglichen.

Die verschiedenen untersuchten Zytokine werden nach einer AMitIs bzw. eines FAMI von unterschiedlichen Zellen sezerniert; hierzu zählen Monozyten und Makrophagen, T_H1 -Zellen, T_H2 -Zellen, T_H17 -Zellen und regulatorische T-Zellen.

Charakteristisch für eine unspezifische Immunabwehr sind IL-1 β , IL-1RA, GM-CSF, MCP-1, IL-6, TNF- α , MIP-1 α , MIP-1 β und IFN- α . Diese Zytokine werden bei jeder Inflammation initial sezerniert und sind deshalb in der Regel nicht maßgeblich an der Entwicklung einer Autoimmunreaktion beteiligt.

IL-1 β wird unter anderem von Monozyten, Makrophagen und dendritischen Zellen gebildet und fördert durch die Aktivierung von B- und T-Zellen sowie die Differenzierung von T_H17 -Zellen inflammatorische und immunologische Prozesse.

IL-1RA bindet an denselben Rezeptor wie IL-1 β , löst aber als Rezeptorantagonist keine Wirkung aus, sondern blockiert diesen. IL-1RA wird von Makrophagen, Monozyten und neutrophilen Granulozyten sezerniert.

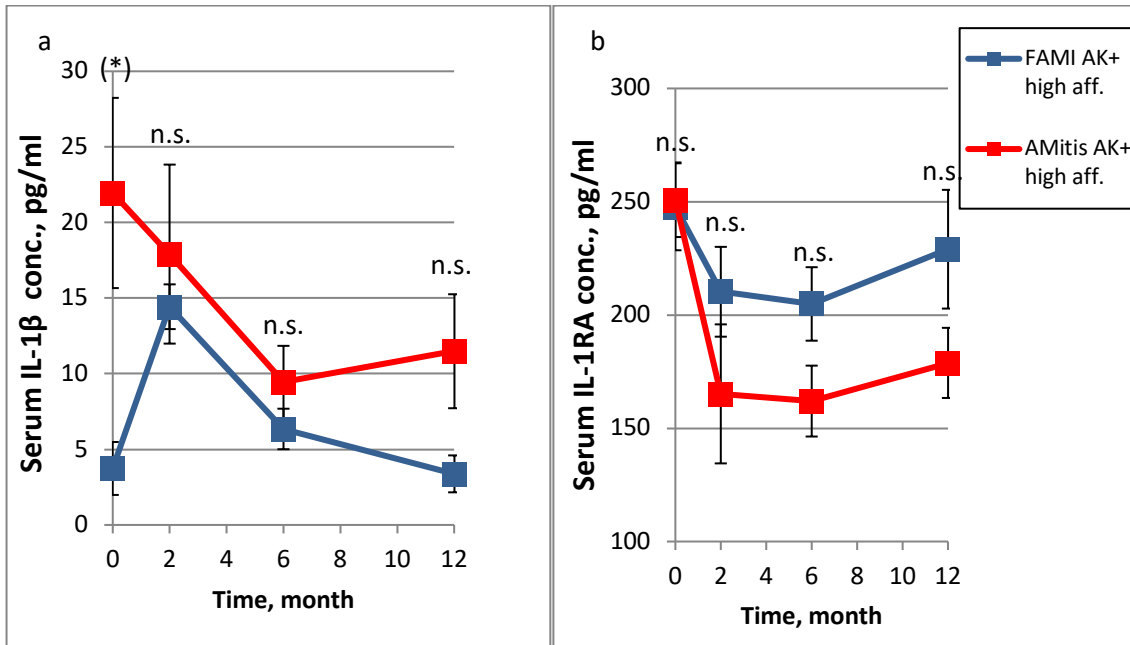


Abbildung 6: **Verlauf der IL-1 β und IL-1RA-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK**

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; (*)p<0,1; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IL-1 β -Serumkonzentration; (b) IL-1RA-Serumkonzentration

In Abb. 6a sieht man initial erhöhte IL-1 β -Spiegel bei AMitis-Patienten, bei Baseline wird die Signifikanz jedoch knapp verfehlt. Trotz initial erhöhter Konzentration bei AMitis-Patienten sind im Verlauf keine relevanten Unterschiede zwischen der AMitis- und der FAMI-Gruppe zu sehen. Eine gesteigerte Produktion dieses proinflammatorischen Zytokins könnte bei AMitis allenfalls initial zu einer Beeinträchtigung der LVEF beitragen, scheint im weiteren Verlauf aber keine wesentliche Rolle zu spielen.

In Abb. 6b sieht man im Verlauf über 12 Monate statistisch nicht signifikant erhöhte IL-1RA-Spiegel bei FAMI-Patienten. Lediglich zur Baseline wird das Zytokin bei beiden Gruppen gleich stark freigesetzt. Dies könnte auf einen protektiven Langzeiteffekt von IL-1RA schließen lassen, da dieses kompetitiv zu IL-1 β an den IL-1 Rezeptor bindet, ohne eine Signalkaskade in Gang zu setzen.

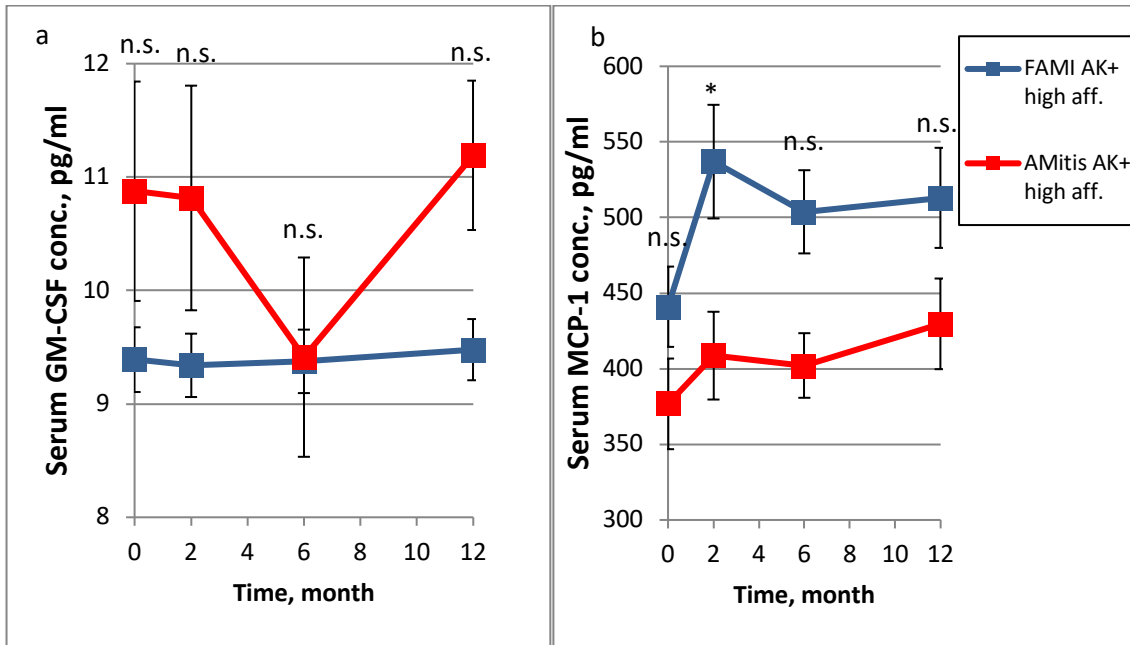


Abbildung 7: **Verlauf der GM-CSF und MCP-1-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK**

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; *p<0,05; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) GM-CSF Serumkonzentration; (b) MCP-1-Serumkonzentration

GM-CSF wird infolge immunologischer und inflammatorischer Reize u.a. von T-Zellen und Makrophagen gebildet und bewirkt eine Differenzierung und Aktivierung von Monozyten und Granulozyten.

Abb. 7a zeigt im Verlauf (statistisch nicht signifikant) erhöhte GM-CSF-Serumspiegel bei AMitis-Patienten, lediglich nach 6 Monaten zeigt sich formal kein Unterschied zwischen beiden Gruppen. GM-CSF könnte bei AMitis-Patienten durch eine chronische niedrigschwellige Inflammation zu einer verminderten Erholung der LV-Pumpfunktion beitragen.

MCP-1 wird nach erfolgter Stimulation durch inflammatorische Reize wie IL-1, TNF- α , IFN- γ und IL-6 u.a. von Monozyten, Makrophagen und Fibroblasten gebildet. Monozyten und Makrophagen werden durch MCP-1 aktiviert, sie phagozytieren nekrotische Kardiomyozyten und bilden Granulationsgewebe.

In Abb. 7b zeigen sich konstant niedrigere Werte bei der AMitis-Gruppe. Ein signifikanter Unterschied wird jedoch nur nach 2-3 Monaten erreicht. Dies zeigt, dass es im Vergleich zur AMitis bei FAMI-Patienten zu einer vermehrten Nekrose von Kardiomyozyten zu kommen scheint. Das nekrotisierte Gewebe wird durch Makrophagen phagozytiert und durch Fibroblasten ersetzt, wobei MCP-1 bei diesem Prozess des post-Infarkt-Remodelings eine wichtige Rolle spielen könnte.

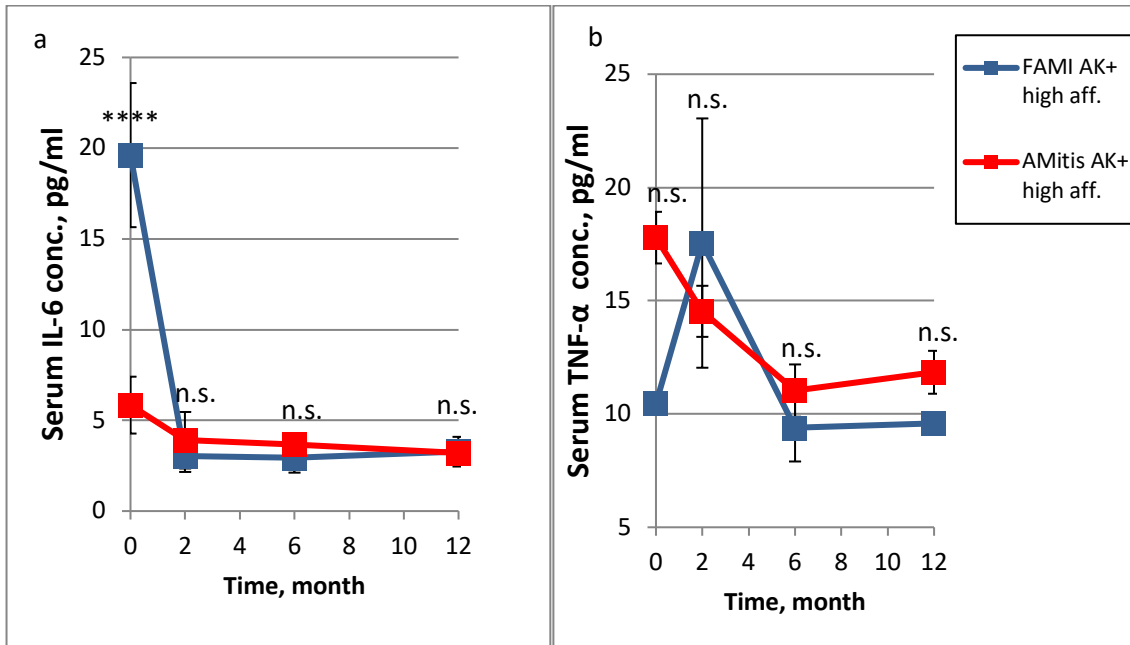


Abbildung 8: **Verlauf der IL-6 und TNF- α -Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK**

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; ****p<0,0001; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; **(a)** IL-6-Serumkonzentration; **(b)** TNF- α -Serumkonzentration

IL-6 wird hauptsächlich von B- und T-Zellen, Makrophagen und Fibroblasten sezerniert. Es wirkt sich auf Wachstum und Differenzierung von B- und T_H17-Zellen aus, sowie auf die Proliferation zytotoxischer T-Zellen.

In Abb. 8a sieht man initial einen statistisch hochsignifikant erhöhten IL-6-Serumspiegel bei FAMI-Patienten. Im weiteren Verlauf unterscheiden sich beide Gruppen nicht. Da es bei einem Myokardinfarkt in den ersten 3-5 Tagen zu einer starken Inflammation durch den großflächigen Untergang an Kardiomyozyten kommt, ist insbesondere bei Baseline die IL-6-Konzentration bei FAMI-Patienten so stark erhöht. Im weiteren Verlauf scheint IL-6 nach einem Infarkt jedoch keine negativen Auswirkungen auf die Erholung der LV-Pumpfunktion bei FAMI-Patienten zu haben.

TNF- α weist eine ähnliche Wirkung wie IL-1 β auf, es wird ebenso von aktivierten Monozyten und Makrophagen, dendritischen Zellen sowie B- und T-Lymphozyten gebildet.

In Abb. 8b zeigt sich ein ähnlicher Verlauf der Serumspiegel beider Gruppen ohne statistische Signifikanz. Im Vergleich ist die Konzentration bei den AMitis-Patienten (mit Ausnahme von FUP1) konstant leicht erhöht. Dennoch scheint TNF- α in Hinsicht auf

eine schlechtere Erholung der LV-Pumpfunktion bei AMitis-Patienten nur eine untergeordnete Rolle zu spielen.

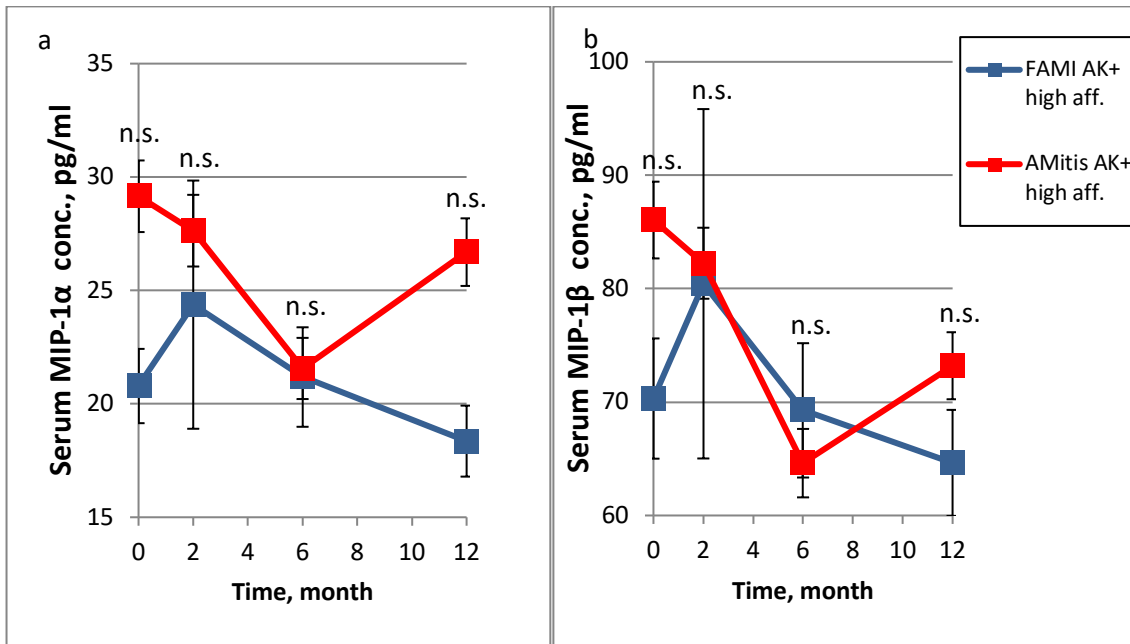


Abbildung 9: Verlauf der MIP-1α- und MIP-1β-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) MIP-1α-Serumkonzentration; (b) MIP-1β-Serumkonzentration

MIP-1α und MIP-1β werden von Monozyten, Makrophagen, B- und T-Zellen sezerniert. MIP-1α lockt Monozyten an und stimuliert die Sekretion proinflammatorischer Zytokine. Der Verlauf in Abb. 9a zeigt, dass MIP-1α bei der AMitis-Gruppe (statistisch nicht signifikant) verstärkt exprimiert wird (mit Ausnahme von FUP2). Dieses proinflammatorische Zytokin könnte durch Erhalt eines inflammatorischen Milieus also durchaus in geringem Umfang zur schlechteren Erholung der LV-Pumpfunktion bei AMitis-Patienten beitragen.

MIP-1β aktiviert natürliche Killerzellen, begünstigt die Adhäsion von T-Zellen an Endothelzellen und rekrutiert Monozyten und Lymphozyten.

In Abb. 9b sieht man innerhalb von 12 Monaten einen sinkenden Verlauf der Serumspiegel bei beiden Gruppen auf ähnlichem Niveau, so dass MIP-1β vermutlich keinen Einfluss auf das LV-Remodeling bzw. die Entwicklung der LVEF hat.

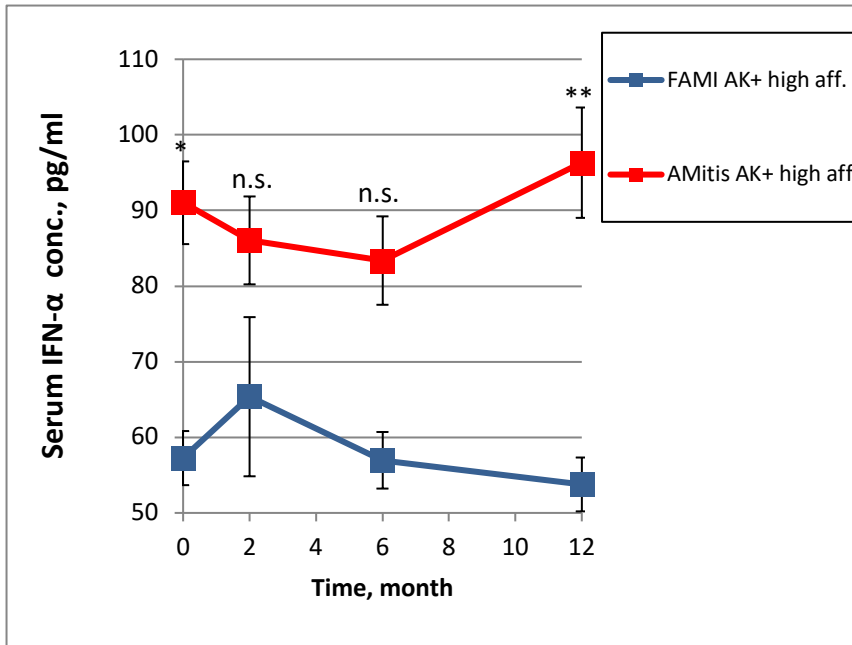


Abbildung 10: Verlauf der IFN- α -Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; *p<0,05, **p<0,01; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; IFN-1 α -Serumkonzentration

Makrophagen, Monozyten und Lymphozyten produzieren IFN- α . Eine antivirale Wirkung erreicht es durch den Abbau viraler und zellulärer Nukleinsäuren in virus-infizierten Zellen. Außerdem kommt es zu einer gesteigerten Expression von MHC-I-Molekülen, die dann zytotoxischen T-Zellen die viralen Antigene präsentieren.

In Abb. 10 zeigt sich schon initial ein statistisch signifikant erhöhter Serumspiegel bei AMitis-Patienten, der nach 12 Monaten noch weiter ansteigt. Bei FAMI-Patienten dagegen sinkt die Konzentration nach den ersten 2-3 Monaten. Es scheint aber, als habe hier das nur unter bestimmten Rahmenbedingungen auch antiinflammatorisch wirksame IFN- α bei AMitis-Patienten, obwohl leicht erhöht, letztlich keinen Effekt auf die bei diesen Patienten ebenso erhöhten Spiegel der proinflammatorischen Zytokine.

Zu den durch T_H1-Zellen produzierten Zytokinen zählen IFN- γ , IL-12 und IL-2. T_H1-Zellen sind beteiligt an der Elimination von Bakterien und Viren, regen die Antikörperproduktion an und lösen eine Reaktion des angeborenen Immunsystems aus. Bei Autoimmunreaktionen spielen T_H1-Zellen neben T_H17-Zellen eine entscheidende Rolle.

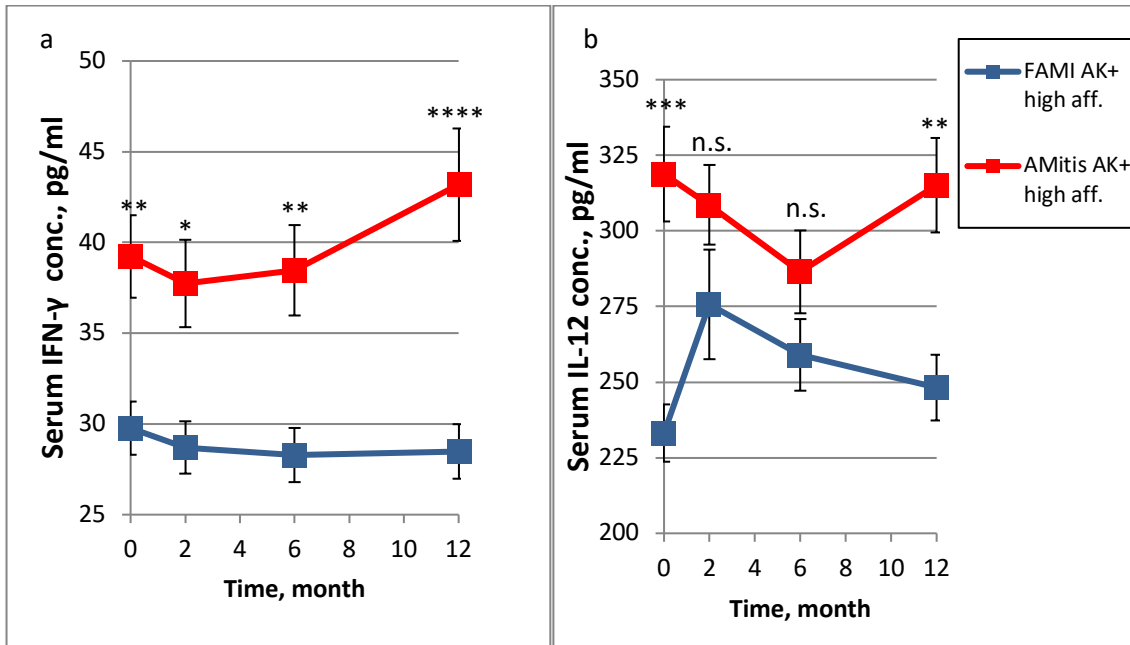


Abbildung 11: Verlauf der IFN- γ - und IL-12-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; *p<0,05, **p<0,05, ***p<0,001, ****p<0,0001; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IFN- γ -Serumkonzentration; (b) IL-12-Serumkonzentration

Die Produktion von IFN- γ erfolgt durch T_H1-Zellen, NK-Zellen, Makrophagen, dendritische Zellen und zytotoxische T-Lymphozyten. Es stimuliert die Aktivierung, Proliferation und Differenzierung unter anderem von B- und T-Zellen und Makrophagen und verschiebt zudem das T_H1/T_H2-Gleichgewicht in Richtung T_H1. MHC-Klasse-I-Moleküle werden zudem verstärkt im Falle einer Virusinfektion exprimiert, so dass diese infizierten Zellen dann durch zytotoxische T-Zellen eliminiert werden können. IFN- α , IFN- β und IFN- γ agieren hierbei synergistisch bei der Beseitigung der Viren. Zusammen mit IL-1 und TNF- α bewirkt IFN- γ eine Steigerung der Zytotoxizität von CD8+-Zellen und NK-Zellen, was daraufhin zu einer vermehrten Sekretion von IFN- γ , TNF- α und IL-17 führt.

Abb. 11a zeigt durchgängig statistisch hochsignifikant erhöhte IFN- γ -Spiegel bei AMitis-Patienten mit einem deutlichen Anstieg zum Ende des Beobachtungszeitraums von 12 Monaten. Bei FAMI-Patienten dagegen sinkt die Konzentration im Verlauf leicht. Die erhöhten IFN- γ -Werte könnten durch die Verschiebung des T_H1/T_H2-Gleichgewichts in Richtung T_H1 durchaus relevant zur Entwicklung einer Autoimmunreaktion (Bildung von β_1 -AAK) bei AMitis-Patienten beitragen.

IL-12 wird von Monozyten, Makrophagen, dendritischen Zellen und B- und T-Zellen gebildet. Das Zytokin stimuliert T-Zellen und NK-Zellen zur Freisetzung von IFN- γ und TNF- α sowie die Bildung von T_H1-Zellen aus naiven T-Lymphozyten. Die Produktion von IL-12 kann durch IL-4 und IL-10 gehemmt werden.

In Abb. 11b sieht man einen statistisch hochsignifikant erhöhten IL-12-Serumspiegel bei AMitis-Patienten. Bei FAMI-Patienten nimmt die Konzentration nach einem kurzen Anstieg nach 2-3 Monaten kontinuierlich ab, während bei der AMitis-Gruppe der initial erhöhte Spiegel zunächst über 6 Monate leicht fällt, nach 12 Monaten aber wieder deutlich ansteigt. Die erhöhten IL-12-Level könnten zu einer vermehrten Freisetzung von IFN- γ beitragen und somit die Entwicklung einer Autoimmunität bei AMitis-Patienten begünstigen.

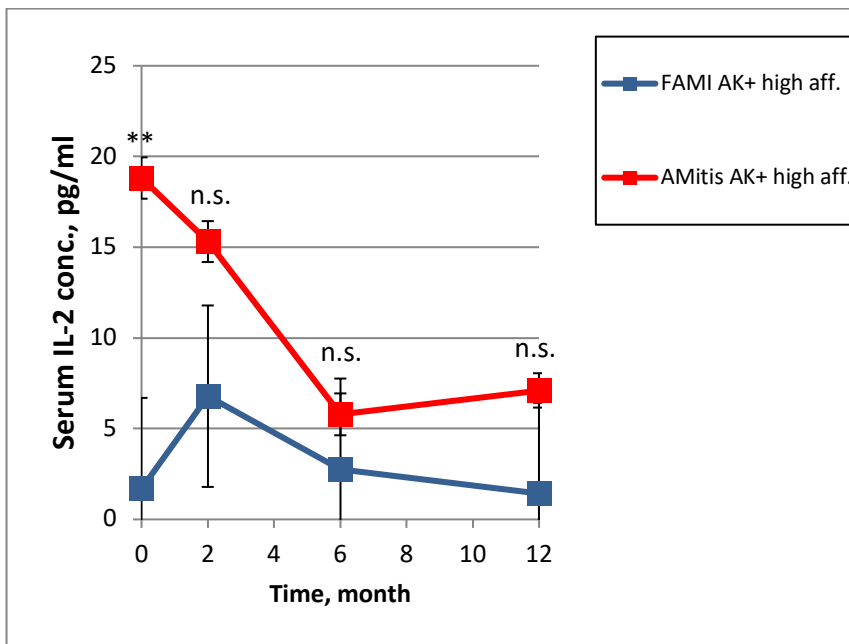


Abbildung 12: Verlauf der IL-2-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; **p<0,01; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IL-2-Serumkonzentration

Aktiviert T-Lymphozyten setzen IL-2 frei, welches im Rahmen einer chronischen Inflammation an der spezifischen Immunantwort beteiligt ist. IL-2 führt zu einer Aktivierung und Proliferation von B- und T-Zellen und Makrophagen.

Abb. 12 zeigt einen initial gegenüber FAMI-Patienten statistisch hochsignifikant erhöhten IL-2 Serumspiegel bei AMitis-Patienten. In den ersten Monaten sieht man in beiden Gruppen sinkende IL-2-Konzentrationen, wobei die Spiegel bei der AMitis-Gruppe im

Verlauf jedoch weiterhin deutlich erhöht bleiben, wenn auch ohne statistische Signifikanz zu erreichen. Als Marker für eine latente chronische Inflammation könnte IL-2 somit in geringem Umfang zu der persistierend schlechteren LVEF bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -Rezeptor-AAk beitragen.

Die Zytokine IL-4, IL-5, IL-7 und IL-13 werden durch T_H2 -Zellen produziert. Durch die Produktion von IL-4 und IL-10 kann eine T_H1 -vermittelte Immunreaktion unterdrückt werden.

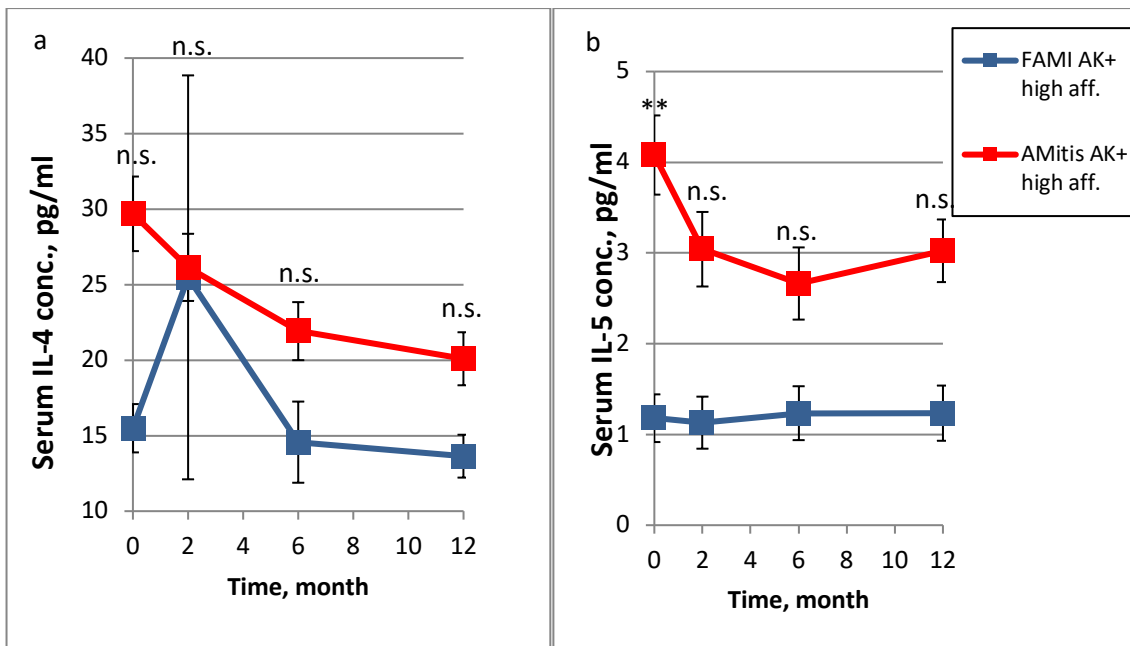


Abbildung 13: Verlauf der IL-4- und IL-5-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; **p<0,01; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IL-4-Serumkonzentration; (b) IL-5-Serumkonzentration

IL-4 wird u.a. von aktivierten T-Zellen, Mastzellen und Makrophagen produziert. Die Differenzierung von T_H2 -Zellen aus nativen CD4+ T-Zellen wird durch IL-4 gefördert, während gleichzeitig die Produktion von T_H1 -Zellen gehemmt wird. IL-4 kann zum einen die Produktion von IL-1RA anregen, sowie zum anderen die Produktion einiger proinflammatorischer Zytokine (TNF- α , IFN- γ , IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, MIP-1 α) hemmen. In Abb. 13a sieht man statistisch nicht signifikant erhöhte IL-4-Serumspiegel bei AMitis-Patienten. Bei beiden Gruppen zeigt sich ein sinkender Spiegel im Verlauf. Es scheint, dass die geringfügig erhöhten IL-4-Konzentrationen bei AMitis-Patienten die Wirkung der proinflammatorischen Zytokine nicht ausgleichen können.

T-Lymphozyten, eosinophile Granulozyten und Mastzellen sezernieren IL-5 v.a. infolge eines Kontakts mit Allergenen oder parasitären Antigenen. IL-5 löst daraufhin die Produktion von IgA aus.

In Abb. 13b sind bei der Baseline statistisch signifikant erhöhte IL-5-Konzentrationen bei AMitis-Patienten zu sehen, die im Verlauf abnehmen. Bei der FAMI-Gruppe dagegen sind die IL-5 Spiegel deutlich niedriger und bleiben über den gesamten Beobachtungszeitraum auf niedrigem Niveau. Somit scheint IL-5, wie auch schon IL-4, keinen relevanten protektiven antiinflammatorischen Effekt bei AMitis-Patienten erzielen zu können.

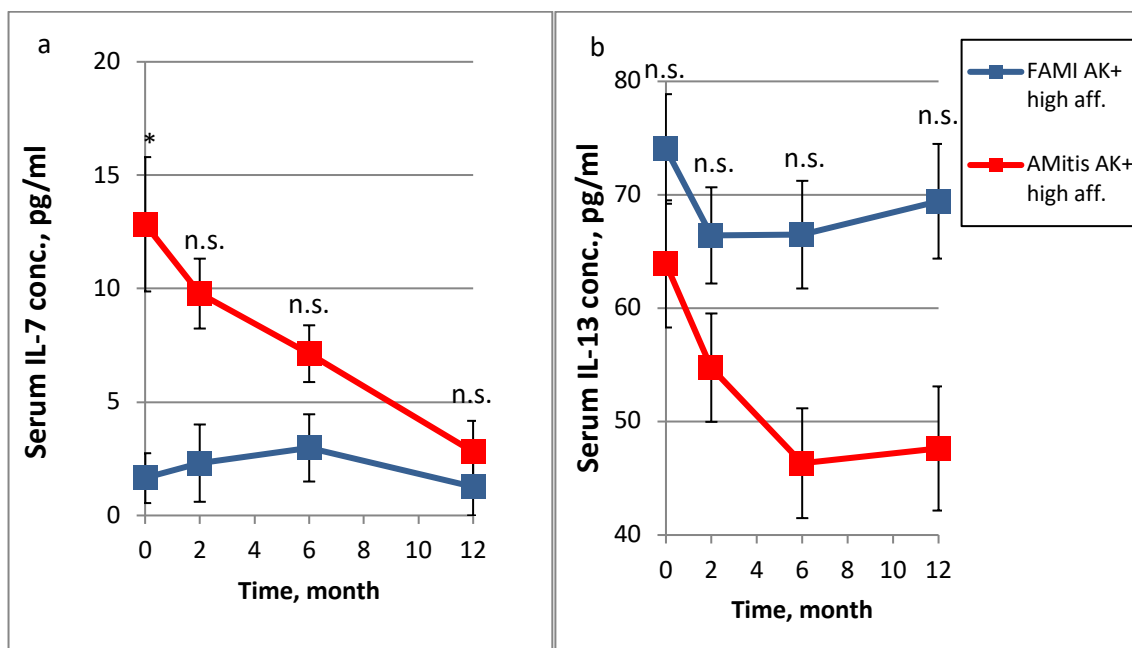


Abbildung 14: Verlauf der IL-7 und IL-13-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; *p<0,05; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IL-7-Serumkonzentration; (b) IL-13-Serumkonzentration

Die Bildung von IL-7, welches die Produktion von T-Zellen und B-Zell-Progenitorzellen fördert, erfolgt durch Knochenmarkszellen, Thymus-Stromazellen und Milzzellen.

In Abb. 14a zeigen sich initial statistisch signifikant erhöhte IL-7 Serumspeigel bei β_1 -AAk-positiven AMitis-Patienten, nicht aber bei β_1 -AAk-positiven FAMI-Patienten. Die Konzentration des Zytokins nimmt bei der AMitis-Gruppe kontinuierlich ab, bis sie nach 12 Monaten in etwa auf einem Niveau mit der FAMI-Gruppe liegt. IL-7 könnte bei AAK-positiven Patienten initial die Ausbildung solcher AAK begünstigen und somit zur anfangs deutlichen Beeinträchtigung der LV-Pumpfunktion beitragen. Im weiteren

Verlauf sinken die Spiegel zwar deutlich, könnten aber in gewissem Umfang zu einem Erhalt der Autoantikörper-Produktion beitragen.

IL-13 wird durch aktivierte T-Lymphozyten, NK und Mastzellen sezerniert. Das antiinflammatorische Zytokin bewirkt einen Klassenwechsel von IgM zu IgE in B-Zellen, steigert die Freisetzung von Chemokinen und lockt dadurch T_H2-Zellen und eosinophile Granulozyten an. IL-13 wirkt hemmend auf die Produktion der proinflammatorischen Zytokine IL-1 β , TNF- α , IL-8, MIP-1 α und IL-6.

In Abb. 14b sieht man über 12 Monate kontinuierlich (statistisch nicht signifikant) erhöhte IL-13-Serumspiegel bei FAMI-Patienten. Die Konzentration war bei AAK-positiven AMitis-Patienten insbesondere im Verlauf niedriger bzw. fiel deutlich ab. Die konstant erhöhten IL-13 Spiegel waren bei FAMI-Patienten mit einer besseren Erholung der LV-Pumpfunktion verbunden und schienen in diesem Kollektiv mit einem protektiven antiinflammatorischen bzw. anti-Remodeling-Effekt verbunden, wogegen die niedrigen IL-13 Spiegel bei AMitis-Patienten offensichtlich nicht ausreichten, um die Aktivität der proinflammatorischen Zytokine zu neutralisieren.

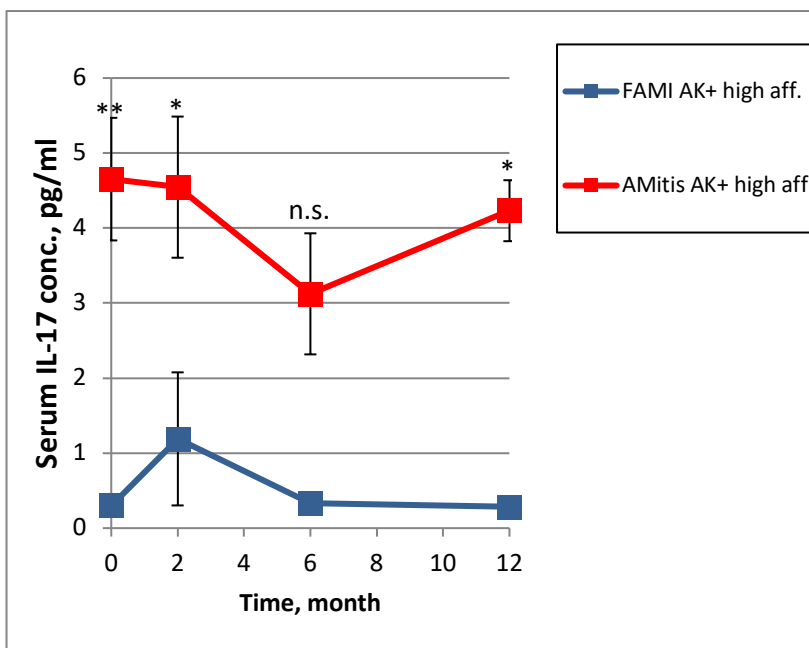


Abbildung 15: Verlauf der IL-17-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; *p<0,05, **p<0,05; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; IL-17-Serumkonzentration

Aktivierte CD4+ T-Gedächtniszellen (T_H17-Zellen) produzieren das proinflammatorische Zytokin IL-17, welches das erworbene Immunsystem aktiviert und somit eine

entscheidende Rolle bei der Entwicklung einer durch T_H17 -Zellen vermittelten Autoimmunität spielt. IL-17 stimuliert wiederum die Freisetzung anderer proinflammatorischer Zytokine (IL-6, IL-8, GM-CSF, MCP-1). Durch eine verminderte Produktion von IL-2 und IFN- γ und durch eine Hemmung der Differenzierung von T_H1 -Zellen in Gegenwart hoher IL-17-Spiegel könnte bei AMitis-Patienten auch eine Viruspersistenz begünstigt werden.

In Abb. 15 sieht man praktisch durchgängig statistisch hochsignifikant erhöhte IL-17 Serumspeigel bei β_1 -AAk-positiven AMitis-Patienten bei im Verlauf relativ stabilen Konzentrationen. Bei FAMI-Patienten findet nur eine sehr geringe Sekretion von IL-17 statt. Dies lässt auf eine IL-17-induzierte Autoimmunreaktion bei AMitis-Patienten mit vermehrter Bildung von β_1 -AAk schließen, was bei diesen Patienten auch mit einer deutlich schlechteren Erholung bzw. Entwicklung der LVEF verbunden zu sein scheint.

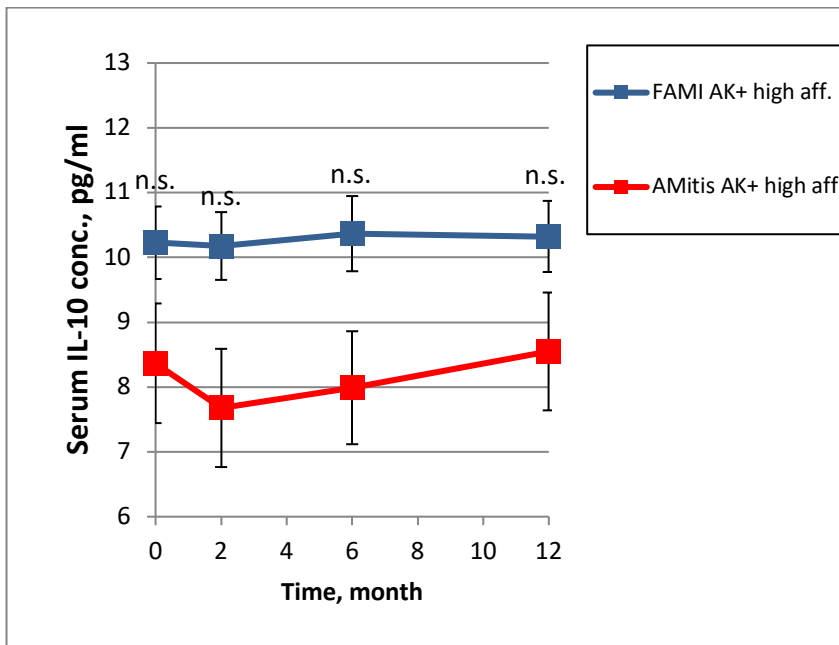


Abbildung 16: Verlauf der IL-10-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; IL-10-Serumkonzentration

Das antiinflammatorische Zytokin IL-10 wird durch T_{Reg} , T_H2 -Zellen, aktivierte T- und B-Zellen, Monozyten und Makrophagen produziert. T_{Reg} steuern die Prägung von T_H1 -, T_H2 - und T_H17 -Zellen und regulieren auf diese Weise Über- und Fehlfunktionen des Immunsystems. Der vermutlich protektive Effekt von sezerniertem IL-10 zeigt sich durch die Hemmung proinflammatorischer Zytokine (IL-1, IL-6, IL-8, IL-12, IFN- γ , TNF- α).

Abb. 16 zeigt über 12 Monate einen konstant (statistisch jedoch nicht signifikant) erhöhten IL-10-Serumspiegel bei FAMI-Patienten gegenüber β_1 -AAk-positiven AMitis-Patienten. In beiden Gruppen bleibt die Konzentration im Verlauf über 12 Monate in etwa gleich, jedoch sind die Spiegel bei AMitis-Patienten konstant niedriger. Dies lässt auf einen protektiven antiinflammatorischen Effekt dieses Zytokins bei FAMI-Patienten schließen: Es könnte der Ausbildung einer Autoimmunität entgegengesteuert haben und durch Hemmung der proinflammatorischen Zytokine im Verlauf zu einer besseren Erholung der LV-Pumpfunktion beigetragen haben.

3.4 Grad der Aktivierung des Immunsystems und Ausbildung von β_1 -AAk

Wie bereits aus Abb.4a ersichtlich, scheinen lediglich die hochaffinen β_1 -AAk bei AMitis-Patienten mit einer signifikanten Reduktion der Pumpfunktion assoziiert. Die LVEF aller FAMI-Gruppen sowie der AMitis-Patienten ohne bzw. mit niedrigaffinen β_1 -AAk bewegen sich alle auf einem ähnlichen Niveau. Aus diesem Grund wurden im Rahmen dieser Arbeit lediglich die Zytokinprofile der AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk mit denen der β_1 -AAk-negativen AMitis-Patienten verglichen.

Die Zytokine, die im Verlauf einer viralen Myokarditis über die autoimmune Myokarditis bis hin zur Entwicklung einer DCM freigesetzt werden, lassen sich entsprechend der einzelnen Stadien zuordnen (siehe S. 5, Abb. 1).

Im Zuge der Entwicklung einer viralen Myokarditis werden IL-1 β , IL-1RA, TNF- α , MIP-1 β , IFN- α , IL-6, MIP-1 α , MIP-1 β , IL-7 und IL-2 sezerniert.

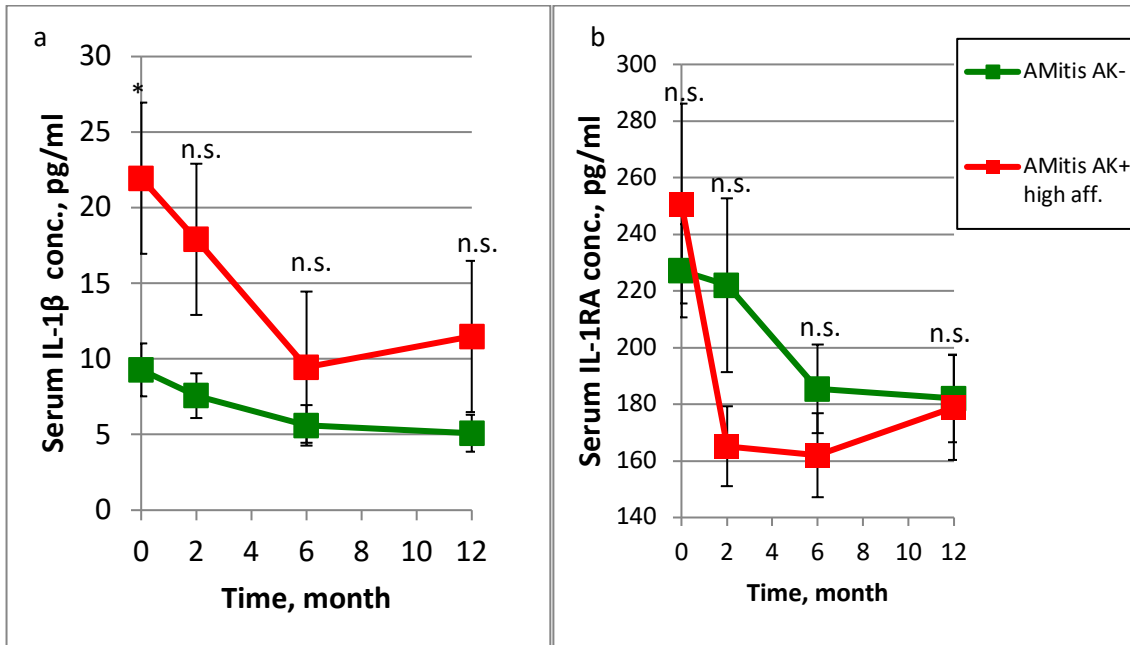


Abbildung 17: Verlauf der IL-1 β und IL-1RA-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; *p<0,05; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IL-1 β -Serumkonzentration (b) IL-1RA-Serumkonzentration

Abb. 17a zeigt initial einen statistisch signifikant erhöhten IL-1 β -Serumspiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber β_1 -AAk-negativen Patienten. Beide Gruppen weisen im Verlauf sinkende, bei β_1 -AAk-positiven Patienten jedoch konstant (allerdings nicht signifikant) höhere, IL-1 β -Spiegel auf. Höhere IL-1 β -Konzentrationen scheinen die Ausbildung einer Autoimmunität zu begünstigen und so indirekt durch Persistenz eines inflammatorischen Milieus zu einer fehlenden Erholung der LVEF beizutragen.

In Abb. 17b sieht man initial leicht erhöhte IL-1RA-Serumspiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk, im Verlauf über 12 Monate zeigen sich jedoch keine statistisch signifikanten Unterschiede gegenüber β_1 -AAk-negativen AMitis-Patienten, so dass IL-1RA vermutlich keinen großen Einfluss auf die Entwicklung oder Nicht-Entwicklung von β_1 -AAk hat.

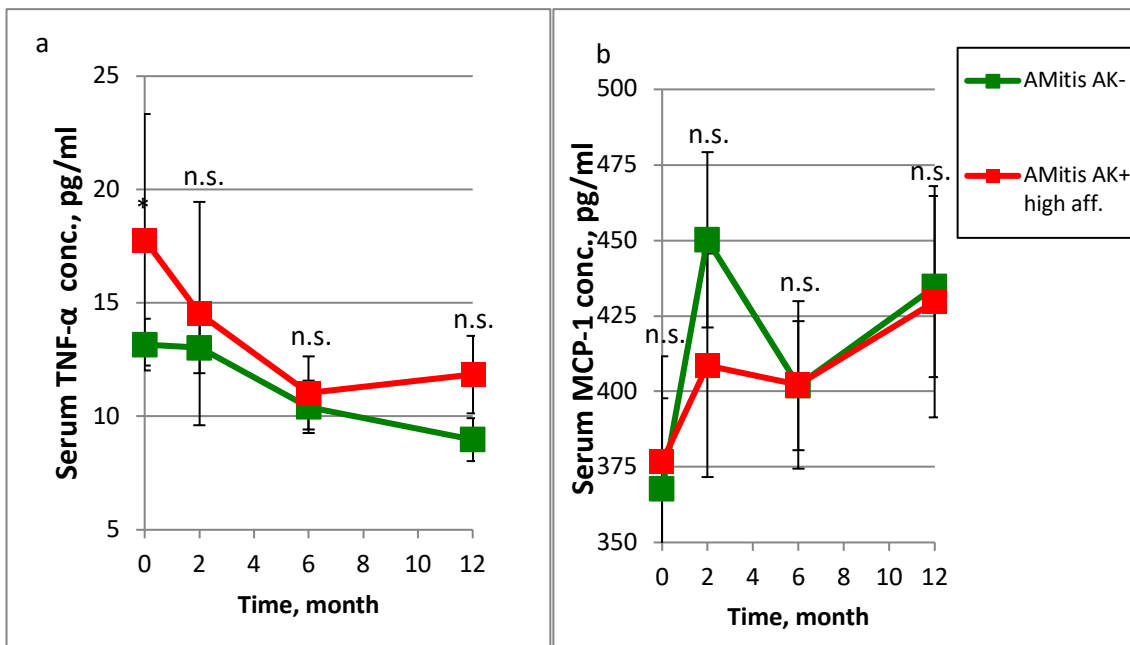


Abbildung 18: Verlauf der TNF- α - und MCP-1-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; *p<0,05; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) TNF- α -Serumkonzentration (b) MCP-1-Serumkonzentration

Abb. 18a zeigt initial (Baseline) statistisch signifikant erhöhte TNF- α -Serumspiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber AAK-negativen Patienten. Bei beiden Patientengruppen sinkt die Konzentration dann allerdings im Verlauf über 12 Monate, wobei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk stets etwas (nicht signifikant) höhere TNF- α -Serumspiegel aufweisen. Das proinflammatorische Zytokin könnte wohl insbesondere initial in geringem Maße die Ausbildung von β_1 -AAk begünstigen.

Abb. 18b zeigt eine im Trend statistisch nicht signifikant erhöhte MCP-1-Konzentration bei β_1 -AAk-negativen AMitis-Patienten. Im Verlauf steigen die MCP-1 Spiegel in beiden Gruppen leicht an, eine Rolle bei der Ausbildung einer Autoimmunität scheint MCP-1 jedoch nicht zu spielen.

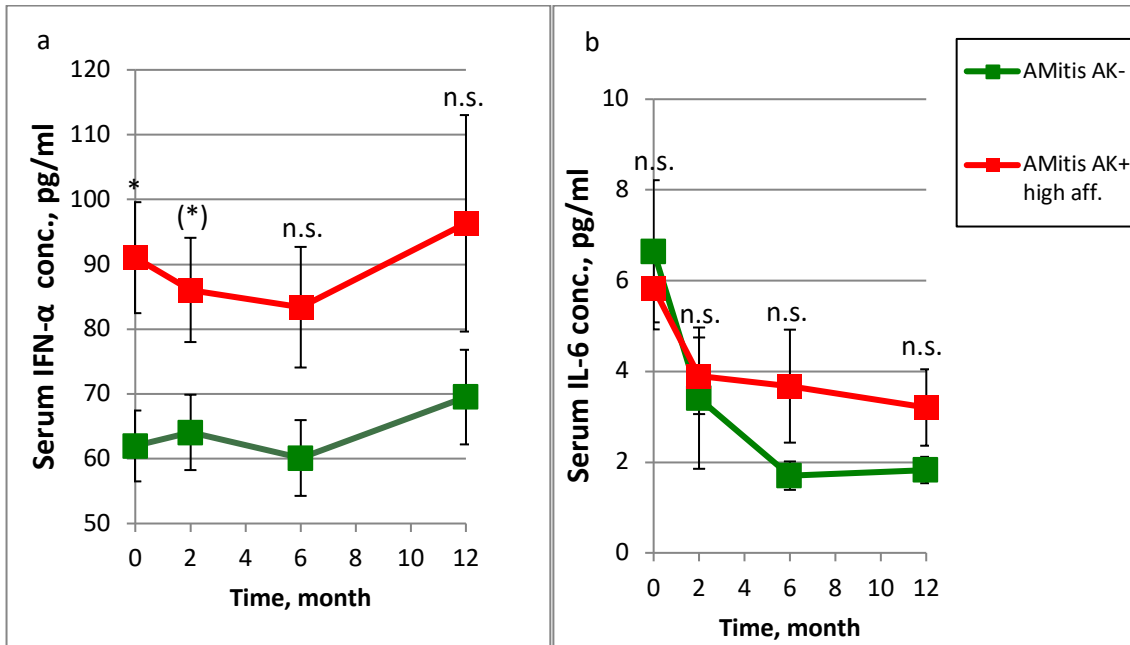


Abbildung 19: Verlauf der IFN- α - und IL-6-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; (*)p<0,1, *p<0,05; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IFN- α -Serumkonzentration (b) IL-6-Serumkonzentration

In Abb. 19a sieht man in den ersten Monaten statistisch signifikant erhöhte IFN- α -Serumspiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber β_1 -AAk-negativen Patienten. In beiden Gruppen steigen die Spiegel innerhalb von 12 Monaten leicht über das Ausgangsniveau bei Baseline an. Das nur unter bestimmten Rahmenbedingungen auch antiinflammatorisch wirksame Zytokin IFN- α kann jedoch die Entwicklung einer herz- bzw. β_1 -AR-gerichteten Autoimmunreaktion offensichtlich nicht verhindern; es scheint die geballten Effekte der rein proinflammatorischen Zytokine nicht ausgleichen zu können.

Abb. 19b zeigt im Verlauf über 12 Monate konstant (aber statistisch nicht signifikant) leicht erhöhte IL-6 Serumspiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk (mit Ausnahme der Baseline). Das proinflammatorische Zytokin IL-6 könnte also durchaus (wenn auch in geringem Umfang) die Ausbildung und den Erhalt einer gegen den β_1 -AR gerichteten Autoimmunreaktion begünstigen.

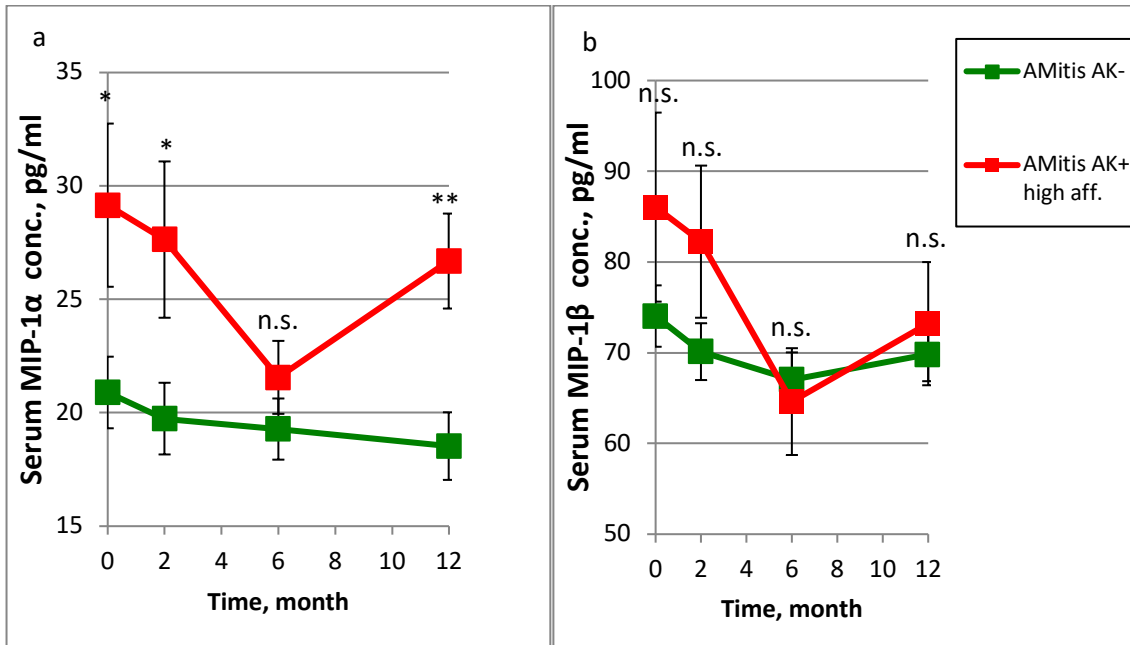


Abbildung 20: Verlauf der MIP-1α- und MIP-1β-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; *p<0,05, **p<0,01; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten ± SEM; (a) MIP-1α-Serumkonzentration (b) MIP-1β-Serumkonzentration

Abb. 20a zeigt statistisch signifikant erhöhte Serumspiegel von MIP-1α bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β₁-AAk gegenüber AAK-negativen Patienten. Bei beiden Gruppen nehmen die Konzentrationen im Verlauf über 12 Monate zwar langsam ab, bleiben bei β₁-AAk-positiven AMitis-Patienten jedoch stets über den Serumspiegeln von Patienten, die keine β₁-AAk entwickelten. Unter anderem durch die Stimulation weiterer proinflammatorischer Zytokine, wie etwa TNF-α, begünstigen erhöhte MIP-1α Serumspiegel vermutlich eine Entwicklung von β₁-AAk.

Abb. 20b zeigt den Verlauf von MIP-1β Serumspiegeln bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β₁-AAk gegenüber AAK-negativen Patienten. Während in den ersten 3 Monaten die Spiegel von Patienten mit hochaffinen β₁-AAk noch gering (aber nicht signifikant) über den Spiegeln von AAK-negativen Patienten lagen, gleichen sich die Konzentrationen nach 6 und 12 Monaten fast vollständig an. MIP-1β scheint also im Gegensatz zu MIP-1α bezüglich der Entwicklung einer Autoimmunität nicht relevant zu sein.

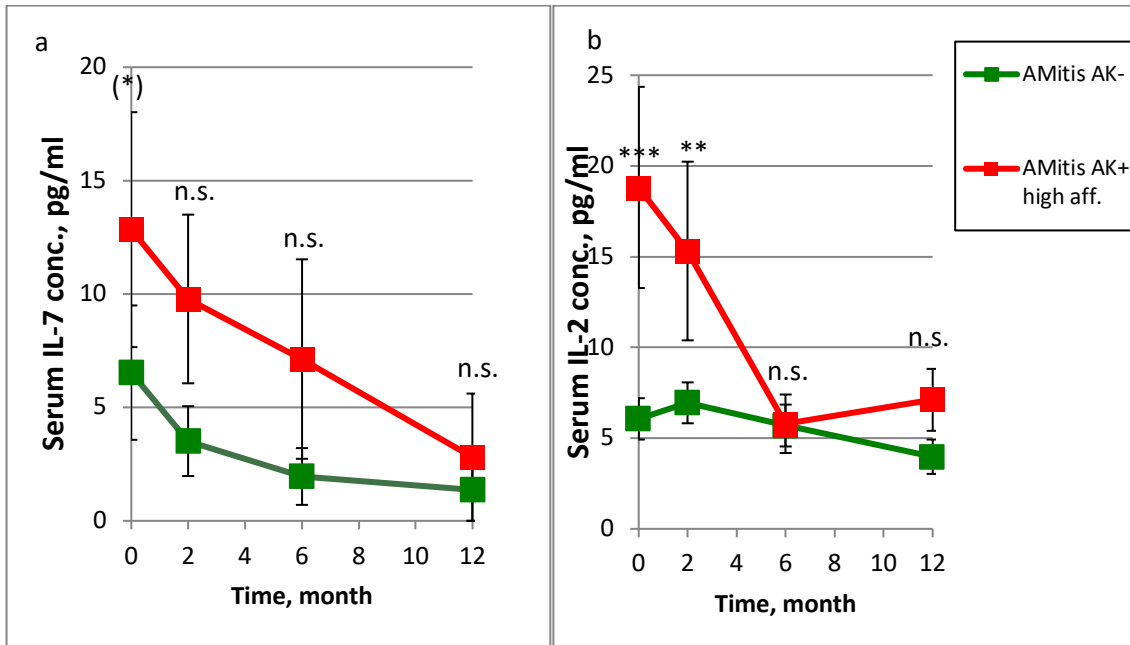


Abbildung 21: Verlauf der IL-7- und IL-2-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; (*)p<0,1, **p<0,05, ***p<0,001; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IL-7-Serumkonzentration (b) IL-2-Serumkonzentration

Abb. 21a zeigt – auch im Verlauf über 12 Monate – erhöhte IL-7-Serumspiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber AAK-negativen Patienten. Eine statistische Signifikanz wird jedoch knapp verfehlt. Bei beiden Gruppen sieht man sinkende IL-7 Konzentrationen im Verlauf, die nach 12 Monaten nahezu auf einem Niveau liegen. Erhöhte IL-7-Spiegel könnten die Entwicklung von β_1 -AAk begünstigen und somit indirekt zur fehlenden Erholung der LV-Pumpfunktion bei β_1 -AAk-positiven AMitis-Patienten beitragen.

Hinsichtlich der IL-2-Serumspiegel zeigt Abb. 21b initial und in den ersten Monaten statistisch hochsignifikant erhöhte Werte bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber AAK-negativen Patienten. Die Konzentrationen nähern sich im Verlauf nach 6 und 12 Monaten dann an die Werte von β_1 -AAk-negativen Patienten an und sind nur noch leicht erhöht. Die anfangs sehr hohen IL-2 Serumspiegel begünstigen wahrscheinlich vor allem initial die Ausbildung einer kardialen Autoimmunität. Im weiteren Verlauf scheint IL-2 jedoch nur noch von untergeordneter Bedeutung.

Bei der Entwicklung einer autoimmunen Myokarditis spielen die Zytokine IL-4, IL-5, IL-12, IL-10, IL-13 und IFN- γ eine wesentliche Rolle.

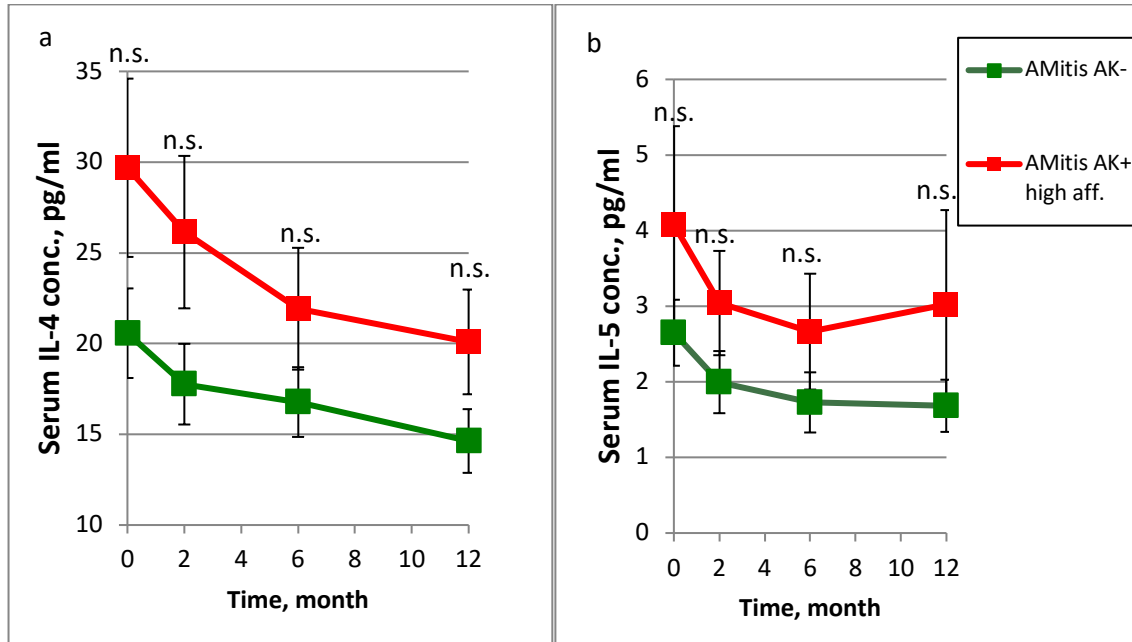


Abbildung 22: Verlauf der IL-4- und IL-5-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK
Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IL-4-Serumkonzentration (b) IL-5-Serumkonzentration

Abb. 22a zeigt konstant (aber statistisch nicht signifikant) erhöhte IL-4 Serumspiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber AAK-negativen Patienten. Bei beiden Patientengruppen sinken die IL-4 Konzentrationen über 12 Monate gleichermaßen. Auch bei IL-5 ist der Serumspiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk konstant, aber statistisch nicht signifikant erhöht (Abb. 22b). Im Verlauf sinken die Konzentrationen bei beiden Gruppen nur leicht.

Obwohl die antiinflammatorischen Zytokine IL-4 und IL-5 bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk immer leicht über denen von β_1 -AAk-negativen Patienten liegen, können sie die Effekte der erhöhten proinflammatorischer Zytokine offensichtlich nicht ausgleichen.

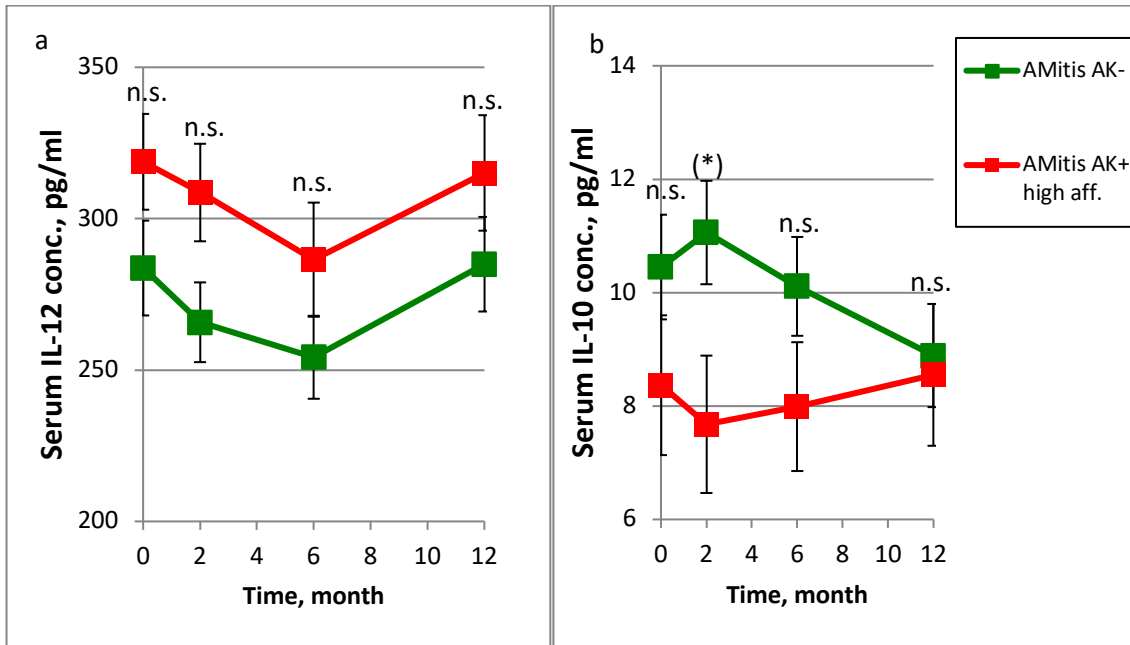


Abbildung 23: Verlauf der IL-12- und IL-10-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; (*)p<0,1; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IL-12-Serumkonzentration (b) IL-10-Serumkonzentration

Abb. 23a zeigt über 12 Monate konstant, aber statistisch nicht signifikant erhöhte IL-12-Serumspiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber AAK-negativen Patienten. Der Spiegel des proinflammatorischen IL-12 verläuft in beiden Gruppen parallel: Bis zum 6. Monat fallen die Konzentrationen ab und steigen nach 12 Monaten wieder auf den Ausgangswert an. Die Entwicklung hochaffiner β_1 -AAk könnte im chronisch inflammatorischen Milieu sowohl direkt durch erhöhte IL-12-Konzentrationen begünstigt werden, als auch indirekt durch eine vermehrte Freisetzung von TNF- α , welches durch IL-12 noch zusätzlich stimuliert wird (siehe auch Abb. 18a, initial signifikante TNF- α -Erhöhung bei β_1 -AAk-positiven AMitis-Patienten).

Ganz anders als beim IL-12 sind die IL-10-Serumspiegel bei β_1 -AAk-negativen AMitis-Patienten vor allem in den ersten Monaten erhöht, wobei eine statistische Signifikanz gegenüber der AAK-positiven Patientengruppe knapp verfehlt wird (Abb. 23b). Die Konzentrationen dieses antiinflammatorischen Zytokins verhalten sich in den beiden Gruppen entgegengesetzt: Bei den AAK-negativen Patienten steigt der Spiegel in den ersten 3 Monaten, um dann nach 12 Monaten auf etwa das gleiche Niveau wie das der AAK-positiven Patienten abzufallen. Die Werte bei den Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk sinken zunächst und steigen in 12 Monaten wieder zum Ausgangswert an. Die erhöhten IL-10-Serumspiegel bei AAK-negativen Patienten haben vermutlich dazu beigetragen,

eine Entwicklung von hochaffinen β_1 -AAk zu unterdrücken, was dann auch zu einer besseren Erholung der LVEF in dieser Patientengruppe führte.

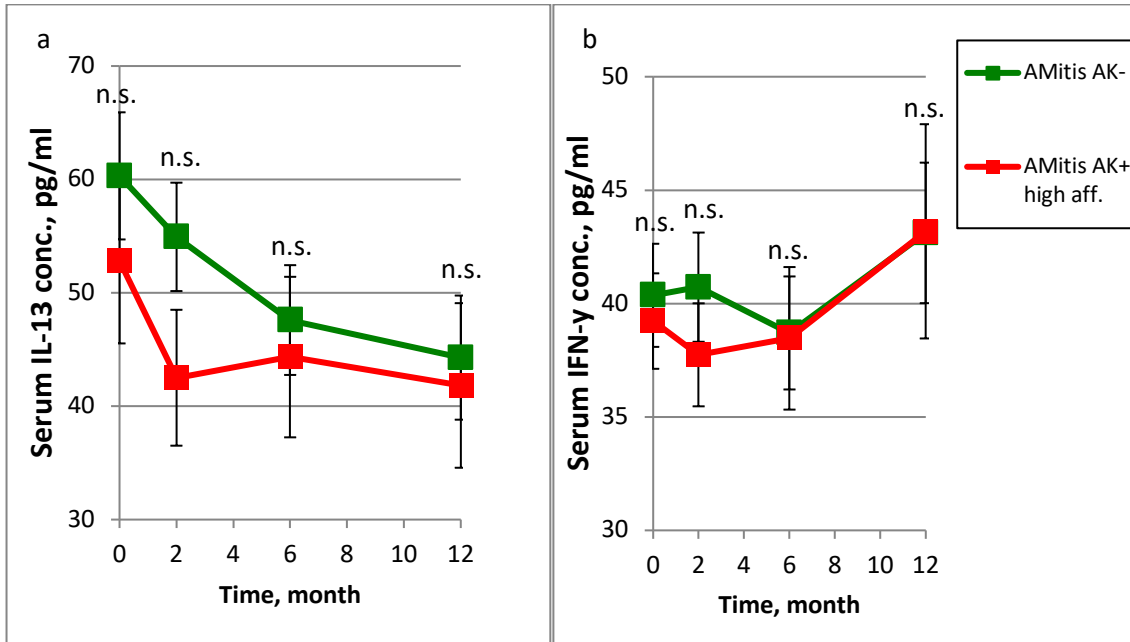


Abbildung 24: Verlauf der IL-13 und IFN- γ -Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IL-13-Serumkonzentration (b) IFN- γ -Serumkonzentration

Abb. 24a zeigt konstant, aber statistisch nicht signifikant erhöhte IL-13-Serumspiegel bei β_1 -AAk-negativen Patienten. Bei beiden Gruppen sinken die IL-13 Konzentrationen im Verlauf über 12 Monate. Die gegenüber der β_1 -AAk-positiven Patientengruppe konstant leicht erhöhten IL-13 Spiegel scheinen bei AAK-negativen Patienten der Entwicklung einer Autoimmunität entgegenzuwirken. Damit im Einklang konnte sich die Pumpfunktion des Herzens bei den AAK-negativen Patienten auch deutlich besser erholen.

Abb. 24b zeigt geringfügig (statistisch nicht signifikant) unterschiedliche IFN- γ -Serumspiegel bei β_1 -AAk-negativen Patienten in den ersten 3 Monaten. Nach 6 und 12 Monaten liegen die Konzentrationen beider Patientengruppen auf einem identischen Niveau. Die in den ersten 2-3 Monaten niedrigeren Konzentrationen bei β_1 -AAk-positiven Patienten könnten auf ein T_H1 -/ T_H2 -Ungleichgewicht schließen lassen, was eine Bildung von β_1 -AAk gerade in den ersten Monaten begünstigt haben könnte.

Die Zytokine IL-17 und GM-CSF begünstigen die Entwicklung einer DCM auf dem Boden einer autoimmunen Myokarditis.

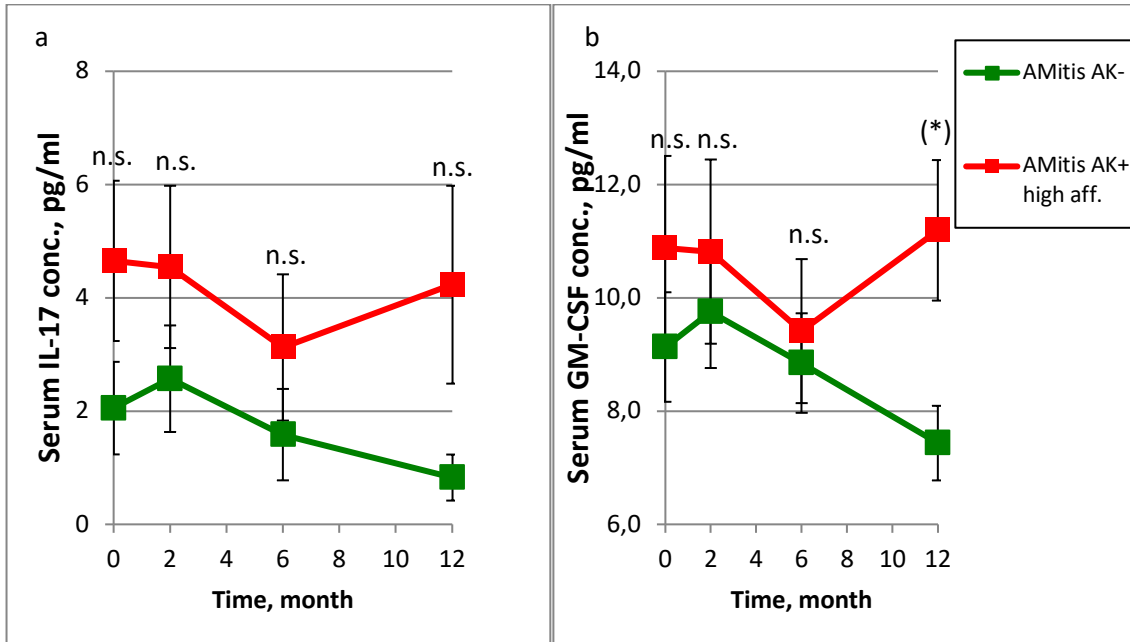


Abbildung 25: Verlauf der IL-17 und GM-CSF-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK

Verlauf (12 Mon.) t=0, 2, 6, 12 Monate; (*) $p < 0,1$; Darstellung der Fehlerbalken entsprechend den jeweiligen Mittelwerten \pm SEM; (a) IL-17-Serumkonzentration (b) GM-CSF-Serumkonzentration

Abb. 25a zeigt konstant, aber statistisch nicht signifikant erhöhte IL-17-Serumspiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber AAK-negativen Patienten. Während die IL-17 Spiegel nach 12 Monaten bei AAK-negativen Patienten im Mittel < 1 pg/ml liegen, steigen sie bei β_1 -AAk-positiven Patienten fast wieder auf den Ausgangswert (> 4 pg/ml) an. Dass IL-17 ein wichtiger Marker für die Entwicklung einer Autoimmunität bzw. β_1 -AAk ist, scheint sich in unserem AMitis-Kollektiv somit tendenziell zu bestätigen.

Auch die GM-CSF-Serumspiegel sind bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber AAK-negativen Patienten (Abb. 25b) erhöht. Eine statistische Signifikanz wird nach 12 Monaten fast erreicht. Bei AAK-positiven Patienten liegt der Serumspiegel (mit Ausnahme eines kleinen Knicks nach 6 Monaten) relativ konstant um 11 pg/ml, während er bei den AAK-negativen Patienten kontinuierlich bis auf Werte unter 8 pg/ml abnimmt. Ähnlich wie das proinflammatorische IL-17 könnten die erhöhten GM-CSF-Konzentrationen in unserem Kollektiv die Entwicklung einer Autoimmunität und die Ausbildung von β_1 -AAk begünstigt haben.

3.5 CTLA-4 Haplotypen und Ausbildung von β_1 -AAk

Einzelnukleotid-Polymorphismen (*Single-Nucleotid-Polymorphism* = SNP) im CTLA-4-Gen können ein höheres Risiko für Autoimmunreaktionen bedingen.

Die Häufigkeiten der Allele des SNP +49G/A verteilen sich in unserem Kollektiv folgendermaßen:

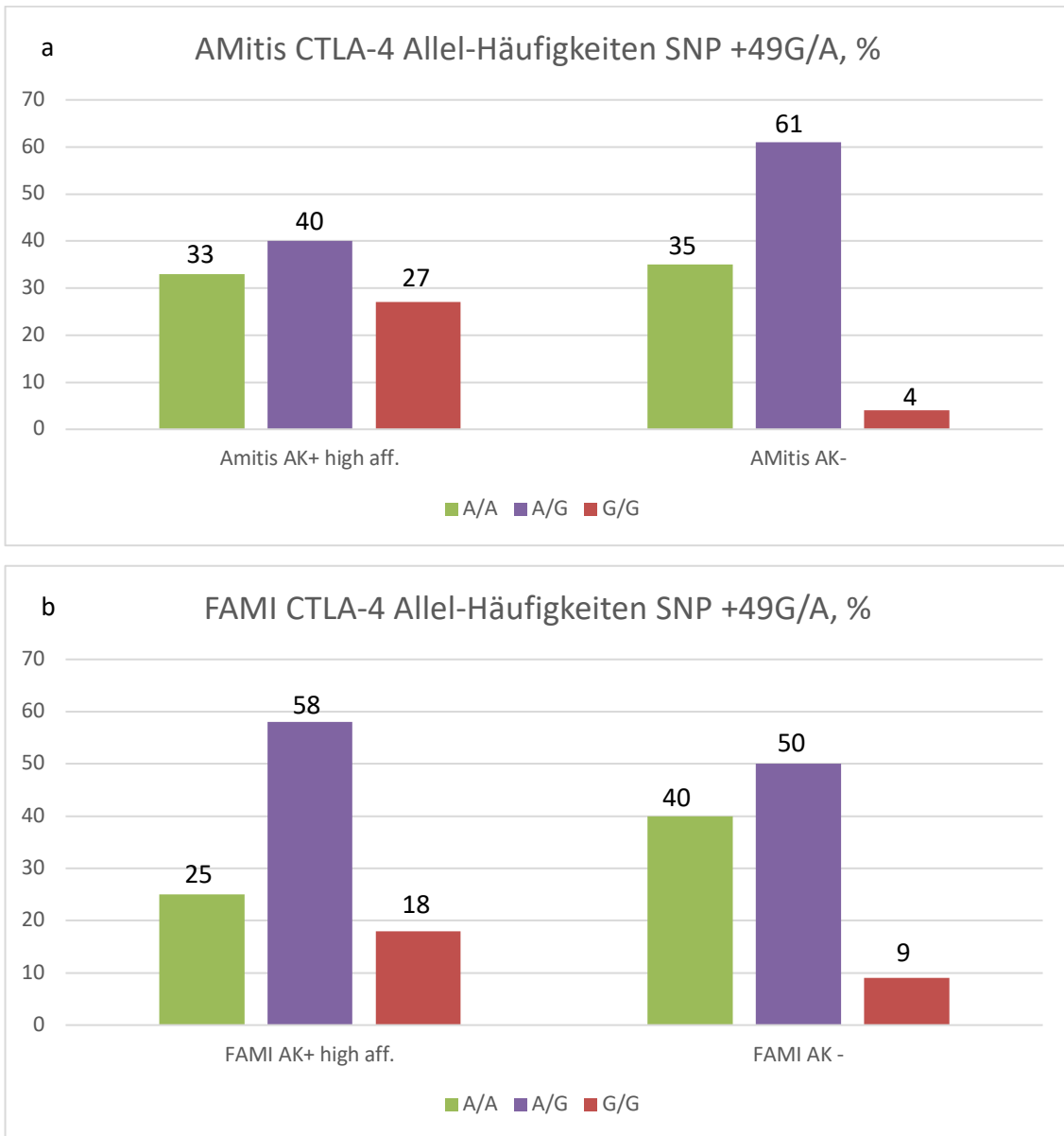


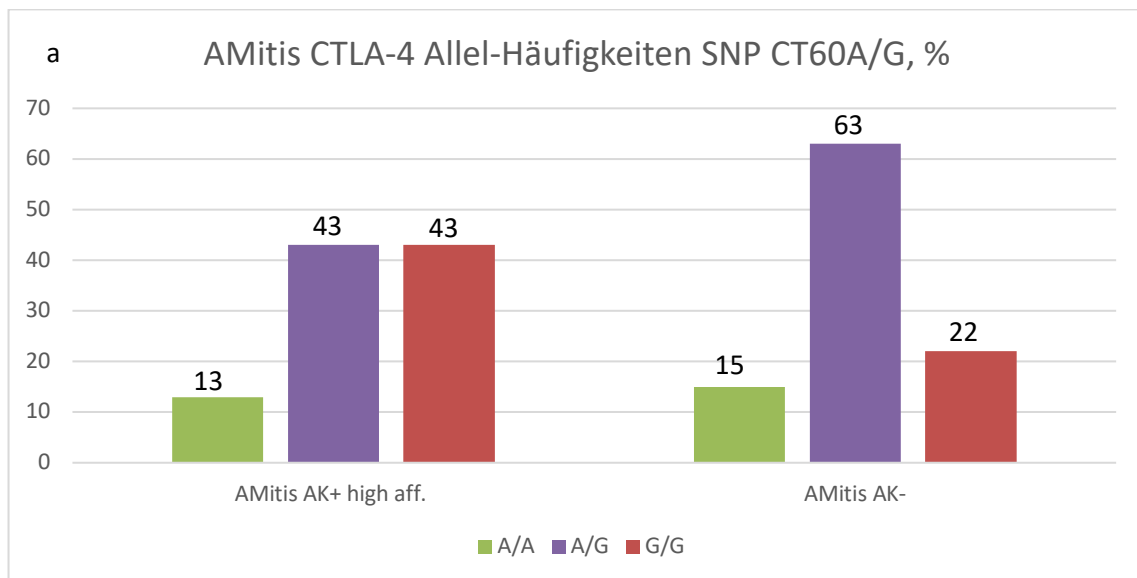
Abbildung 26: **Untersuchungs-Ergebnisse der CTLA-4 Allel-Häufigkeiten bei Vorliegen des SNP +49G/A**

(a) bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber Patienten mit negativem AA-Status; (b) bei FAMI-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber Patienten mit negativem AA-Status

In Abb. 26a und b sieht man ein erhöhtes Vorkommen des G/G-Allels des SNP +49G/A bei AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk im Vergleich zu AK-negativen AMitis- und FAMI-Patienten. (AMitis **AAk+** vs. AAk- **27%** : 4%; FAMI **AAk+** vs. AAk- **18%** : 9%) Dieses Allel soll die Entwicklung einer Autoimmunität begünstigen. Das Allel A/A dagegen könnte eine protektive Wirkung bei FAMI- und AMitis-Patienten aufweisen, also das Risiko für die Ausbildung von Autoimmunphänomenen vermindern. Es ist bei der Gruppe der AAk-negativen AMitis- und FAMI-Patienten etwas stärker ausgeprägt (AMitis **AAk-** vs. AAk+ **35%** : 33%; FAMI **AAk-** vs. AAk+ **40%** : 25%).

Die Verteilung der Häufigkeiten des Allels A/G beim AMitis- und FAMI-Kollektiv lassen jedoch keine Rückschlüsse auf die Entwicklung von β_1 -AAk zu; bei AMitis-Patienten ist das Allel A/G bei den AK-negativen Patienten erhöht, während es bei FAMI-Patienten bei der AK-positiven Gruppe etwas erhöht ist (AMitis AAk+ vs. **AAk-** 40% : **61%**; FAMI **AAk+** vs. AAk- **58%** : 50%).

Die Häufigkeit der verschiedenen Allele des SNP CT60A/G in unserem Kollektiv zeigten sich wie folgt:



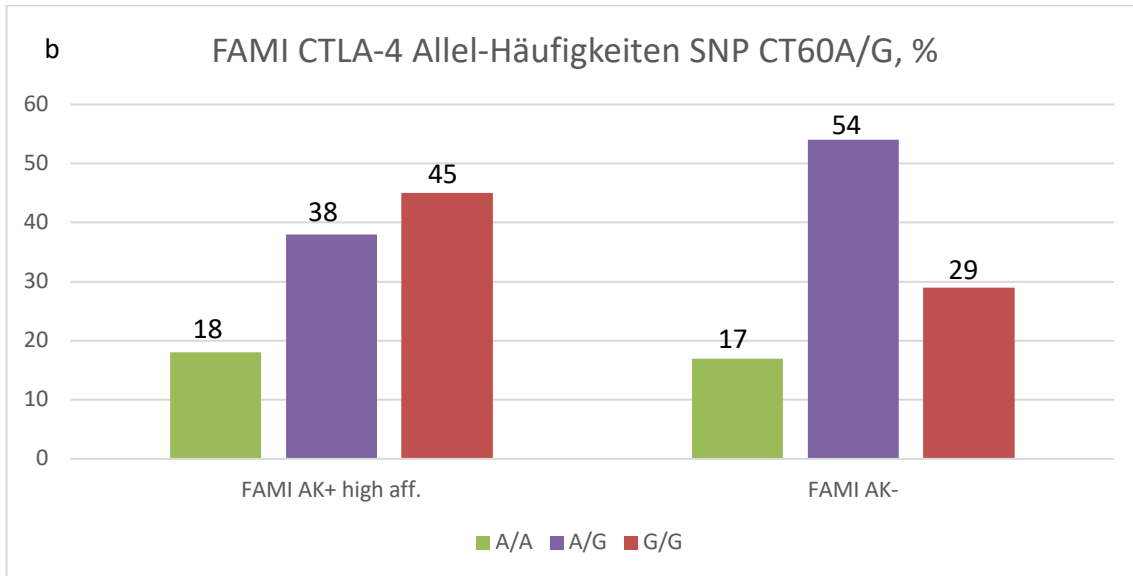


Abbildung 27: **Untersuchungs-Ergebnisse der CTLA-4 Allel-Häufigkeiten bei Vorliegen des SNP CT60A/G**

(a) bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber Patienten mit negativem AA-Status; (b) bei FAMI-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber Patienten mit negativem AA-Status

Betrachtet man in Abb. 27a und b die Verteilung der Allele des SNP CT60A/G, lässt sich ein gehäuftes Vorliegen des Allels G/G bei AMitis- (AMitis **AAk+** vs. AAK- **43%** : 22%) und FAMI-Patienten (FAMI **AAk+** vs. AAK- **45%** : 29%) mit hochaffinen β_1 -AAk nachweisen. Dies deutet bei Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk auf eine Prädisposition für die Ausbildung einer Autoimmunität hin. Das Allel A/G liegt beim AAK-negativen AMitis- (AMitis **AAk-** vs. AAK+ **63%** : 43%) und FAMI-Kollektiv (FAMI **AAk-** vs. AAK+ **54%** : 38%) vermehrt vor und könnte als protektive Allel-Kombination vor einer Ausbildung von Autoimmunphänomenen bzw. Ausbildung von AAK schützen. Die Häufigkeit des Allels A/A unterscheidet sich dagegen bei den untersuchten Kollektiven nicht maßgeblich und scheint vermutlich keinen Einfluss auf die Bildung von β_1 -AAk zu haben (AMitis AAK+ vs. **AAk-** 13% : **15%**; FAMI **AAk+** vs. AAK- **18%** : 17%).

4. Diskussion

4.1 Prävalenz/Ausbildung von β_1 -AAk und Verlauf der LV-Pumpfunktion

Die Ausbildung von β_1 -AAk scheint sich bei FAMI-Patienten nicht entscheidend auf die Entwicklung der LV-Pumpfunktion auszuwirken: Alle drei FAMI-Patientengruppen (AK-negativ, niedrig affine β_1 -AAk und hochaffine β_1 -AAk) weisen einen ähnlichen Verlauf ihrer LVEF auf und erholen sich hinsichtlich ihrer Pumpfunktion schon nach wenigen Monaten (Abb. 4b). Im Gegensatz dazu sieht man eine eindeutige Reduktion der LVEF bei AMI-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk im Vergleich zu Patienten mit negativem β_1 -AAk-Status oder niedrigaffinen β_1 -AAk (Abb. 4a); die beiden letztgenannten Gruppen unterscheiden sich nicht signifikant in der Entwicklung bzw. Erholung ihrer LVEF. Generell zeigten alle drei FAMI-Gruppen im Verlauf über 12 Monate eine bessere Erholung der kardialen Pumpfunktion als die AMI-Gruppe mit hochaffinen β_1 -AAk.

Darüber hinaus sind Unterschiede bei FAMI-Patienten in Hinsicht auf die Entwicklung der LVEF in Abhängigkeit von der Schwere der Myokardschädigung zu sehen: Bei einer großen Myokardschädigung (Surrogat: hoher CK > 1000 U/l) war die LVEF erwartungsgemäß stärker reduziert als bei einem kleineren Myokardinfarkt (CK < 1000 U/l), während die Entwicklung der LVEF weitgehend unabhängig vom β_1 -AAk-Status zu sein schien (Abb. 5).

Im Verlauf hatten die Patienten der Gruppe „AK+ high aff. high CK“ die schlechteste LVEF, während die Gruppe „AK- low CK“ die besten Werte aufwies. Generell scheint aber die Höhe des CK-Wertes für die Prognose von FAMI-Patienten relevanter zu sein als die Entwicklung hochaffiner β_1 -AAk. Aufgrund eines „großflächigen“ Untergangs von Kardiomyozyten infolge eines größeren Infarkts (labordiagnostisches Surrogat CK > 1000 U/l) kommt es zu einer stärkeren Einschränkung der Pumpfunktion des Herzens. Bei einer kleinflächigeren Nekrose ist die LVEF dagegen nicht so stark beeinträchtigt, da das verbliebene gesunde Myokard den Pumpverlust der nekrotischen Areale besser kompensieren kann.

4.2 Zytokinprofile im Vergleich zwischen AMitis/FAMI und Grad der Immunaktivierung und Ausbildung von β_1 -AAk

Es scheint, dass die LVEF bei FAMI-Patienten generell durch ein Vorliegen von niedrig/hochaffinen β_1 -AAk offensichtlich nicht beeinflusst wird und bei AMitis-Patienten lediglich die hochaffinen β_1 -AAk für eine Verschlechterung der Pumpfunktion von Bedeutung zu sein scheinen. Deshalb erfolgte im Rahmen der vorliegenden Arbeit nur ein Vergleich der Zytokinprofile bei FAMI- und AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk. Anzunehmen wäre, dass bei den AMitis-Patienten im Vergleich zu Infarkt-Patienten eine erhöhte Konzentration an proinflammatorischen Zytokinen (wie z.B. IL-1 β , IL-2, IL-17, IFN- γ , TNF- α) und eine niedrigere Konzentration von antiinflammatorischen Zytokinen (z.B. IL-4, IL-10, IL-13) die Ausbildung hochaffiner β_1 -AAk begünstigt haben könnte.

Betrachtet man die proinflammatorischen Zytokine IL-1 β , IL-2, IL-7, IL-12, IL-17, IFN- γ und GM-CSF, ist in unserem AMitis-Kollektiv in der Tat eine statistisch signifikant erhöhte Serumkonzentration (mit Ausnahme von IL-1 β und GM-CSF) festzustellen. Dies entspricht auch den Ergebnissen anderer Studien: Hier wurden bei Myokarditis-Patienten erhöhte Spiegel an IL-1 β , IL-2, TNF- α und GM-CSF festgestellt.^[99-101]

In anderen Untersuchungen fanden sich in Folge eines kardiovaskulären Ereignisses erhöhte Werte an IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-4, IL-6, TNF- α , MIP-1 α , MIP-1 β , MCP-1 und IFN- γ , während IL-12 vermindert war. Ein besonderer Fokus lag hierbei auf den Zytokinen TNF- α , IL-1 β , IL-1RA, IL-2, IL-6, IL-10 und MCP-1, da diese mit einer schlechteren Prognose von Herzerkrankungen einhergingen.^[5, 12, 16, 89, 109, 136, 165, 168]

Unsere Ergebnisse stimmen damit nur teilweise überein. Eine verminderte Erholung der LVEF in Gegenwart hochaffiner β_1 -AAk und damit vermutlich schlechteren Prognose lässt sich in unserem AMitis-Kollektiv mit erhöhten Werten der **proinflammatorischen** Zytokine IL-1 β , GM-CSF, MIP-1 α , IFN- γ , IL-12, IL-2, IL-7 und IL-17 in Verbindung bringen (siehe Abb. 6a, Abb. 7a, Abb. 9a, Abb. 11 a und b, Abb. 12, Abb. 14a, Abb. 15). Dagegen scheinen IL-1RA und MCP-1 (siehe Abb. 6b, Abb. 7b) protektiv zu wirken, während IL-6, TNF- α und MIP-1 β (siehe Abb. 8 a und b, Abb. 9b) vermutlich keinen Einfluss auf die Entstehung von β_1 -AAk haben.

Insbesondere das proinflammatorische Zytokin IL-1 β wurde bei AMitis-Patienten schon initial (t=0, Baseline) verstärkt sezerniert (Abb. 6a).

Bei den AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk scheint der signifikant erhöhte IL-17-Serumspiegel eine (statistisch nicht signifikante) GM-CSF-Produktion zu induzieren und damit die proinflammatorische Situation zu perpetuieren (siehe Abb. 7a, Abb. 15).

Ebenfalls verstärkt sezerniert wurden bei AMitis-Patienten die proinflammatorischen Zytokine MIP-1 α , IFN- γ , IL-12, IL-2 und IL-7 (siehe Abb. 9a, Abb. 11 a und b, Abb. 12, Abb. 14a; mit Ausnahme von MIP-1 α statistisch signifikant). Da die Expression von IFN- γ durch IL-12 induziert wird, ist hier von einer synergistischen Wirkung auszugehen; Durch eine vermehrte Aktivierung von T_H1-Zellen durch IFN- γ könnte die Ausbildung von β_1 -AAk bei AMitis-Patienten begünstigt worden sein.

IL-6, TNF- α und MIP-1 β (siehe Abb. 8 a und b, Abb. 9b) wurden bei AMitis- und FAMI-Patienten in etwa gleichem Umfang sezerniert. Diese Zytokine haben vermutlich keinen Einfluss auf die Produktion von β_1 -AAk. Die initial sehr stark erhöhte Konzentration von IL-6 (Abb. 8a) ist am ehesten durch eine starke initiale Inflammation infolge der akuten Myokardnekrose zu erklären. Hierbei werden im Rahmen der unspezifischen Immunantwort unmittelbar nach dem Myokardinfarkt verstärkt proinflammatorische Zytokine (v.a. IL-2 und IL-6) freigesetzt, deren Spiegel allerdings nur initial stark erhöht sind und dann wieder abfallen.^[105, 154]

Auch die Serumlevel an MCP-1 waren bei FAMI-Patienten im Beobachtungszeitraum durchgängig, nach 2-3 Monaten sogar signifikant, erhöht (Abb. 7b). MCP-1 aktiviert Monozyten und Makrophagen, die gerade in der frühen postinfarkt-Phase wichtig für die Phagozytose des untergangenen Gewebes nach dem Infarkt sind. Ebenso lockt das Zytokin Fibroblasten an, die dann mit der Narbenbildung zum „Ersatz“ des nekrotischen Gewebes beitragen. Erhöhte MCP-1 Werte waren bei unseren FAMI-Patienten vermutlich durch Induktion des kardialen Heilungsprozesses („cardiac healing“) mit einer besseren Erholung der LV-Pumpfunktion verbunden.

Neben den pro- waren auch die **antiinflammatorischen** Zytokine IL-4, IL-5 sowie das unter bestimmten Rahmenbedingungen ebenfalls antiinflammatorisch wirksame IFN- α bei unseren AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk erhöht (siehe Abb. 10, Abb. 13 a und b); dennoch konnten sie im Rahmen der generalisierten inflammatorischen Reaktion den Effekt der hohen Konzentrationen von proinflammatorischen Zytokinen, die zeitgleich freigesetzt wurden, offensichtlich nicht ausgleichen und somit auch eine Ausbildung von β_1 -AAk im Rahmen der kardialen Inflammation nicht verhindern.

Die IL-1RA Spiegel waren in der FAMI-Gruppe im Beobachtungszeitraum konstant höher als in der AMitis-Gruppe, was auf gewisse protektive Eigenschaften dieses kompetitiven Liganden von IL-1 β schließen lässt, da er nach erfolgter Bindung die proinflammatorischen Effekte von IL-1 β blockiert (Abb. 6b).

Im Einklang damit war die Verminderung der antiinflammatorischen Zytokine IL-13 und IL-10 bei AMitis-Patienten mit einer fehlenden Erholung der Herzpumpfunktion verbunden (Abb. 14b, Abb. 16). Beide Zytokine scheinen wohl starke protektive Eigenschaften aufzuweisen, denn bei FAMI-Patienten konnten die im Verlauf konstant erhöhten Konzentrationen von IL-13 und IL-10 offensichtlich eine erhöhte Ausschüttung der proinflammatorischen Zytokine TNF- α , MIP-1 α , IL-1 β , IL-12 und IFN- γ sowie eine gesteigerte Freisetzung von IL-1RA weitgehend verhindern.

Eine Erklärung für die schlechtere Erholung der LV-Pumpfunktion und zugleich vermehrten Autoantikörperbildung bei AMitis- gegenüber FAMI-Patienten könnte darin bestehen, dass dabei zu einem gewissen Teil auch sogenannte „kreuzreagierende Antikörper“ gebildet wurden, also Antikörper, die primär gegen die Myokarditis auslösenden Bakterien oder Viren gerichtet waren, dann aber mit anderen myokardialen Antigenen interagieren: Manche Viren weisen Ähnlichkeiten in Teilen ihrer RNA-Sequenz mit Herzproteinen auf, wie z.B. mit dem Adenin-Nukleotid-Translokator ANT, der schweren Kette des Myosins oder dem β_1 -Rezeptor. Im Falle einer sogenannten molekularen Mimikry zwischen dem Virus und bestimmten Rezeptorabschnitten des β_1 -Rezeptors könnten sich dementsprechend kreuzreagierende funktionelle Antikörper bei AMitis-Patienten gebildet haben, die eigentlich zur Abwehr der Erreger gedacht waren, aber aufgrund einer Strukturähnlichkeit des Antigens fälschlicherweise auch an den β_1 -Rezeptor gebunden haben und diesen so z.B. aktiviert haben. Da ein Myokardinfarkt ohne Beteiligung von Bakterien oder Viren abläuft, werden hierbei keine Antikörper gegen Erreger gebildet, so dass daraus kreuzreagierende funktionelle Antikörper als Kreuzreaktion hervorgehen könnten. Eine derartige Hypothese würde in unserem ETICS-Kollektiv durch die erhöhte Inzidenz hochaffiner β_1 -AAk bei AMitis-Patienten im Vergleich zu FAMI-Patienten gestützt werden.

Da der Verlauf der LVEF bei allen FAMI-Patienten (AK negativ, AK+ high affinity, AK+ low affinity), sowie auch bei AMitis-Patienten ohne und solche mit niedrigaffinen β_1 -AAk, in etwa ähnlich war, lag ein weiterer Fokus der vorliegenden Arbeit dann auf einem direkten Vergleich von AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk gegenüber AAK-negativen AMitis-Patienten, um herauszufinden, welche Zytokine bei einer Myokarditis möglicherweise eine klinisch relevante Rolle haben bzw. welche Zytokine in diesem inflammatorischen Milieu eine Autoantikörperbildung begünstigen konnten.

Anzunehmen wäre eine höhere Expression von proinflammatorischen Zytokinen und eine verminderte Ausschüttung von antiinflammatorischen Zytokinen bei der

Patientengruppe mit hochaffinen β_1 -AAk. Tatsächlich konnten bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk die **proinflammatorischen** Zytokine IL-1 β , TNF- α , IL-6, MIP-1 α , IL-7, IL-2, IL-12, IL-17 und GM-SCF über den gesamten Beobachtungszeitraum von 12 Monaten in erhöhter Konzentration nachgewiesen werden (siehe Abb. 17a, 18a, 19b, 20a, 21 a und b, 23a, 25 a und b), was wegen der chronischen Inflammation wahrscheinlich zu einer schlechteren Erholung der LVEF führte (und somit vermutlich auch zu einer schlechteren langfristigen Prognose dieser Patienten).

Insbesondere die IL-1 β -Spiegel waren bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk signifikant erhöht (Abb. 17a). Dies war vermutlich induziert durch den ebenfalls fast durchgängig signifikant erhöhten Serumspiegel von MIP-1 α (Abb. 20a).

Neben MIP-1 α waren auch TNF- α (Abb. 18a) und IL-2 (Abb. 21b) bei AMitis-Patienten, die hochaffine β_1 -AAk entwickelt haben, vor allem in der Initialphase signifikant erhöht, wobei die erhöhten Serumspiegel von MIP-1 α und auch IL-12 letztlich die Produktion von TNF- α getriggert haben könnten.

Konstant erhöht waren auch die GM-CSF-Spiegel bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk und verfehlten am 12-Monats-Follow-up die Signifikanz nur knapp (Abb. 25b).

GM-CSF begünstigt durch die Proliferation von T_H17-Zellen die Entwicklung einer Autoimmunität. Dieser Vorgang wird wiederum durch IL-6 (Abb. 19b) getriggert, was bei AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk ab dem 2-Monats-Follow-up ebenfalls leicht erhöht war.

IFN- γ war bei Baseline und in den ersten Beobachtungsmonaten in der Gruppe der β_1 -AAk-negativen Patienten höher als bei den AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk (Abb. 24b). Im Verlauf nach 6 und 12 Monaten nähern sich beide Gruppen dann aber an. Die verringerte initiale IFN- γ -Produktion bei β_1 -AAk-positiven AMitis-Patienten könnte auf einen relativen Mangel an T_H1-Zellen und einen Überschuss an T_H2-Zellen hinweisen, was wiederum zu einer Aktivierung von B-Zellen und einer Begünstigung der Produktion von Autoantikörpern durch T_H2-Zellen geführt haben könnte.

Betrachtet man die **antiinflammatorischen** Zytokinprofile am Beispiel IL-4, IL-5 wie auch das unter bestimmten Rahmenbedingungen ebenfalls antiinflammatorisch wirksame IFN- α näher, scheinen diese trotz konstant über 12 Monate leicht erhöhten Spiegel bei β_1 -AAk-positiven AMitis-Patienten keinen wesentlichen protektiven Effekt zu haben (Abb. 19a, Abb. 22 a und b). Dies lässt darauf schließen, dass diese Zytokine bei Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk die Effekte der vielen proinflammatorischen Zytokine nicht kompensieren können.

Auch IL-1RA scheint (mit Ausnahme der Baseline) vermehrt bei AAK-negativen Patienten freigesetzt zu werden, vermutlich getriggert durch die gesteigerte Expression der antiinflammatorischen Zytokine IL-10 und IL-13 bei diesen Patienten und so einer Ausbildung von β_1 -AAk entgegenzuwirken (siehe Abb. 17b, Abb. 23b, Abb. 24a).

IL-10 und IL-13 sind bei den AAK-negativen AMitis-Patienten vor allem initial stark erhöht (siehe Abb. 23b, Abb. 24a). Sie entfalten ihre protektive antiinflammatorische Wirkung durch Hemmung der Produktion von IL-1 β , TNF- α , MIP-1 α und IL-12 (siehe Abb. 17a, 18a, 20a, 23a) und stimulieren gleichzeitig die Produktion von IL-1RA (Abb. 17b). Durch Inhibition einer Fibrose verhindert IL-10 das LV-Remodeling und trägt so vermutlich zu einer Verbesserung der LV-Pumpfunktion bei.^[72]

Bei unseren AMitis-Patienten scheinen IL-10 und IL-13 wichtige Mediatoren zur Verhinderung einer Autoimmunität darzustellen und so indirekt zu einer besseren Erholung der kardialen LV-Pumpfunktion beizutragen.

4.3 CTLA-4 Haplotypen und Ausbildung von β_1 -AAk

Einzelnukleotid-Polymorphismen (*Single-Nucleotid-Polymorphism* = SNP) im CTLA-4-Gen und damit eine Veränderung der Aminosäuresequenz von CLTA4 kann die Ausprägung von diversen Autoimmunerkrankungen begünstigen. Der SNP +49G/A bedingt unter anderem die Entwicklung von Diabetes mellitus Typ 1^[6, 39, 116], die autoimmune Thyreoiditis^[38, 77, 117], Zöliakie^[37], Morbus Basedow^[4, 39, 184], Morbus Addison^[38, 75], den systemischer Lupus erythematoses^[10], die rheumatoide Arthritis^[86, 167] und die primäre progressive multiple Sklerose^[103]. Auch bei AMitis und FAMI begünstigt der SNP +49G/A (rs231775, Thr17Ala) wohl je nach Allel-Kombination die Entwicklung einer Autoimmunität. Insbesondere das Allel G/G scheint zu einer verminderten Bindung der natürlichen Liganden an CTLA-4 zu führen, was dann eine gesteigerte T-Zell-Aktivierung zur Folge hat und damit über T-Zell-vermittelte B-Zell-Expansion ein höheres Risiko für die Bildung von Autoantikörpern birgt.^[102, 137]

In unserer Studie konnte bei AMitis- und FAMI-Patienten bei Vorliegen des Genotyps G/G eine gesteigerte Produktion von β_1 -AAk nachgewiesen werden (AMitis **AAk+** vs. AAK- **27%** : 4%; FAMI **AAk+** vs. AAK- **18%** : 9%). Das Allel A/A dagegen scheint die Bildung von β_1 -AAk zu verhindern. Vor allem bei FAMI-Patienten tritt das Allel A/A bei Patienten mit negativen AAK-Status gehäuft auf, bei AMitis-Patienten zeigt sich eine ähnliche Tendenz (AMitis **AAk-** vs. AAK+ **35%** : 33%; FAMI **AAk-** vs. AAK+ **40%** : 25%). Das Allel A/G lässt keine einheitlichen Rückschlüsse auf dessen mögliche Bedeutung

für eine Entwicklung von β_1 -AAk zu. Im AMitis-Kollektiv tritt dieses Allel bei den AK-negativen Patienten gehäuft auf, während es bei der FAMI-Gruppe bei den β_1 -AAk-positiven Patienten etwas erhöht ist (AMitis AAk+ vs. **AAk-** 40% : **61%**; FAMI **AAk+** vs. AAk- **58%** : 50%; siehe Abb. 26 a und b).

Der SNP CT60A/G (rs3087243, Gly21Ala) begünstigt insbesondere bei Vorliegen des G/G-Allels durch eine verringerte Expression von löslichem CTLA-4 die Ausprägung von Autoimmunerkrankungen und ist mit einem erhöhten Risiko verbunden, einen Diabetes Mellitus Typ 1, eine autoimmune Thyreoiditis^[67], eine rheumatoide Arthritis^[125] oder einen Morbus Basedow^[73] zu entwickeln. Auch in unserer Studie wurden bei Vorliegen des Allels G/G vermehrt hochaffine β_1 -AAk sowohl bei AMitis- aber auch bei FAMI-Patienten nachgewiesen. Konkordant zu Studien bei anderen Autoimmunerkrankungen lässt sich auch in unserem Patienten-Kollektiv das Allel G/G mit der Entwicklung einer Autoimmunität in Verbindung bringen (AMitis **AAk+** vs. AAk- **43%** : 22%; FAMI **AAk+** vs. AAk- **45%** : 29%), was bei betroffenen Patienten zur Bildung von β_1 -AAk und damit zu einer schlechteren Erholung der LV-Pumpfunktion führte. Das Allel A/G kam bei AK-positiven FAMI- und AMitis-Patienten deutlich seltener vor als bei β_1 -AAk-negativen Patienten (AMitis **AAk-** vs. AAk+ **63%** : 43%; FAMI **AAk-** vs. AAk+ **54%** : 38%). Es könnte einen protektiven Einfluss das Risiko einer Ausbildung von Autoantikörpern haben (siehe Abb. 27 a und b). Das Allel A/A hingegen kam bei AAk-positiven und AAk-negativen FAMI- und AMitis-Patienten nahezu gleich häufig vor und scheint das Risiko β_1 -AAk zu entwickeln nicht zu beeinflussen (AMitis AAk+ vs. **AAk-** 13% : **15%**; FAMI **AAk+** vs. AAk- **18%** : 17%).

4.4 Bedeutung der Ergebnisse für zukünftige Diagnostik und Therapie

Da kardiale Erkrankungen zu den häufigsten Todesursachen in der westlichen Welt zählen, aber meist zu spät diagnostiziert und behandelt werden, gilt es die Entwicklung dieser Erkrankungen, v.a. einer progredienten Herzinsuffizienz, zeitnah festzustellen und adäquat zu therapieren.

AMitis-Patienten scheinen, getriggert durch eine erhöhte Expression bestimmter proinflammatorischer Zytokine, häufiger hochaffine β_1 -AAk zu entwickeln. Bei Infarkt-Patienten scheinen hochaffine β_1 -AAk keinen pathophysiologischen Einfluss zu haben.

Um einer Verschlechterung der Prognose bei AMI-Patienten entgegenzuwirken, sollten die betroffenen Patienten zeitnah ermittelt und adäquat behandelt werden, denn eine frühzeitige medikamentöse Intervention wirkt sich positiv auf die LV-Pumpfunktion und somit auch die Prognose aus. So könnte z.B. durch die Unterdrückung einer Entwicklung hochaffiner funktionell aktiver β_1 -AAk oder ihre direkte Blockade evtl. eine Verschlechterung der LV-Pumpfunktion entgegengewirkt werden.

Da derzeitige Studiendaten nahelegen, dass nur stimulatorische β_1 -AAk mit einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität einhergehen, sollte neben der FACS-Methode auch eine funktionelle Detektions-Methode zum Nachweis solcher AAk beim Menschen etabliert werden.^[156]

Eine Herzinsuffizienz und Kardiomyopathie konnten bereits im Tiermodell durch Induktion von β_1 -AAk ausgelöst werden. Im Tiermodell konnten die entstandenen Autoantikörper durch Gabe von Zyklopeptiden abgefangen und unschädlich gemacht werden, was ein weiteres Fortschreiten der „induzierten“ Kardiomyopathie verhinderte.^[18, 20] COR-1 (JNJ-5442840), das zu diesem Zweck entwickelte Zyklopeptid, welches die Oberflächenstruktur von β_1 EC_{II} imitiert, kann stimulierende β_1 -AAk neutralisieren und vermutlich sogar die Anzahl anti- β_1 EC_{II}-AAk produzierender B-Gedächtniszellen reduzieren. Durch Gabe dieses Medikaments konnte im Rattenmodell eine fast vollständige Reversibilität des (induzierten) kardiomyopathischen Phänotyps erzielt werden, während etwa bei einer Therapie mit β_1 -Blockern das Vorschreiten der kardialen Dilatation und der Herzinsuffizienz lediglich verlangsamt wurde.^[20] Weitere Studien zu COR-1 sollten auf Verträglichkeit und Wirksamkeit am Menschen durchgeführt werden, um Patienten mit stimulierenden β_1 -AAk besser behandeln zu können.

Auch der Einsatz von Aptameren ist ein interessanter neuer Ansatz, um die Effekte von anti- β_1 EC_{II}-AAk zu neutralisieren. Bei Aptameren handelt es sich um synthetisch hergestellte Oligonukleotid-Liganden, die mit einer hohen Spezifität an das Zielmolekül binden und dessen Funktion verändern. Das Aptamer 110 wurde entwickelt, um an anti- β_1 EC_{II}-AAk zu binden und diese damit zu neutralisieren. In einer *in-vitro*-Studie konnten so die apoptotischen, zytotoxischen und positiv chronotropen Effekte von β_1 -AAk verhindert werden. Auch zu diesem Medikament müssen für einen möglichen Einsatz am Menschen zunächst noch weitere kontrollierte Studien durchgeführt werden, um die Verträglichkeit und Wirksamkeit von Aptameren sicherzustellen.^[59]

Ein weiterer erfolgversprechender medikamentöser Therapieansatz ist das Medikament Anakinra. Hierbei handelt es sich um die rekombinant hergestellte Form von humanem

IL-1RA (vgl. dazu auch Abb. 17b), welches effektiv die Bindung von IL-1 α und IL-1 β (vgl. dazu auch Abb. 17a) an den Rezeptor verhindert und selbst keine Wirkung auslöst.^[33] Es wird bereits erfolgreich bei anderen autoinflammatorischen Krankheiten wie der rheumatoiden Arthritis und des Still-Syndroms eingesetzt.^[127, 170] Im Tiermodell konnte eine Verringerung der Inflammation im Myokard sowie der Schutz vor einer linksventrikulären Dilatation und einer eingeschränkten LVEF durch Gabe von Anakinra nachgewiesen werden.^[56] In anderen Studien konnte durch den Einsatz von Anakinra die Behandlung einer Myokarditis, Herzinsuffizienz und DCM positiv beeinflusst werden. Es wurde unter Therapie eine Verbesserung der mechanischen Dysfunktion des Myokards im MRT und in der Echokardiographie nachgewiesen.^[26, 32, 33, 169] Eine erste erfolgreiche Anwendung des Medikaments bei einem Patienten mit fulminanter Myokarditis wurde bereits beschrieben. Dieser zeigte innerhalb von 24 Stunden nach der ersten Gabe eine signifikante Verbesserung seines Zustands. Die Inflammation ging stark zurück und die kardiale Kontraktilität wurde verbessert.^[26] Auch bei Patienten mit STEMI (Myokardinfarkt mit ST-Elevation) konnte das linksventrikuläre Remodeling durch Anakinra positiv beeinflusst werden, zudem wurde das Risiko eines Herzversagens reduziert und die systemische Entzündungsreaktion gesenkt.^[1, 2] Es fehlen jedoch noch größere Studien am Menschen, um die Wirksamkeit von Anakinra bei Patienten mit Myokarditis oder Myokardinfarkt nachweisen und mögliche Nebenwirkungen einer Langzeit-Therapie ausschließen zu können.

4.5 Limitationen der Arbeit

Limitationen dieser Arbeit ergaben sich durch mehrere Faktoren. Zum einen erfolgte die Rekrutierung der AMitis-Patienten nur sehr langsam, was unter anderem an den strengen Einschlusskriterien der ETiCS-Studie lag. Zum anderen wurden von einigen Studien-Zentren trotz elektronischem CRF nur unvollständige Patienten-Daten erhoben und nicht die gemäß Protokoll vorgesehenen Bio-Proben gewonnen und übermittelt bzw. zugesandt. Um aussagekräftigere statistische Ergebnisse zu erzielen, müsste ein noch größeres Patientenkollektiv untersucht werden. Die letztlich vollständig auswertbaren Patienten-Kollektive der ETiCS-Studie sind hierfür immer noch zu klein. Zudem wurden die meisten Blutproben eingefroren anstatt direkt analysiert zu werden. Die Dauer der Lagerung im eingefrorenen Zustand unterschied sich enorm: Manche Blutproben wurden vor ihrer Analyse nur für kurze Zeit aufbewahrt, während viele Proben etliche Monate oder sogar einige Jahre bei -80°C eingefroren waren. Dies könnte zu

einer Verfälschung der Werte geführt haben, da insbesondere die Konzentration von Zytokinen mit steigendem Probenalter sinkt. Vor allem die Zytokine IL-1RA, IL-4 und IL-5 sind äußerst instabil, wenn sie eingefroren werden und nach dem Auftauen analysiert werden. Auch IL-7, IL-12, IL-13 und IL-17 zeigten signifikante Konzentrations-Unterschiede abhängig von den Einfrier-Auftau-Zyklen.^[151]

Aufgrund der großen Zeitspanne der Studiendauer (2010 – 2018) konnten außerdem nicht alle Proben zeitgleich getestet werden, was zur Verwendung von unterschiedlichen Chargen der Kits führte. Auch dies könnte einen Einfluss auf die ermittelten Werte gehabt haben.

5. Zusammenfassung

Die häufigste Form der Herzinsuffizienz in Deutschland ist die dilatative Kardiomyopathie, wobei bei ca. 6/100.000 Einwohnern pro Jahr keine eindeutige Ursache erkennbar ist und somit eine idiopathische DCM diagnostiziert wird. Ein Faktor zur Entstehung einer idiopathischen DCM könnten Autoantikörper gegen den β_1 -adrenergen Rezeptor sein. Bei ca. 30% der Patienten, die an einer DCM (Äquivalent in der ETiCS-Studie: erste akute Myokarditis = AMitis) leiden, sowie bei ca. 13% der Patienten, die an einer ischämischen Kardiomyopathie (Äquivalent in der ETiCS-Studie: erster akuter Myokardinfarkt = FAMI) leiden, konnten in älteren Arbeiten β_1 -AAk nachgewiesen werden. Im Rahmen der ETiCS-Studie erfolgte erstmals eine prospektive Beobachtung entsprechender Patientenkollektive über 12 Monate mit Blutentnahme und klinischen Kontrollen zum Zeitpunkt 0 Monate (=Baseline), 2-3 Monate (Follow-Up 1), 6 Monate (FUP2) und 12 Monate (FUP3). Zu diesen Zeitpunkten wurden anhand der gewonnenen Blutproben der β_1 -AAk-Status sowie die immunologischen Marker der FAMI- und AMitis-Patienten bestimmt und mit der kardialen LV-Pumpfunktion korreliert. Zentrales Thema dieser Arbeit war es, Zusammenhänge zwischen der β_1 -AAk-Ausbildung in Abhängigkeit von individuellen Zytokinprofilen und der Entwicklung der LV-Pumpfunktion nach dem jeweiligen kardialen Ereignis zu untersuchen, wobei FAMI- und AMitis-Patienten miteinander verglichen wurden. Darüber hinaus wurde auch der Einfluss der CTLA-4-Haplotypen, also die „genetische“ Suszeptibilität Autoantikörper zu entwickeln, untersucht.

Während bei FAMI-Patienten die Entwicklung von β_1 -AAk keinen Einfluss auf den Verlauf der LV-Pumpfunktion zu haben scheint, wird diese bei AMitis-Patienten durch hochaffine β_1 -AAk im Verlauf stark beeinträchtigt.

Bei FAMI-Patienten konnte nach einer größeren Herzschädigung (CK-Werte >1000 U/l) eine schlechtere Pumpfunktion im Vergleich zu kleineren Myokardinfarkten (CK-Werte <1000 U/l) nachgewiesen werden, unabhängig von β_1 -AAk-Status. Für die Prognose und die Erholung der LV-Pumpfunktion scheint bei FAMI-Patienten folglich die Infarktgröße, aber nicht die Entwicklung von β_1 -AAk wichtig zu sein.

Hinsichtlich der unterschiedlichen Zytokinprofile bei FAMI- und AMitis-Patienten, die hochaffine β_1 -AAk entwickeln, scheinen bestimmte Zytokine die Induktion einer kardialen Autoimmunität zu begünstigen, während andere Zytokine wohl eher protektive immunologische Reaktionen in Gang setzen: Die proinflammatorischen Zytokine IL-1 β ,

IL-2, IL-7, IL-12, IL-17, GM-CSF, MIP-1 α und IFN- γ waren bei β_1 -AAk-positiven AMitis-Patienten statistisch signifikant erhöht. Protektive Effekte könnten dagegen von den antiinflammatorischen Zytokinen IL-1RA, IL-10 und IL-13 ausgehen, deren Serumspiegel bei FAMI- gegenüber AMitis-Patienten im Vergleich erhöht waren.

Beim direkten Vergleich von AMitis-Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk und solchen ohne β_1 -AAk, zeigten sich bei Patienten mit hochaffinen β_1 -AAk höhere Konzentrationen an IL-1 β , IL-2, IL-6, IL-7, IL-12, IL-17, GM-CSF, MIP-1 α und TNF- α . Bei Patienten ohne Autoantikörper waren demgegenüber die Spiegel von IL-1RA, IL-10 und IL-13 erhöht, was zu einer besseren Erholung der LV-Pumpfunktion führte.

Nach genetischer Typisierung der CTLA-4-Haplotypen (Polymorphismen SNP +49G/A und SNP CT60A/G) fand sich bei Patienten mit dem Allel G/G ein höheres Risiko β_1 -AAk zu entwickeln, während das Allel A/A jeweils mit einem geringeren Risiko kardiale Autoantikörper zu entwickeln assoziiert war und somit protektiv gegen Autoimmunphänomene wirken könnte.

6. Literatur

1. Abbate, A., Kontos, M.C., Grizzard, J.D., et al. Interleukin-1 blockade with anakinra to prevent adverse cardiac remodeling after acute myocardial infarction (Virginia Commonwealth University Anakinra Remodeling Trial [VCU-ART] Pilot study). *Am J Cardiol.* 2010;105(10):1371-7 e1.
2. Abbate, A., Van Tassell, B.W., Biondi-Zoccai, G., et al. Effects of interleukin-1 blockade with anakinra on adverse cardiac remodeling and heart failure after acute myocardial infarction [from the Virginia Commonwealth University-Anakinra Remodeling Trial (2) (VCU-ART2) pilot study]. *Am J Cardiol.* 2013;111(10):1394-400.
3. Al-Ahmad, R.S., Mahafzah, A.M., Al-Mousa, E.N. Immunological changes in acute myocardial infarction. *Saudi Med J.* 2004;25(7):923-8.
4. Allahabadi, A., Heward, J.M., Nithyananthan, R., et al. MHC class II region, CTLA4 gene, and ophthalmopathy in patients with Graves' disease. *Lancet.* 2001;358(9286):984-5.
5. Andrie, R.P., Becher, U.M., Frommold, R., et al. Interleukin-6 is the strongest predictor of 30-day mortality in patients with cardiogenic shock due to myocardial infarction. *Crit Care.* 2012;16(4):R152.
6. Awata, T., Kurihara, S., Iitaka, M., et al. Association of CTLA-4 gene A-G polymorphism (IDDM12 locus) with acute-onset and insulin-depleted IDDM as well as autoimmune thyroid disease (Graves' disease and Hashimoto's thyroiditis) in the Japanese population. *Diabetes.* 1998;47(1):128-9.
7. Azizi, G., Simhag, A., El Roubay, N.M., et al. Th22 Cells Contribution in Immunopathogenesis of Rheumatic Diseases. *Iran J Allergy Asthma Immunol.* 2015;14(3):246-54.
8. Baldi, A., Abbate, A., Bussani, R., et al. Apoptosis and post-infarction left ventricular remodeling. *J Mol Cell Cardiol.* 2002;34(2):165-74.
9. Ban, Y., Tozaki, T., Taniyama, M., et al. Association of a CTLA-4 3' untranslated region (CT60) single nucleotide polymorphism with autoimmune thyroid disease in the Japanese population. *Autoimmunity.* 2005;38(2):151-3.
10. Barreto, M., Santos, E., Ferreira, R., et al. Evidence for CTLA4 as a susceptibility gene for systemic lupus erythematosus. *Eur J Hum Genet.* 2004;12(8):620-6.
11. Bemelmans, M.H., van Tits, L.J., Buurman, W.A. Tumor necrosis factor: function, release and clearance. *Crit Rev Immunol.* 1996;16(1):1-11.
12. Biasucci, L.M., Liuzzo, G., Fantuzzi, G., et al. Increasing levels of interleukin (IL)-1Ra and IL-6 during the first 2 days of hospitalization in unstable angina are associated with increased risk of in-hospital coronary events. *Circulation.* 1999;99(16):2079-84.
13. Biasucci, L.M., Liuzzo, G., Grillo, R.L., et al. Elevated levels of C-reactive protein at discharge in patients with unstable angina predict recurrent instability. *Circulation.* 1999;99(7):855-60.
14. Biasucci, L.M., Vitelli, A., Liuzzo, G., et al. Elevated levels of interleukin-6 in unstable angina. *Circulation.* 1996;94(5):874-7.
15. Birdsall, H.H., Green, D.M., Trial, J., et al. Complement C5a, TGF-beta 1, and MCP-1, in sequence, induce migration of monocytes into ischemic canine myocardium within the first one to five hours after reperfusion. *Circulation.* 1997;95(3):684-92.
16. Blankenberg, S., Luc, G., Ducimetiere, P., et al. Interleukin-18 and the risk of coronary heart disease in European men: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction (PRIME). *Circulation.* 2003;108(20):2453-9.

17. Blum, A., Yeganeh, S. The role of T-lymphocyte subpopulations in acute myocardial infarction. *Eur J Intern Med.* 2003;14(7):407-10.
18. Boivin, V., Beyersdorf, N., Palm, D., et al. Novel receptor-derived cyclopeptides to treat heart failure caused by anti-beta1-adrenoceptor antibodies in a human-analogous rat model. *PLoS One.* 2015;10(2):e0117589.
19. Boivin, V., Jahns, R., Gambaryan, S., et al. Immunofluorescent imaging of beta 1- and beta 2-adrenergic receptors in rat kidney. *Kidney Int.* 2001;59(2):515-31.
20. Boivin-Jahns, V., Uhland, K., Holthoff, H.P., et al. Cyclopeptide COR-1 to treat beta1-adrenergic receptor antibody-induced heart failure. *PLoS One.* 2018;13(8):e0201160.
21. Borda, E., Pascual, J., Cossio, P., et al. A circulating IgG in Chagas' disease which binds to beta-adrenoceptors of myocardium and modulates their activity. *Clin Exp Immunol.* 1984;57(3):679-86.
22. Bujak, M., Dobaczewski, M., Chatila, K., et al. Interleukin-1 receptor type I signaling critically regulates infarct healing and cardiac remodeling. *Am J Pathol.* 2008;173(1):57-67.
23. Bujak, M., Frangogiannis, N.G. The role of IL-1 in the pathogenesis of heart disease. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2009;57(3):165-76.
24. Bywater, R.P. Location and nature of the residues important for ligand recognition in G-protein coupled receptors. *J Mol Recognit.* 2005;18(1):60-72.
25. Caforio, A.L., Mahon, N.J., Tona, F., et al. Circulating cardiac autoantibodies in dilated cardiomyopathy and myocarditis: pathogenetic and clinical significance. *Eur J Heart Fail.* 2002;4(4):411-7.
26. Cavalli, G., Foppoli, M., Cabrini, L., et al. Interleukin-1 Receptor Blockade Rescues Myocarditis-Associated End-Stage Heart Failure. *Front Immunol.* 2017;8:131.
27. Chen, W.F., Zlotnik, A. IL-10: a novel cytotoxic T cell differentiation factor. *J Immunol.* 1991;147(2):528-34.
28. Chen, Z., Fei, M., Fu, D., et al. Association between cytotoxic T lymphocyte antigen-4 polymorphism and type 1 diabetes: a meta-analysis. *Gene.* 2013;516(2):263-70.
29. Cheng, X., Liao, Y.H., Ge, H., et al. TH1/TH2 functional imbalance after acute myocardial infarction: coronary arterial inflammation or myocardial inflammation. *J Clin Immunol.* 2005;25(3):246-53.
30. Darlington, P.J., Kirchhof, M.G., Criado, G., et al. Hierarchical regulation of CTLA-4 dimer-based lattice formation and its biological relevance for T cell inactivation. *J Immunol.* 2005;175(2):996-1004.
31. Dayer, J.M., Burger, D. Interleukin-1, tumor necrosis factor and their specific inhibitors. *Eur Cytokine Netw.* 1994;5(6):563-71.
32. De Luca, G., Campochiaro, C., Dinarello, C.A., et al. Treatment of Dilated Cardiomyopathy With Interleukin-1 Inhibition. *Ann Intern Med.* 2018;169(11):819-20.
33. De Luca, G., Cavalli, G., Campochiaro, C., et al. Myocarditis: An Interleukin-1-Mediated Disease? *Front Immunol.* 2018;9:1335.
34. de Waal Malefyt, R., Abrams, J., Bennett, B., et al. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med.* 1991;174(5):1209-20.
35. Deubner, N., Berliner, D., Schlipf, A., et al. Cardiac beta1-adrenoceptor autoantibodies in human heart disease: rationale and design of the Etiology, Titre-Course, and Survival (ETiCS) Study. *Eur J Heart Fail.* 2010;12(7):753-62.
36. Dewald, O., Zymek, P., Winkelmann, K., et al. CCL2/Monocyte Chemoattractant Protein-1 regulates inflammatory responses critical to healing myocardial infarcts. *Circ Res.* 2005;96(8):881-9.

37. Djilali-Saiah, I., Schmitz, J., Harfouch-Hammoud, E., et al. CTLA-4 gene polymorphism is associated with predisposition to coeliac disease. *Gut*. 1998;43(2):187-9.
38. Donner, H., Braun, J., Seidl, C., et al. Codon 17 polymorphism of the cytotoxic T lymphocyte antigen 4 gene in Hashimoto's thyroiditis and Addison's disease. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(12):4130-2.
39. Donner, H., Rau, H., Walfish, P.G., et al. CTLA4 alanine-17 confers genetic susceptibility to Graves' disease and to type 1 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(1):143-6.
40. Du, Y., Yan, L., Wang, J., et al. beta1-Adrenoceptor autoantibodies from DCM patients enhance the proliferation of T lymphocytes through the beta1-AR/cAMP/PKA and p38 MAPK pathways. *PLoS One*. 2012;7(12):e52911.
41. Engelbertsen, D., Andersson, L., Ljungcrantz, I., et al. T-helper 2 immunity is associated with reduced risk of myocardial infarction and stroke. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2013;33(3):637-44.
42. Fang, L., Moore, X.L., Dart, A.M., et al. Systemic inflammatory response following acute myocardial infarction. *J Geriatr Cardiol*. 2015;12(3):305-12.
43. Fischer, M., Baessler, A., Holmer, S.R., et al. Epidemiology of left ventricular systolic dysfunction in the general population of Germany: results of an echocardiographic study of a large population-based sample. *Z Kardiol*. 2003;92(4):294-302.
44. Fischer, P., Hilfiker-Kleiner, D. Role of gp130-mediated signalling pathways in the heart and its impact on potential therapeutic aspects. *Br J Pharmacol*. 2008;153 Suppl 1:S414-27.
45. Frangogiannis, N.G. The immune system and the remodeling infarcted heart: cell biological insights and therapeutic opportunities. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2014;63(3):185-95.
46. Frangogiannis, N.G., Lindsey, M.L., Michael, L.H., et al. Resident cardiac mast cells degranulate and release preformed TNF-alpha, initiating the cytokine cascade in experimental canine myocardial ischemia/reperfusion. *Circulation*. 1998;98(7):699-710.
47. Frangogiannis, N.G., Mendoza, L.H., Lindsey, M.L., et al. IL-10 Is Induced in the Reperfused Myocardium and May Modulate the Reaction to Injury. *The Journal of Immunology*. 2000;165(5):2798-808.
48. Freedman, N.J., Lefkowitz, R.J. Anti-beta(1)-adrenergic receptor antibodies and heart failure: causation, not just correlation. *J Clin Invest*. 2004;113(10):1379-82.
49. Fu, M. Autoimmunity and idiopathic dilated cardiomyopathy: where we stand? *Autoimmunity*. 2008;41(6):415-8.
50. Ganter, U., Arcone, R., Toniatti, C., et al. Dual control of C-reactive protein gene expression by interleukin-1 and interleukin-6. *EMBO J*. 1989;8(12):3773-9.
51. Gaudron, P., Eilles, C., Kugler, I., et al. Progressive left ventricular dysfunction and remodeling after myocardial infarction. Potential mechanisms and early predictors. *Circulation*. 1993;87(3):755-63.
52. Gheorghide, M., Bonow, R.O. Chronic heart failure in the United States: a manifestation of coronary artery disease. *Circulation*. 1998;97(3):282-9.
53. Golden, B., Levin, L., Ban, Y., et al. Genetic analysis of families with autoimmune diabetes and thyroiditis: evidence for common and unique genes. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(8):4904-11.
54. Gonzalez-Quesada, C., Frangogiannis, N.G. Monocyte chemoattractant protein-1/CCL2 as a biomarker in acute coronary syndromes. *Curr Atheroscler Rep*. 2009;11(2):131-8.
55. Gordon, J.W., Shaw, J.A., Kirshenbaum, L.A. Multiple facets of NF-kappaB in the heart: to be or not to NF-kappaB. *Circ Res*. 2011;108(9):1122-32.

56. Gorelik, M., Lee, Y., Abe, M., et al. IL-1 receptor antagonist, anakinra, prevents myocardial dysfunction in a mouse model of Kawasaki disease vasculitis and myocarditis. *Clin Exp Immunol.* 2019;198(1):101-10.
57. Gough, S.C., Walker, L.S., Sansom, D.M. CTLA4 gene polymorphism and autoimmunity. *Immunol Rev.* 2005;204:102-15.
58. Gross, A., Schoendube, J., Zimmermann, S., et al. Technologies for Single-Cell Isolation. *Int J Mol Sci.* 2015;16(8):16897-919.
59. Haberland, A., Wallukat, G., Dahmen, C., et al. Aptamer neutralization of beta1-adrenoceptor autoantibodies isolated from patients with cardiomyopathies. *Circ Res.* 2011;109(9):986-92.
60. Harris, T.B., Ferrucci, L., Tracy, R.P., et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med.* 1999;106(5):506-12.
61. Hasdai, D., Scheinowitz, M., Leibovitz, E., et al. Increased serum concentrations of interleukin-1 beta in patients with coronary artery disease. *Heart.* 1996;76(1):24-8.
62. Heeschen, C., Dimmeler, S., Hamm, C.W., et al. Serum level of the antiinflammatory cytokine interleukin-10 is an important prognostic determinant in patients with acute coronary syndromes. *Circulation.* 2003;107(16):2109-14.
63. Held, C., Kling, R., Gmeiner, P. Struktur und Funktion β -adrenerger Rezeptoren. *Pharmakon.* 2013;5:406-12.
64. Heymans, S., Hirsch, E., Anker, S.D., et al. Inflammation as a therapeutic target in heart failure? A scientific statement from the Translational Research Committee of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur J Heart Fail.* 2009;11(2):119-29.
65. Hoebeke, J. Structural basis of autoimmunity against G protein coupled membrane receptors. *Int J Cardiol.* 1996;54(2):103-11.
66. Hori, S., Nomura, T., Sakaguchi, S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science.* 2003;299(5609):1057-61.
67. Ikegami, H., Awata, T., Kawasaki, E., et al. The association of CTLA4 polymorphism with type 1 diabetes is concentrated in patients complicated with autoimmune thyroid disease: a multicenter collaborative study in Japan. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006;91(3):1087-92.
68. Iwata, M., Yoshikawa, T., Baba, A., et al. Autoantibodies against the second extracellular loop of beta1-adrenergic receptors predict ventricular tachycardia and sudden death in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37(2):418-24.
69. Jahns, R., Boivin, V., Krapf, T., et al. Modulation of beta1-adrenoceptor activity by domain-specific antibodies and heart failure-associated autoantibodies. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36(4):1280-7.
70. Jahns, R., Boivin, V., Lohse, M.J. beta(1)-Adrenergic receptor function, autoimmunity, and pathogenesis of dilated cardiomyopathy. *Trends Cardiovasc Med.* 2006;16(1):20-4.
71. Jahns, R., Boivin, V., Siegmund, C., et al. Autoantibodies activating human beta1-adrenergic receptors are associated with reduced cardiac function in chronic heart failure. *Circulation.* 1999;99(5):649-54.
72. Jung, M., Ma, Y., Iyer, R.P., et al. IL-10 improves cardiac remodeling after myocardial infarction by stimulating M2 macrophage polarization and fibroblast activation. *Basic Res Cardiol.* 2017;112(3):33.
73. Kavvoura, F.K., Akamizu, T., Awata, T., et al. Cytotoxic T-lymphocyte associated antigen 4 gene polymorphisms and autoimmune thyroid disease: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2007;92(8):3162-70.

74. Kawaguchi, M., Takahashi, M., Hata, T., et al. Inflammasome activation of cardiac fibroblasts is essential for myocardial ischemia/reperfusion injury. *Circulation*. 2011;123(6):594-604.
75. Kemp, E.H., Ajjan, R.A., Husebye, E.S., et al. A cytotoxic T lymphocyte antigen-4 (CTLA-4) gene polymorphism is associated with autoimmune Addison's disease in English patients. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1998;49(5):609-13.
76. Kindermann, I., Barth, C., Mahfoud, F., et al. Update on myocarditis. *J Am Coll Cardiol*. 2012;59(9):779-92.
77. Kotsa, K., Watson, P.F., Weetman, A.P. A CTLA-4 gene polymorphism is associated with both Graves disease and autoimmune hypothyroidism. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 1997;46(5):551-4.
78. Kouki, T., Sawai, Y., Gardine, C.A., et al. CTLA-4 gene polymorphism at position 49 in exon 1 reduces the inhibitory function of CTLA-4 and contributes to the pathogenesis of Graves' disease. *J Immunol*. 2000;165(11):6606-11.
79. Kroenke, K., Spitzer, R.L., Williams, J.B. The PHQ-9: validity of a brief depression severity measure. *J Gen Intern Med*. 2001;16(9):606-13.
80. Kuehn, H.S., Ouyang, W., Lo, B., et al. Immune dysregulation in human subjects with heterozygous germline mutations in CTLA4. *Science*. 2014;345(6204):1623-7.
81. Kühn, U., Pauschinger, M., Seeberg, B., et al. Viral persistence in the myocardium is associated with progressive cardiac dysfunction. *Circulation*. 2005;112(13):1965-70.
82. Kühn, U., Schultheiss, H.P. Myokarditis. *Deutsches Ärzteblatt*. 2012;109(20):361-9.
83. Kumar, A.G., Ballantyne, C.M., Michael, L.H., et al. Induction of monocyte chemoattractant protein-1 in the small veins of the ischemic and reperfused canine myocardium. *Circulation*. 1997;95(3):693-700.
84. Kurrelmeyer, K.M., Michael, L.H., Baumgarten, G., et al. Endogenous tumor necrosis factor protects the adult cardiac myocyte against ischemic-induced apoptosis in a murine model of acute myocardial infarction. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2000;97(10):5456-61.
85. Laufs, U., Anker, S. D., Baldus, S., Birner, C., Falk, V., Perings, C.A., Pieske, B. Pocket-Leitlinie: Herzinsuffizienz (Version 2016). https://leitlinien.dgk.org/files/24_2016_pocket_leitlinien_herzinsuffizienz.pdf. Accessed 13.04.2021.
86. Lee, C.S., Lee, Y.J., Liu, H.F., et al. Association of CTLA4 gene A-G polymorphism with rheumatoid arthritis in Chinese. *Clin Rheumatol*. 2003;22(3):221-4.
87. Lehmeier, L. *Basics Allgemeinmedizin*. 1 Aufl. Published: Elsevier GmbH, Urban und Fischer Verlag; 2005. S. 43
88. Leng, S.X., McElhaney, J.E., Walston, J.D., et al. ELISA and multiplex technologies for cytokine measurement in inflammation and aging research. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2008;63(8):879-84.
89. Levine, B., Kalman, J., Mayer, L., et al. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med*. 1990;323(4):236-41.
90. Levy, D., Larson, M.G., Vasan, R.S., et al. The progression from hypertension to congestive heart failure. *JAMA*. 1996;275(20):1557-62.
91. Liu, L.L., Lu, J.L., Chao, P.L., et al. Lower prevalence of circulating invariant natural killer T (iNKT) cells in patients with acute myocardial infarction undergoing primary coronary stenting. *Int Immunopharmacol*. 2011;11(4):480-4.
92. Lotz, M. Interleukin-6. *Cancer Invest*. 1993;11(6):732-42.
93. Luc, G., Bard, J.M., Juhan-Vague, I., et al. C-reactive protein, interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease: the PRIME Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2003;23(7):1255-61.

94. Mader, F.W., H. *Allgemeinmedizin und Praxis*. 6 Aufl. Published: Springer Verlag; 2007. S. 123-124
95. Mantovani, A. The interplay between primary and secondary cytokines. Cytokines involved in the regulation of monocyte recruitment. *Drugs*. 1997;54 Suppl 1:15-23.
96. Martinez, N.E., Sato, F., Kawai, E., et al. Regulatory T cells and Th17 cells in viral infections: implications for multiple sclerosis and myocarditis. *Future Virol*. 2012;7(6):593-608.
97. Martinovic, I., Abegunewardene, N., Seul, M., et al. Elevated monocyte chemoattractant protein-1 serum levels in patients at risk for coronary artery disease. *Circ J*. 2005;69(12):1484-9.
98. Martins, T.B., Anderson, J.L., Muhlestein, J.B., et al. Risk factor analysis of plasma cytokines in patients with coronary artery disease by a multiplexed fluorescent immunoassay. *Am J Clin Pathol*. 2006;125(6):906-13.
99. Matsumori, A. Cytokines in myocarditis and cardiomyopathies. *Curr Opin Cardiol*. 1996;11(3):302-9.
100. Matsumori, A. Cytokines in myocarditis and dilated cardiomyopathy. *Eur Heart J Supplements*. 2002;4 (Suppl I):I42-I5.
101. Matsumori, A., Yamada, T., Suzuki, H., et al. Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy. *Br Heart J*. 1994;72(6):561-6.
102. Maurer, M., Loserth, S., Kolb-Maurer, A., et al. A polymorphism in the human cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA4) gene (exon 1 +49) alters T-cell activation. *Immunogenetics*. 2002;54(1):1-8.
103. Maurer, M., Ponath, A., Kruse, N., et al. CTLA4 exon 1 dimorphism is associated with primary progressive multiple sclerosis. *J Neuroimmunol*. 2002;131(1-2):213-5.
104. Maury, C.P., Salo, E., Pelkonen, P. Elevated circulating tumor necrosis factor-alpha in patients with Kawasaki disease. *J Lab Clin Med*. 1989;113(5):651-4.
105. Mazzone, A., De Servi, S., Vezzoli, M., et al. Plasma levels of interleukin 2, 6, 10 and phenotypic characterization of circulating T lymphocytes in ischemic heart disease. *Atherosclerosis*. 1999;145(2):369-74.
106. Mezzaroma, E., Toldo, S., Farkas, D., et al. The inflammasome promotes adverse cardiac remodeling following acute myocardial infarction in the mouse. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;108(49):19725-30.
107. Mirhafez, S.R., Zarifian, A., Ebrahimi, M., et al. Relationship between serum cytokine and growth factor concentrations and coronary artery disease. *Clin Biochem*. 2015;48(9):575-80.
108. Miyao, Y., Yasue, H., Ogawa, H., et al. Elevated plasma interleukin-6 levels in patients with acute myocardial infarction. *Am Heart J*. 1993;126(6):1299-304.
109. Mizia-Stec, K., Gasior, Z., Zahorska-Markiewicz, B., et al. Serum tumour necrosis factor-alpha, interleukin-2 and interleukin-10 activation in stable angina and acute coronary syndromes. *Coron Artery Dis*. 2003;14(6):431-8.
110. Moore, K.W., de Waal Malefyt, R., Coffman, R.L., et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol*. 2001;19:683-765.
111. Nah, D.Y., Rhee, M.Y. The inflammatory response and cardiac repair after myocardial infarction. *Korean Circ J*. 2009;39(10):393-8.
112. Narula, J., Haider, N., Virmani, R., et al. Apoptosis in myocytes in end-stage heart failure. *N Engl J Med*. 1996;335(16):1182-9.
113. Nelken, N.A., Coughlin, S.R., Gordon, D., et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest*. 1991;88(4):1121-7.

114. Ni, J., Qiu, L.J., Zhang, M., et al. CTLA-4 CT60 (rs3087243) polymorphism and autoimmune thyroid diseases susceptibility: a comprehensive meta-analysis. *Endocr Res.* 2014;39(4):180-8.
115. Nian, M., Lee, P., Khaper, N., et al. Inflammatory cytokines and postmyocardial infarction remodeling. *Circ Res.* 2004;94(12):1543-53.
116. Nistico, L., Buzzetti, R., Pritchard, L.E., et al. The CTLA-4 gene region of chromosome 2q33 is linked to, and associated with, type 1 diabetes. Belgian Diabetes Registry. *Hum Mol Genet.* 1996;5(7):1075-80.
117. Nithiyanthan, R., Heward, J.M., Allahabadia, A., et al. Polymorphism of the CTLA-4 gene is associated with autoimmune hypothyroidism in the United Kingdom. *Thyroid.* 2002;12(1):3-6.
118. Olivetti, G., Abbi, R., Quaini, F., et al. Apoptosis in the failing human heart. *N Engl J Med.* 1997;336(16):1131-41.
119. Orn, S., Breland, U.M., Mollnes, T.E., et al. The chemokine network in relation to infarct size and left ventricular remodeling following acute myocardial infarction. *Am J Cardiol.* 2009;104(9):1179-83.
120. Patel, H., Mansuri, M.S., Singh, M., et al. Association of Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 (CTLA4) and Thyroglobulin (TG) Genetic Variants with Autoimmune Hypothyroidism. *PLoS One.* 2016;11(3):e0149441.
121. Paul, T., Tschöpe, C., Kandolf, R. S2k Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Myokarditis im Kindes- und Jugendalter. https://extranet.who.int/ncdccs/Data/DEU_D1_Myocarditis%20in%20children%20and%20adolescents.pdf. Accessed 21.01.2021.
122. Pezzutto, A.U., T.; Burmester, G.-R. Taschenatlas der Immunologie. 2 ed: Thieme Verlag; 2006:88-113.
123. Pezzutto, A.U., T.; Burmester, G.-R. Taschenatlas der Immunologie. 2 ed: Thieme Verlag; 2006:314-44.
124. Pezzutto, A.U., T.; Burmester, G.-R. Taschenatlas der Immunologie. 2 ed: Thieme Verlag; 2006:1-10.
125. Plenge, R.M., Padyukov, L., Remmers, E.F., et al. Replication of putative candidate-gene associations with rheumatoid arthritis in >4,000 samples from North America and Sweden: association of susceptibility with PTPN22, CTLA4, and PADI4. *Am J Hum Genet.* 2005;77(6):1044-60.
126. Ramgopal, S., Rathika, C., Padma, M.R., et al. Interaction of HLA-DRB1* alleles and CTLA4 (+49 AG) gene polymorphism in Autoimmune Thyroid Disease. *Gene.* 2018;642:430-8.
127. Ramirez, J., Canete, J.D. Anakinra for the treatment of rheumatoid arthritis: a safety evaluation. *Expert Opin Drug Saf.* 2018;17(7):727-32.
128. Read, S., Malmstrom, V., Powrie, F. Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 plays an essential role in the function of CD25(+)CD4(+) regulatory cells that control intestinal inflammation. *J Exp Med.* 2000;192(2):295-302.
129. Richardson, P., McKenna, W., Bristow, M., et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation.* 1996;93(5):841-2.
130. Ridker, P.M., Rifai, N., Pfeffer, M., et al. Elevation of tumor necrosis factor-alpha and increased risk of recurrent coronary events after myocardial infarction. *Circulation.* 2000;101(18):2149-53.
131. Ridker, P.M., Rifai, N., Stampfer, M.J., et al. Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation.* 2000;101(15):1767-72.

132. Rink, L.K., A.; Haase, H. Immunologie für Einsteiger. 2 ed: Springer Verlag; 2015:69-84.
133. Rink, L.K., A.; Haase, H. Immunologie für Einsteiger. 2 ed: Springer Verlag; 2015:82-107.
134. Rink, L.K., A.; Haase, H. Immunologie für Einsteiger. 2 ed: Springer Verlag; 2015:240-8.
135. Rose, N.R. Critical cytokine pathways to cardiac inflammation. *J Interferon Cytokine Res.* 2011;31(10):705-10.
136. Rothenbacher, D., Muller-Scholze, S., Herder, C., et al. Differential expression of chemokines, risk of stable coronary heart disease, and correlation with established cardiovascular risk markers. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006;26(1):194-9.
137. Ruppert, V., Meyer, T., Struwe, C., et al. Evidence for CTLA4 as a susceptibility gene for dilated cardiomyopathy. *Eur J Hum Genet.* 2010;18(6):694-9.
138. Saadeddin, S.M., Habbab, M.A., Ferns, G.A. Markers of inflammation and coronary artery disease. *Med Sci Monit.* 2002;8(1):RA5-12.
139. Sakaguchi, S., Wing, K., Onishi, Y., et al. Regulatory T cells: how do they suppress immune responses? *Int Immunol.* 2009;21(10):1105-11.
140. Sansom, D.M. CD28, CTLA-4 and their ligands: who does what and to whom? *Immunology.* 2000;101(2):169-77.
141. Schlattner, U., Tokarska-Schlattner, M., Wallimann, T. Mitochondrial creatine kinase in human health and disease. *Biochim Biophys Acta.* 2006;1762(2):164-80.
142. Schmetzer, O. *Basics Immunologie* Published: Urban & Fischer Verlag, Elsevier GmbH; 2009. S. 10-32
143. Schubert, D., Bode, C., Kenefeck, R., et al. Autosomal dominant immune dysregulation syndrome in humans with CTLA4 mutations. *Nat Med.* 2014;20(12):1410-6.
144. Schultheiss, H.P., Kühl, U. Stand der Diagnostik und Therapie der inflammatorischen Kardiomyopathie. *Internist.* 2008;49:7-16.
145. Sedlacek, H.-H. Immunologie - die Immunabwehr des Menschen Entstehung, Abwehr und Behandlungsmöglichkeiten. 2. Auflage ed. Berlin/Boston: De Gruyter; 2017:151-9.
146. Sedlacek, H.-H. Immunologie - die Immunabwehr des Menschen Entstehung, Abwehr und Behandlungsmöglichkeiten. 2. Auflage ed. Berlin/Boston: De Gruyter; 2017:44-52.
147. Sedlacek, H.-H. Immunologie - die Immunabwehr des Menschen Entstehung, Abwehr und Behandlungsmöglichkeiten. 2. Auflage ed. Berlin/Boston: De Gruyter; 2017:209-21.
148. Sedlacek, H.-H. Immunologie - die Immunabwehr des Menschen Entstehung, Abwehr und Behandlungsmöglichkeiten. 2. Auflage ed. Berlin/Boston: De Gruyter; 2017:1-4, 17-8, 151-62.
149. Sedlacek, H.-H. Immunologie - die Immunabwehr des Menschen Entstehung, Abwehr und Behandlungsmöglichkeiten. 2. Auflage ed. Berlin/Boston: De Gruyter; 2017:247-65.
150. Shaikh, P. Cytokines & their physiologic and pharmacologic functions in inflammation: A review. *Int. J. of Pharm. & Life Sci. (IJPLS).* 2011;2(11):1247-63.
151. Simpson, S., Kaislasuo, J., Guller, S., et al. Thermal stability of cytokines: A review. *Cytokine.* 2020;125:154829.
152. Siwik, D.A., Chang, D.L., Colucci, W.S. Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha decrease collagen synthesis and increase matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts in vitro. *Circ Res.* 2000;86(12):1259-65.
153. Sokolow, M., McIlroy, M.B. Kardiologie. Berlin Heidelberg New York Tokyo: Springer-Verlag; 1981.
154. Steppich, B.A., Moog, P., Matissek, C., et al. Cytokine profiles and T cell function in acute coronary syndromes. *Atherosclerosis.* 2007;190(2):443-51.

155. Sterin-Borda, L., Cossio, P.M., Gimeno, M.F., et al. Effect of chagasic sera on the rat isolated atrial preparation: immunological, morphological and function aspects. *Cardiovasc Res.* 1976;10(6):613-22.
156. Störk, S., Boivin, V., Horf, R., et al. Stimulating autoantibodies directed against the cardiac beta1-adrenergic receptor predict increased mortality in idiopathic cardiomyopathy. *Am Heart J.* 2006;152(4):697-704.
157. Swedberg, K., Cleland, J., Dargie, H., et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2005;26(11):1115-40.
158. Takagi, Y., Yasuhara, T., Gomi, K. [Creatine kinase and its isozymes]. *Rinsho Byori.* 2001;Suppl 116:52-61.
159. Takahashi, T., Tagami, T., Yamazaki, S., et al. Immunologic self-tolerance maintained by CD25(+)CD4(+) regulatory T cells constitutively expressing cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med.* 2000;192(2):303-10.
160. Technologies, B. How does KASP work. <https://www.biosearchtech.com/support/education/kasp-genotyping-reagents/how-does-kasp-work>. Accessed 16.04.2021.
161. Timmers, L., Pasterkamp, G., de Hoog, V.C., et al. The innate immune response in reperfused myocardium. *Cardiovasc Res.* 2012;94(2):276-83.
162. Tomoyose, T., Komiya, I., Takara, M., et al. Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 gene polymorphisms and human T-cell lymphotropic virus-1 infection: their associations with Hashimoto's thyroiditis in Japanese patients. *Thyroid.* 2002;12(8):673-7.
163. Torre-Amione, G., Kapadia, S., Benedict, C., et al. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol.* 1996;27(5):1201-6.
164. Torre-Amione, G., Kapadia, S., Lee, J., et al. Expression and functional significance of tumor necrosis factor receptors in human myocardium. *Circulation.* 1995;92(6):1487-93.
165. Torre-Amione, G., Kapadia, S., Lee, J., et al. Tumor necrosis factor-alpha and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. *Circulation.* 1996;93(4):704-11.
166. Uguccioni, M., D'Apuzzo, M., Loetscher, M., et al. Actions of the chemotactic cytokines MCP-1, MCP-2, MCP-3, RANTES, MIP-1 alpha and MIP-1 beta on human monocytes. *Eur J Immunol.* 1995;25(1):64-8.
167. Vaidya, B., Pearce, S.H., Charlton, S., et al. An association between the CTLA4 exon 1 polymorphism and early rheumatoid arthritis with autoimmune endocrinopathies. *Rheumatology (Oxford).* 2002;41(2):180-3.
168. Valgimigli, M., Ceconi, C., Malagutti, P., et al. Tumor necrosis factor-alpha receptor 1 is a major predictor of mortality and new-onset heart failure in patients with acute myocardial infarction: the Cytokine-Activation and Long-Term Prognosis in Myocardial Infarction (C-ALPHA) study. *Circulation.* 2005;111(7):863-70.
169. Van Tassel, B.W., Buckley, L.F., Carbone, S., et al. Interleukin-1 blockade in heart failure with preserved ejection fraction: rationale and design of the Diastolic Heart Failure Anakinra Response Trial 2 (D-HART2). *Clin Cardiol.* 2017;40(9):626-32.
170. Vastert, S.J., Jamilloux, Y., Quartier, P., et al. Anakinra in children and adults with Still's disease. *Rheumatology (Oxford).* 2019;58(Suppl 6):vi9-vi22.
171. Walker, L.S., Sansom, D.M. Confusing signals: recent progress in CTLA-4 biology. *Trends Immunol.* 2015;36(2):63-70.
172. Wallukat, G. The beta-adrenergic receptors. *Herz.* 2002;27(7):683-90.

173. Wallukat, G., Kayser, A., Wollenberger, A. The beta 1-adrenoceptor as antigen: functional aspects. *Eur Heart J.* 1995;16 Suppl O:85-8.
174. Wallukat, G., Morwinski, M., Kowal, K., et al. Autoantibodies against the beta-adrenergic receptor in human myocarditis and dilated cardiomyopathy: beta-adrenergic agonism without desensitization. *Eur Heart J.* 1991;12 Suppl D:178-81.
175. Wallukat, G., Nissen, E., Neichel, D., et al. Spontaneously beating neonatal rat heart myocyte culture-a model to characterize angiotensin II at(1) receptor autoantibodies in patients with preeclampsia. *In Vitro Cell Dev Biol Anim.* 2002;38(7):376-7.
176. Wang, L., Jiang, Z., Qiu, H., et al. Associations between CTLA-4 +49 A/G (rs231775) polymorphism and cancer risk: a meta-analysis based on 52 case-control studies. *Int J Clin Exp Med.* 2015;8(5):6835-51.
177. Weil, J., Schunkert, H. Pathophysiology of chronic heart failure. *Clin Res Cardiol.* 2006;95 Suppl 4:1-15; quiz 6-7.
178. Wing, K., Sakaguchi, S. Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nat Immunol.* 2010;11(1):7-13.
179. Wing, K., Yamaguchi, T., Sakaguchi, S. Cell-autonomous and -non-autonomous roles of CTLA-4 in immune regulation. *Trends Immunol.* 2011;32(9):428-33.
180. Workman, C.J., Szymczak-Workman, A.L., Collison, L.W., et al. The development and function of regulatory T cells. *Cell Mol Life Sci.* 2009;66(16):2603-22.
181. Yla-Herttuala, S., Lipton, B.A., Rosenfeld, M.E., et al. Expression of monocyte chemoattractant protein 1 in macrophage-rich areas of human and rabbit atherosclerotic lesions. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1991;88(12):5252-6.
182. Yu, C., Sonnen, A.F., George, R., et al. Rigid-body ligand recognition drives cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) receptor triggering. *J Biol Chem.* 2011;286(8):6685-96.
183. Yuan, J., Cao, A.L., Yu, M., et al. Th17 cells facilitate the humoral immune response in patients with acute viral myocarditis. *J Clin Immunol.* 2010;30(2):226-34.
184. Yung, E., Cheng, P.S., Fok, T.F., et al. CTLA-4 gene A-G polymorphism and childhood Graves' disease. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2002;56(5):649-53.
185. Ziemer, G.H., A. *Herzchirurgie.* 3 Aufl. Published: Springer Verlag; 2010. S. 589-590
186. Zymek, P., Nah, D.Y., Bujak, M., et al. Interleukin-10 is not a critical regulator of infarct healing and left ventricular remodeling. *Cardiovasc Res.* 2007;74(2):313-22.

Appendix

I. Abkürzungsverzeichnis

AK = Antikörper

AAk = Autoantikörper

AMitis = akute Myokarditis

APCs = antigenpräsentierende Zellen

β_1 -AAk = β_1 -Adrenozeptor-Autoantikörper

β_1 -AR = β_1 -Adrenorezeptor

cMRT = kardiale Magnetresonanztomographie

CTLA-4 = cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4

DC = Dendritische Zelle

DCM = dilatative Kardiomyopathie

EF = Ejektionsfraktion

EKG = Elektrokardiogramm

ELISA = Enzyme-linked immunosorbent assay

ELISPOT = solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay

ETICS = Etiology, Titre-Course, and Survival Study

FACS = fluorescence-activated cell sorting, Durchflußzytometrie

FAMI = first acute myocardial infarction, erster akuter Myokardinfarkt

FOXP3 = Forkhead-Box-Protein P3

FUP = follow-up visits

HI = Herzinsuffizienz

ICM = ischämische Kardiomyopathie

IL = Interleukin

LV = linksventrikulär

LVEF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion

KHK = koronare Herzkrankheit

NK = Natürliche Killerzellen

PCR = Polymerase-Kettenreaktion

SNP = Single-Nucleotid-Polymorphism = Einzelnukleotid-Polymorphismus

T_{Reg} = regulatorische T-Lymphozyten

II. Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation der Herzinsuffizienz nach New York Heart Association (NYHA)	2
Abbildung 1: Einfluss der Zytokine auf die Entwicklung einer viralen Myokarditis zu einer autoimmunen Myokarditis und einer dilatativen Kardiomyopathie	5
Abbildung 2: Übersicht der Einschluss- und FUP-Untersuchungen nach 3, 6, 12 Monaten	28
Abbildung 3: Vorgehensprotokoll Multiplex array „Human Cytokine Magnetic 25-Plex Panel“ von Invitrogen ^[7]	32
Abbildung 4: Verlauf der echokardiographisch bestimmten LVEF-Pumpfunktion (EF, %) von AMitis- und FAMI-Patienten der ETiCS-Studie abhängig vom AAK-Status	37
Abbildung 5: Verlauf der echokardiographisch bestimmten LVEF (EF, %) von FAMI-Patienten abhängig vom AAK-Status und des CK-Werts	38
Abbildung 6: Verlauf der IL-1 β und IL-1RA-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	40
Abbildung 7: Verlauf der GM-CSF und MCP-1-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	41
Abbildung 8: Verlauf der IL-6 und TNF- α -Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	42
Abbildung 9: Verlauf der MIP-1 α - und MIP-1 β -Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	43
Abbildung 10: Verlauf der IFN- α -Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	44
Abbildung 11: Verlauf der IFN- γ - und IL-12-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	45
Abbildung 12: Verlauf der IL-2-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	46
Abbildung 13: Verlauf der IL-4- und IL-5-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	47
Abbildung 14: Verlauf der IL-7 und IL-13-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	48
Abbildung 15: Verlauf der IL-17-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	49
Abbildung 16: Verlauf der IL-10-Serumkonzentration von AMitis- und FAMI-Patienten mit hochaffinen AAK	50
Abbildung 17: Verlauf der IL-1 β und IL-1RA-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK	52
Abbildung 18: Verlauf der TNF- α - und MCP-1-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK	53
Abbildung 19: Verlauf der IFN- α - und IL-6-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK	54
Abbildung 20: Verlauf der MIP-1 α - und MIP-1 β -Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK	55
Abbildung 21: Verlauf der IL-7- und IL-2-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK	56
Abbildung 22: Verlauf der IL-4- und IL-5-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK	57
Abbildung 23: Verlauf der IL-12- und IL-10-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK	58

Abbildung 24: Verlauf der IL-13 und IFN-γ-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK	59
Abbildung 25: Verlauf der IL-17 und GM-CSF-Serumkonzentration von AMitis-Patienten mit niedrig- und hochaffinen AAK	60
Abbildung 26: Untersuchungs-Ergebnisse der CTLA-4 Allel-Häufigkeiten bei Vorliegen des SNP +49G/A	61
Abbildung 27: Untersuchungs-Ergebnisse der CTLA-4 Allel-Häufigkeiten bei Vorliegen des SNP CT60A/G.....	63

III. Danksagung

Bei Herrn Prof. Dr. R. Jahns bedanke ich mich für die Überlassung des Dissertationsthemas und die umfassende Unterstützung. Vielen Dank, dass Sie mich über die Jahre hinweg so intensiv betreut haben und mir bei allen Fragen weitergeholfen haben.

Herrn Priv.-Doz. Dr. N. Beyersdorf danke ich für die freundliche Übernahme des Koreferats.

Frau Dr. Valérie Jahns danke ich für die intensive und überaus kompetente Betreuung. Sie war stets für mich da, unterstützte mich und organisierte das gesamte Vorhaben, um mir diese Dissertation zu ermöglichen.

Ganz herzlich möchte ich meiner ganzen Familie für die stetige Unterstützung, den Rückhalt in allen Lebenslagen und die Kinderbetreuung danken. Besonders danke ich meinem Mann, Patrick Wagner, meinem Vater, Dr. Georg von der Heide, und meiner Schwiegermutter, Helga Wagner, die meine Dissertation Korrektur gelesen haben und mir mit unzähligen hilfreichen Ratschlägen zur Seite standen.