Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik B

Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. Bodo E. Strauer

Serologische Marker für einen erhöhten kollagenolytischen Stoffwechsel bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der

Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität

Düsseldorf

vorgelegt von

Michael Faßbach

2003

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.: Univ.-Prof. Dr. med. Dr. phil. Alfons Labisch, M. A.
Dekan

Referent: Prof. Dr. Schwartzkopff
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Schneider

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

1 EINLEITUNG

1.1 ***Einführung und WHO-Definition der Kardiomyopathien*** 1
1.1.1 Herzinsuffizienz und Kardiomyopathien 1
1.1.2 Die dilatative Kardiomyopathie 5
1.1.2.1 Definition und Epidemiologie 5
1.1.2.2 Klinik, Diagnose, Verlauf und Prognose 8
1.1.3 Aktueller Stand der Therapie der Herzinsuffizienz 12

1.2 ***Einführung in die Extrazellulärmatrix und den Kollagenstoffwechsel*** 20
1.2.1 Kollagensynthese 20
1.2.1.1 Stoffwechsel des C-terminalen Propeptids des Typ I-Prokollagens (PICP) 21
1.2.2 Kollagendegradation – Funktion und Regulationsmechanismen der Matrixmetalloproteinasen (MMP) 23
1.2.2.1 Stoffwechsel des C-terminalen Telopeptids des Typ I-Kollagens (ICTP) 33
1.2.3 Inhibition der Kollagendegradation und Tissue Inhibitor of Matrixmetalloproteinases (TIMP)/Matrixmetalloproteinasen (MMP)-Interaktion 34

1.3 ***Myokardiale Extrazellulärmatrix, Stoffwechsel und klinische Bedeutung*** 38
1.3.1 Die myokardiale Extrazellulärmatrix 38
1.3.2 Myokardiale Extrazellulärmatrix bei der DCM und Einfluß von MMP und TIMP auf die Erkrankung 41

1.4 ***Ziel der Untersuchung*** 43

2 UNTERSUCHUNGEN DER EXTRAZELLULÄRMATRIX BEI DER DILATATIVEN KARDIOMYOPATHIE

2.1 ***Patientenkollektiv*** 44
2.1.1 Gesamtkollektiv 44
2.1.2 Subkollektiv 45
2.1.3 Kontrollkollektiv 45
2.2 ***Material und Methoden*** 46
2.2.1 Blutentnahmen und Probenaufbereitung 46
2.2.2 ELISA-Untersuchungen 46
2.2.2.1 Human MMP-1 Immunoassay 46
2.2.2.2 Human TIMP-1 Immunoassay 47
2.2.2.3 Human MMP-1/TIMP-1 Complex Immunoassay 49
2.2.2.4 Matrixmetalloproteinase-9-Aktivitätsassay 50
2.2.2.5 Human MMP-3 Immunoassay 52
2.2.3 RIA-Untersuchungen 54
2.2.3.1 ICTP-Radioimmunoassay 54
2.2.3.2 PICP-Radioimmunoassay 55
2.2.4 Echokardiographische Untersuchungen 56
2.2.5 Herzkatheteruntersuchungen 56
2.2.6 Klinisches Follow-up 57
2.3 ***Statistik*** 58
2.4 ***Ergebnisse*** 59

2.4.1 Klinische Befunde ... 59
2.4.1.1 Gesamtkollektiv ... 59
2.4.1.2 Subkollektiv ... 59
2.4.2 Biochemische Marker des Typ I-Kollagenstoffwechsels bei dilatativer Kardiomyopathie bei Patienten mit DCM und Kontrollen ... 60
2.4.2.1 MMP-1-Serumkonzentrationen ... 60
2.4.2.2 TIMP-1-Serumkonzentrationen ... 60
2.4.2.3 MMP-1/TIMP-1-Komplex ... 61
2.4.2.4 $MMP\text{-}1_{frei}$/$TIMP\text{-}1_{frei}$-Ratio ... 62
2.4.2.5 ICTP-Serumkonzentration ... 62
2.4.2.6 PICP-Serumkonzentration ... 63
2.4.2.7 MMP-9-Aktivität ... 64
2.4.2.8 MMP-3-Serumkonzentrationen ... 64
2.4.2.9 Zusammenfassung der Ergebnisse ... 65
2.4.3 Korrelationen der Serummarker ... 66
2.4.3.1 Kontrollkollektiv ... 66
2.4.3.2 Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie ... 69

2.5 ***Klinisches Follow-up*** ... 76

3 DISKUSSION

3.1 ***Untersuchung des Typ-I-Kollagen-Stoffwechsels*** ... 79
3.2 ***Marker des Typ-I-Kollagen-Metabolismus und klinisches Follow up*** ... 85
3.3 ***Kritische Stellungnahme*** ... 87
3.4 ***Ausblick*** ... 90

4 ZUSAMMENFASSUNG 92

5 LITERATUR 95

6 ANHANG 112

6.1 ***Rohdaten (Tabellarisch)*** ... 112
6.2 ***Rohdaten der Follow-up-Untersuchung (Tabellarisch)*** ... 118
Danksagung ... 121
Lebenslauf ... 122
Abstract ... 125

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Ursachen der systolischen und diastolischen Herzinsuffizienz..... 3

Tabelle 2 WHO-Klassifikation der Kardiomyopathien..... 4

Tabelle 3 Übersicht über die derzeit bekannten MMPs und ihre Substrate..... 26

Tabelle 4 Matrixmetalloproteinasen mit einer potentiellen Relevanz zum myokardialen Remodeling..... 30

Tabelle 5 Induzierende/stimulierende und hemmende Faktoren der Kollagenase- und Stromelysinproduktion..... 32

Tabelle 6 Einschluß-/Ausschlußkriterien für Patienten der DCM-Gruppe..... 45

Tabelle 7 Charakteristika des Gesamtkollektivs..... 59

Tabelle 8 Charakteristika des DCM-Subkollektivs..... 59

Tabelle 9 Zusammenfassung der Ergebnisse (signifikante Unterschiede Patienten vs. Kontrollen)..... 65

Tabelle 10 Charakteristika der Gruppen A und B des Follow-ups..... 77

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Inzidenz der Herzinsuffizienz bezogen auf Alter und Geschlecht (Framingham-Studie, 40 Jahre-Follow-up)..... 1

Abbildung 2 Klassifikation der dilatativen Kardiomyopathie..... 5

Abbildung 3 Häufigkeit der familiären Form der dilatativen Kardiomyopathie im Heidelberger Kardiomyopathie Register..... 7

Abbildung 4 Überlebenskurven von unterschiedlichen Patientenkollektiven mit dilatativer Kardiomyopathie..... 10

Abbildung 5 Prognostische Wertigkeit unabhängiger Variablen und Letalität (%) nach einem Jahr (V-HeFt-II-Studie)..... 11

Abbildung 6 CONSENSUS-Studie: Einfluß von Enalapril auf die Mortalität..... 13

Abbildung 7 SOLVD-Studie: Einfluß von Enalapril auf die Gesamtmortalität..... 14

Abbildung 8 DIG-Studie: Effekte von Digoxin auf die Gesamtmortalität bei Patienten mit Herzinsuffizienz..... 18

Abbildung 9 Schematische Darstellung der Typ-I-Kollagensynthese und –degradation unter Berücksichtigung der Bruchstücke PICP und ICTP..... 22

Abbildung 10 Bedeutung der Kollagenasen und Gelatinasen für den Initialschritt der Degradation von fibrillärem Kollagen..... 25

Abbildung 11 Aktivierungskaskade der Matrixmetalloproteinasen..... 29

Abbildung 12 Kontrollmechanismen und Regulationsebenen der Matrixmetalloproteinasen..... 31

Abbildung 13 Regulation und Funktion von TIMP-1..... 35

Abbildung 14 Auswirkungen des MMP/TIMP-Verhältnisses auf die Extrazellulärmatrix (ECM)..... 36

Abbildung 16 Schematische Darstellung der lateral vernetzen Kardiomyozyten..... 39

Abbildung 17 Mittlere Gesamtkonzentrationen und freie Konzentrationen von MMP-1 in ng/ml bei Kontrollen und DCM..... 60

Abbildung 18 Mittlere Gesamtkonzentrationen und freie Konzentrationen von TIMP-1 in ng/ml bei Kontrollen und DCM..... 61

Abbildung 19 Mittlere Konzentrationen des MMP-1-/TIMP-1-Komplexes in ng/ml bei Kontrollen und DCM..... 61

Abbildung 20 $MMP\text{-}1_{frei}$/$TIMP\text{-}1_{frei}$-Ratio bei DCM und Kontrollen..... 62

Abbildung 21 Mittlere Serumkonzentrationen des carboxyterminalen Telopeptids des Typ-I-Kollagens in µg/l bei DCM und Kontrollpersonen..... 63

Abbildung 22 Mittlere Serumkonzentrationen des carboxyterminalen Propeptids des Typ-I-Prokollagens in µg/l bei DCM und Kontrollpersonen..... 63
Abbildung 23 Mittlere Konzentrationen der MMP-9-Gesamtkonzentration (ng/ml) bei Kontrollen und DCM..... 64
Abbildung 24 Mittlere Konzentrationen der MMP-3-Gesamtkonzentration [ng/ml] bei Kontrollen und DCM..... 65
Abbildung 25 Korrelation zwischen dem Alter und der ICTP-, PICP- und freien TIMP-1-Konzentration..... 67
Abbildung 26 Korrelation zwischen freier MMP-1 und freiem TIMP-1 in der Kontrollgruppe..... 68
Abbildung 27 Korrelation zwischen ICTP und PICP in der Kontrollgruppe..... 69
Abbildung 28 Korrelation zwischen dem Alter und der ICTP- und PICP-Konzentration bei DCM..... 69
Abbildung 29 Korrelation der freien MMP-1-Konzentration mit der freien TIMP-1-Konzentration bei DCM..... 70
Abbildung 30 Korrelation zwischen den TIMP-1-Konzentrationen und ICTP beziehungsweise PICP bei DCM-Patienten..... 71
Abbildung 31 Korrelationen zwischen $LVEDD_{KOF}$ und der freien MMP-1, der freien Ratio und ICTP..... 72
Abbildung 32 Korrelationen zwischen freier MMP-1/TIMP-1-Ratio und Herzindex, Ejektionsfraktion, linksventrikulärem enddiastolischem Druck und NYHA-Klassifikation..... 73
Abbildung 33 Korrelation zwischen EF und NYHA-Klasse..... 75
Abbildung 34 Flow chart der Follow-up-Ergebnisse..... 76
Abbildung 35 freie TIMP-1- und PICP-Serumkonzentrationen der Gruppen A und B zum Zeitpunkt t_0..... 78
Abbildung 36 freie MMP-1-Serumkonzentration der Gruppen A und B zum Zeitpunkt t_0..... 78

1 Einleitung

1.1 Einführung und WHO-Definition der Kardiomyopathien

1.1.1 Herzinsuffizienz und Kardiomyopathien

Die Herzinsuffizienz stellt eine der wesentlichen Ursachen für Frühinvalidität und lange, wiederholte stationäre Krankenhausaufenthalte, den plötzlichen Herztod und die Herztransplantation dar. Nach den Daten der Framingham-Studie sind etwa 1% der westlichen Bevölkerung betroffen [44]. Bei Patienten über 65 Jahren ist die chronische Herzinsuffizienz die häufigste Ursache der Hospitalisierung [69].

Die Prävalenz der klinisch gesicherten Herzinsuffizienz beträgt 3-20 Fälle/1.000 Einwohner, steigt aber mit zunehmendem Alter (≥ 65 Jahre) auf > 100 Fälle/1.000 Einwohner an [120]. Aufgrund der steigenden Lebenserwartung, des zunehmenden Alters der geburtenreichen Jahrgänge und der verbesserten Therapieoptionen wird von einer zunehmenden Bedeutung der Herzinsuffizienz ausgegangen. Dies ist auch unter dem Aspekt des steigenden Anteils der Therapiekosten an den Gesamtausgaben des Gesundheitssystems zu sehen. Die Prävalenz in Europa wird im Jahr 2010 bei annähernd 70% liegen [57].

Die jährliche Inzidenz beträgt bei Männern und Frauen im mittleren Alter etwa 0,1-0,2%. Mit jedem weiteren Lebensjahrzehnt verdoppelt sich die Inzidenz und liegt im Alter von >85 Jahren bei etwa 2-3% [120].

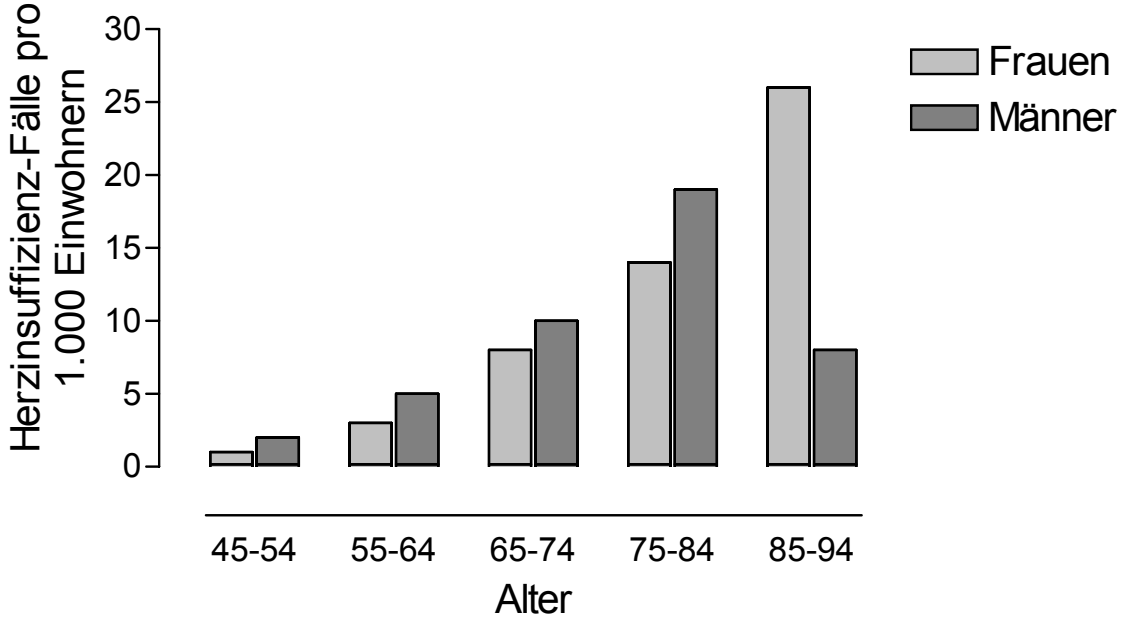


Abbildung 1.: Inzidenz der Herzinsuffizienz bezogen auf Alter und Geschlecht (Framingham-Studie, 40 Jahre-Follow-up) [85]

Die Prognose der Herzinsuffizienz ist noch immer schlecht und entspricht in vielen Fällen der eines onkologischen Krankheitsbildes. Die 5-Jahresüberlebensrate bei der Herzinsuffizienz beträgt etwa 25% für Männer und 38% für Frauen [75]. Trotz intensivierter Therapie hat sich die Überlebensrate in den letzten 50 Jahren nicht wesentlich verändert [75]. Die 1-Jahres-Sterblichkeit von Patienten mit einer schweren Herzinsuffizienz liegt bei etwa 50-60%.

Die Definition der Herzinsuffizienz war in den letzten siebzig Jahren einem ständigen Wandel unterworfen. Lewis definierte sie 1933 als „Zustand, bei der das Herz nicht in der Lage ist, das in den Herzhöhlen vorhandene Volumen adäquat auszuwerfen“ [34]. Fünfzig Jahre später beschrieben Denolin et al. [37] die Herzinsuffizienz als einen „Zustand einer Herzerkrankung jeglicher Genese, bei dem trotz adäquater Füllung das Schlagvolumen vermindert ist oder das Herz nicht in der Lage ist, ein notwendiges Herzzeitvolumen aufzubringen.“ Die European Society of Cardiology definierte 1995 die Herzinsuffizienz folgendermaßen: subjektive und objektive Symptome der kardialen Dysfunktion und Verbesserung derselben durch eine spezifische Therapie [34].
Die WHO [153] definiert die Herzinsuffizienz heute als Vorliegen einer eingeschränkten körperliche Belastbarkeit aufgrund einer nachweisbaren kardialen Funktionsstörung.
Bei einem Krankheitsverlauf über Wochen und Monate handelt es sich um eine chronische Herzinsuffizienz im Gegensatz zu einer akuten Insuffizienz, bei der die kardialen Funktionseinbußen im Verlauf von Minuten bis Stunden auftreten. Die häufigsten Ursachen der chronischen Herzinsuffizienz sind die koronare Herzkrankheit, arterielle Hypertonie, angeborene und erworbene Klappenvitien, Erkrankungen des Perikards, Erregungsbildungs- bzw. –leitungsstörungen, systemische Erkrankungen (z. B. Vaskulitiden) und primäre beziehungsweise sekundäre Kardiomyopathien [20]. In 13-18% der Fälle ist die dilatative Kardiomyopathie Ursache einer chronischen Herzinsuffizienz [120].

Bei der Herzinsuffizienz muß zwischen einer systolischen und einer diastolischen Insuffizienz unterschieden werden (Tabelle).

	systolische Herzinsuffizienz	diastolische Herzinsuffizienz
Ursache	▪ arterielle Hypertonie ▪ koronare Herzerkrankung ▪ dilatative Kardiomyopathie ▪ Myokarditis ▪ Herzvitien ▪ diabetische Kardiopathie ▪ toxischer Schaden	▪ arterielle Hypertonie ▪ hypertrophische Kardiomyopathie ▪ restriktive Kardiomyopathie ▪ diabetische Kardiopathie ▪ Amyloidose ▪ (transiente) Ischämie bei Makro- oder Mikroangiopathie

Tabelle 1: Ursachen der systolischen und diastolischen Herzinsuffizienz (aus: [73])

Kardiomyopathien sind Herzmuskelerkrankungen, die mit einer kardialen Dysfunktion einhergehen und nicht durch eine koronare Herzkrankheit, eine Hypertonie, eine Lungenerkrankung oder ein angeborenes oder erworbenes Vitium bedingt sind. In der Vergangenheit wurden primäre Kardiomyopathien als „Erkrankungen des Herzmuskels unklarer Ätiologie“ [154] definiert und von den spezifischen Herzmuskelerkrankungen mit bekannter Ätiologie abgegrenzt. Mit wachsendem Verständnis und zunehmender Kenntnis pathophysiologischer Vorgänge wurde die Grenze zwischen primären und spezifischen Kardiomyopathien zunehmend unschärfer. Dieses führte 1996 zu einer Neueinteilung der Kardiomyopathien.
Diese werden heute nach der WHO-ISFC task force [156] definiert als Erkrankungen des Herzmuskels mit kardialer Dysfunktion. Sie werden überwiegend nach der Ätiologie in primäre (unbekannt) und sekundäre (wahrscheinliche Ursache) Kardiomyopathien und nach morphologischen Kriterien unterteilt. Diesbezüglich wurde die ursprüngliche Einteilung in die Formen dilatative (DCM), hypertrophe (HCM) und restriktive Kardiomyopathie (RCM) und nicht-klassifizierbare Kardiomyopathien beibehalten und durch die arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARVC) ergänzt.

Der Begriff der spezifischen Kardiomyopathie beschreibt alle Herzmuskelerkrankungen, die mit einer kausal nachvollziehbaren kardialen oder systemischen Dysfunktion einhergehen und auf eine bekannte Ätiologie beziehungsweise Pathogenese zurückzuführen sind. Klinisch entsprechen sie häufig dem Bild einer dilatativen Kardiomyopathie.
Die häufigste Form der spezifischen Kardiomyopathien ist die ischämische Kardiomyopathie; eine Kardiomyopathie mit eingeschränkter Kontraktilität, die nicht durch die Angiopathie oder Ischämie alleine begründet ist. Die hypertensive Kardiomyopathie, die häufig eine linksventrikuläre Hypertrophie aufweist und sich bei DCM als systolische Dysfunktion manifestiert und die valvuläre Kardiomyopathie gehören wie auch die inflammatorische Kardiomyopathie,

die definiert ist als eine akute oder chronische Myokarditis mit kardialer Dysfunktion, in die Gruppe der spezifischen Kardiomyopathien.

Eine weitere spezifische Kardiomyopathie ist die metabolische Kardiomyopathie, die endokrinologische Störungen, Speicherkrankheiten, Mangelerkrankungen oder eine Amyloidose zur Ursache haben kann.

Kardiomyopathien, die mit generalisierten Systemerkrankungen, Muskeldystrophien und neuromuskulären Störungen einhergehen, werden ebenso wie die hyperergische und toxische Kardiomyopathie und die peripartalen Kardiomyopathien in der Gruppe der spezifischen Kardiomyopathien subsumiert.

dilatative Kardiomyopathie	idiopathische Kardiomyopathie familiäre/hereditäre Kardiomyopathie entzündliche Kardiomyopathie Sonderformen
hypertrophe Kardiomyopathie	hypertrophe obstruktive Kardiomyopathie (HOCM) hypertrophe nichtobstruktive Kardiomyopathie (HNCM)
restriktive Kardiomyopathie	primär restriktive Kardiomyopathie sekundär restriktive Kardiomyopathie
arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARVC)	
Bisher nicht klassifizierte Kardiomyopathie	Fibroelastose systolische Kontraktionsstörung ohne Ventrikeldilatation mitochochondriale Kardiomyopathie
spezifische Kardiomyopathien	ischämische Kardiomyopathie valvuläre Kardiomyopathie hypertensive Kardiomyopathie inflammatorische Kardiomyopathie Kollagenosen toxische Kardiomyopathien (Alkohol, Medikamente, Urämie) Stoffwechsel- und endokrinologische Erkrankungen (Hyper-/Hypothyreose, Phäochromozytom, Nebennierenrindeninsuffizienz, Amyloidose, Diabetes mellitus, familiäre Speicherkrankheiten, Hypo-/Hyperkaliämie, Hypomagnesiämie, Mangelsyndrome) hyperergisch-allergische Kardiomyopathien neuromuskuläre Erkrankungen peripartale Kardiomyopathie tachykardieinduzierte Kardiomyopathien physikalische Myokardschädigung (Bestrahlung, Trauma,etc.)

Tabelle 2: WHO-Klassifikation der Kardiomyopathien [156]

1.1.2 Die dilatative Kardiomyopathie

1.1.2.1 Definition und Epidemiologie

Die dilatative Kardiomyopathie (DCM) stellt mit 60% den höchsten Anteil aller primären und sekundären Formen der Kardiomyopathie dar [217] und ist definiert als eine Herzmuskelerkrankung, die zu einer Dilatation eines oder beider Ventrikel führt und durch eine Einschränkung überwiegend der systolischen aber auch der diastolischen Ventrikelfunktion charakterisiert ist [64]. Die dilatative Kardiomyopathie kann verschiedene Ätiologien haben, die aber annähernd das gleiche klinische Bild machen.

Da die Ventrikeldilatation und die ventrikuläre Dysfunktion Folge verschiedenster erworbener und hereditärer Ursachen sein können, ist die Differenzierung zwischen der idiopathischen (= primären) und der sekundären DCM bezüglich der prognostischen und therapeutischen Auswirkungen elementar wichtig.

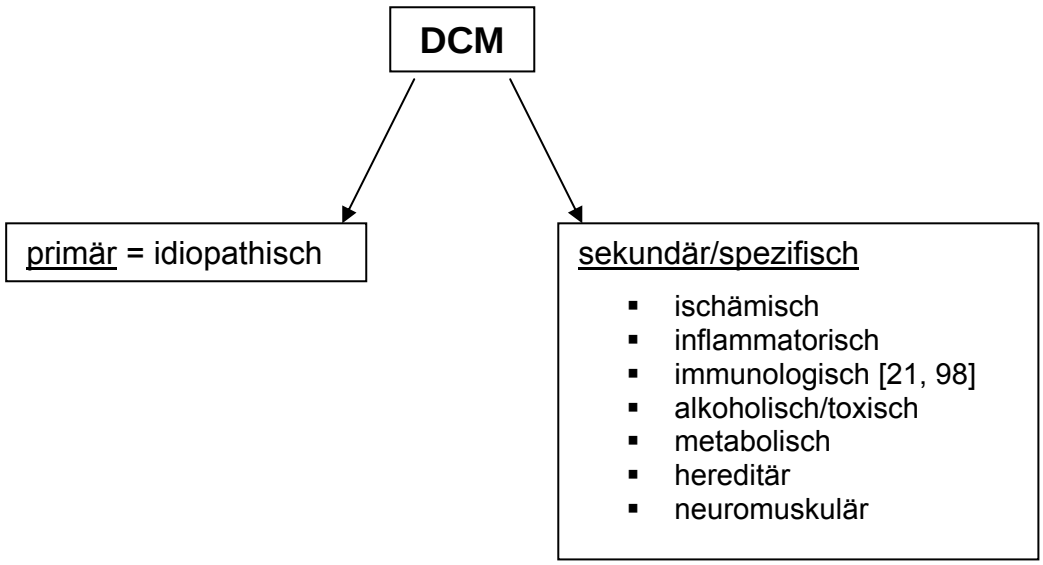


Abbildung 2: Klassifikation der dilatativen Kardiomyopathie [156, 35]

Bei etwa 35% der Betroffenen mit idiopathischer DCM ist eine familiäre Häufung erkennbar [65]. Obwohl die Erkrankung genetisch sehr heterogen ist, scheint in den meisten Fällen ein autosomal-dominanter Erbgang vorzuliegen [123]. Neben dem autosomal-dominanten Erbgang werden auch autosomal-rezessive [88], X-chromosomal-rezessive [195] und mito-

chondriale [176] Vererbungsmuster beschrieben. Als molekulare Ursache der DCM sind bisher neben einer Veränderung im Bereich des Angiotensin-Converting-Enzym (ACE) DD-Genotyps [151] und Mutationen der für die Fettsäureoxidation kodierenden Gene auch Mutationen am Xp21-Locus des Dystrophingens (Basenaustausch im Exon 29) bekannt. Neben der Mutation am Xp21-Locus können noch andere Mutationen des Dystrophingens das klinische Bild einer DCM verursachen. X-chromosomal vererbte dilatative Kardiomyopathien finden sich auch bei der Muskeldystrophie Typ Duchenne und Becker [64, 128, 195]. Bei der autosomal-rezessiv vererbten Schulter-Beckengürtel-Dystrophie 2 kommt es in etwa 5% der Fälle zu einer gleichzeitig auftretenden dilatativen Kardiomyopathie.

Diese Gendefekte können zum einen den Verlust der kardialen Dystrophinexpression [53] und zum anderen eine Konformationsänderung des kardialen Proteins zur Folge haben. Die Bedeutung des Dystrophins an der Pathogenese der DCM ergibt sich aus der physiologischen Funktion des Proteins. Dystrophin interagiert mit anderen Proteinen der Extrazellulärmatrix und wird als Bestandteil des Zytoskeletts wie in anderen Myozyten, so auch in den Kardiomyozyten, in den T-Tubuli exprimiert [164].
Infiltrative Prozesse im Rahmen einer Amyloidose können ebenso wie die intrazellulären Speichererkrankungen M. Fabri mit Akkumulation von Ceramidtrihexosid, M. Gaucher (Sphingolipidose), M. Pompe und die Hämochromatose Ursache einer dilatativen Kardiomyopathie in den späten Stadien sein. Dabei stehen die Infiltration mit Wandverdickung und eine Compliancestörung am Anfang, die Ventrikeldilatation mit linksventrikulären Pumpstörungen am Ende der Erkrankung [126].

Ein typisches Beispiel für eine Mutation im Bereich des mitochondrialen Genoms ist das Kearns-Sayre-Syndrom, welches mit Reizleitungsstörungen, Ophthalmoplegien, einer Retinopathie und fakultativ mit einer dilatativen Kardiomyopathie einhergeht [165].

Die Anzahl der hereditär verursachten dilatativen Kardiomyopathien ist im Vergleich zum Gesamtkollektiv der Erkrankten relativ gering.

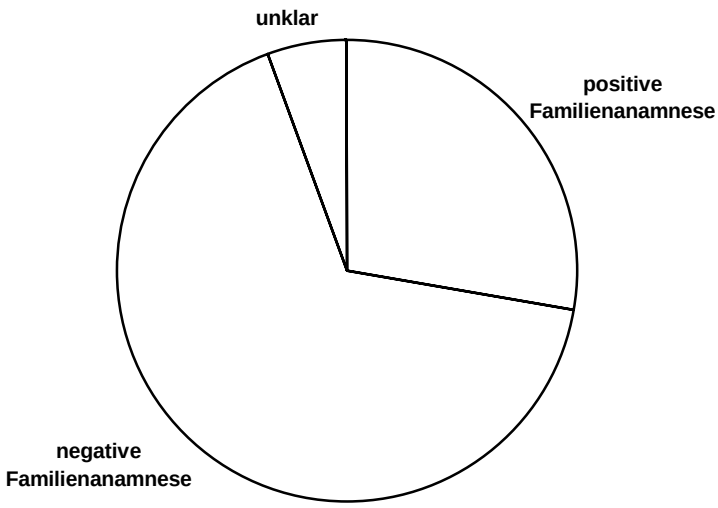


Abbildung 3: Häufigkeit der familiären Form der dilatativen Kardiomyopathie im Heidelberger Kardiomyopathie Register [64]

Häufiger tritt das Krankheitsbild als Folge einer Virusinfektion und/oder pathologischer Immunmechanismen [21, 98] auf. Verschiedene Studien, die in den letzen 35 Jahren durchgeführt wurden, konnten in 8 bis 36% der Fälle einer nachgewiesenen Myokarditis einen Übergang in eine DCM nachweisen [60, 106, 152, 154, 175]. Im Mittel entwickeln 11% der in der Literatur beschriebenen Patienten in einem Zeitraum von 6 Monaten bis 7 Jahren eine dilatative Kardiomyopathie [166]. Es konnte gezeigt werden, daß bei durchschnittlich 25% der Patienten mit Myokarditis und dilatativer Kardiomyopathie der Nachweis von Enteroviren gelingt [184].

Bleibt die Ursache der myokardialen Schädigung ungeklärt, spricht man von der idiopathischen dilatativen Kardiomyopathie. Zu den idiopathischen Kardiomyopathien zählen auch die Kardiomyopathien, die im Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen auftreten, sofern die Grunderkrankung das Ausmaß der myokardialen Dysfunktion nicht hinreichend erklären kann [164].

Betrachtet man die Gesamtheit aller Patienten mit Herzinsuffizienz, so leiden etwa 30% an einer idiopathischen dilatativen Kardiomyopathie [2].

Die jährliche Inzidenz der dilatativen Kardiomyopathie beträgt 5-8 pro 100.000, die Prävalenz 36 pro 100.000. Die Anzahl der Todesfälle infolge einer dilatativen Kardiomyopathie liegt bei 10.000 pro Jahr.
Die Mortalität beträgt 5-15% pro Jahr. Männer weisen gegenüber Frauen und der farbigen Bevölkerung ein 2,5fach höheres Erkrankungsrisiko auf [35].

1.1.2.2 Klinik, Diagnose, Verlauf und Prognose

Die dilatative Kardiomyopathie manifestiert sich bei 75-85% der Patienten initial mit den typischen Symptomen der Herzinsuffizienz im Alter von 20-50 Jahren. Hierzu gehören vor allem herabgesetzte Belastbarkeit, progrediente Belastungsdyspnoe, eventuell Orthopnoe und paroxysmale nächtliche Dyspnoe. Bereits 86% der Patienten leiden initial unter einer Belastungsdyspnoe, 30% unter Palpitationen und 29% unter peripheren Ödemen. Initial leiden 8-20% der Betroffenen unter belastungsabhängigen thorakalen Schmerzen. In vielen Fällen liegt bei der Erstmanifestation bereits eine höher- bis hochgradige Insuffizienz mit Symptomen der New York Heart Association (NYHA)-Klasse III bis IV vor [35].

Zur Diagnosestellung werden invasive und nicht-invasive Verfahren kombiniert. Die 2-D-Echokardiographie in Verbindung mit der M-mode- und der Doppler-Echokardiographie ist die wichtigste nicht-invasive Untersuchungsmethode in der primären Diagnostik. Die Echokardiographie eignet sich außerdem sehr gut zur Verlaufskontrolle. Im bewegten Echtzeitbild kann die links-, eventuell auch die rechtsventrikuläre Dilatation quantifiziert werden. Zusätzlich ist eine Ausdünnung der Ventrikelwände erkennbar. Die Ventrikelkontraktilität ist bei der dilatativen Kardiomyopathie global eingeschränkt. Zum Teil finden sich regionale dys-, hypo- oder akinetische Areale.
Da die DCM eine Ausschlußdiagnose darstellt, muß grundsätzlich bei unklarer links-/rechtsventrikulärer Funktionsstörung eine Linksherzkatheteruntersuchung mit Darstellung der Koronararterien durchgeführt werden, um eine koronare Makroangiopathie als Ursache der kardialen Dysfunktion auszuschließen. Bei der idiopathischen dilatativen Kardiomyopathie liegt definitionsgemäß keine Stenosierung der Koronararterien vor. Mit Hilfe des Linksherzkatheters besteht darüber hinaus die Möglichkeit, die Kontraktionsstörung ventrikulographisch zu quantifizieren. Im Rahmen einer gegebenenfalls durchzuführenden Rechtsherzkatheteruntersuchung können Myokardbiopsien entnommen und zum Ausschluß eines

inflammatorischen und/oder infiltrativen Prozesses histomorphologisch, immunhistochemisch beziehungsweise molekularbiologisch untersucht werden [164].

Im Verlauf der DCM kommt es zu einer exzentrischen Ventrikelhypertrophie, vorwiegend des linken Ventrikels, die mit einer systolischen Pumpfunktionsstörung einhergeht.
Beim gesunden Herzen führt die Zunahme des enddiastolischen Volumens zu einer Zunahme des Auswurfvolumens (Frank-Starling-Mechanismus). Beim muskulär geschädigten Herzen ist es aufgrund der Dilatation noch möglich, daß bei erhöhter Wandspannung bis zu einem gewissen Füllungsgrad des Ventrikels ein normales Schlagvolumen mit geringerer Faserverkürzung gefördert wird.
Die erhöhte Wandspannung beziehungsweise der erhöhte enddiastolische Druck (LVEDP) wird als eine Ursache für eine Hypertrophie angesehen. Der myokardiale Sauerstoffverbrauch steigt an.

Infolge der zunehmenden Fibrosierung des Myokards ist eine Abnahme der Compliance möglich. Durch die systolische Pumpfunktionsstörung kommt es zunächst zu einem reduzierten Herzzeitvolumen unter Belastung, später auch in Ruhe. Die Ejektionsfraktion (EF) ist insgesamt reduziert. Der enddiastolische Druck kann normal oder erhöht sein und korreliert nicht mit dem Ausmaß der Dilatation. Das EKG zeigt keine spezifischen Veränderungen. Im Verlauf der Erkrankung kann es zur Ausbildung eines AV-Blocks, zum Schenkelblock (Linksschenkelblock in 33%, Repolarisierungsstörungen in 5-10% der Fälle), zur Niedervoltage, ferner in 33% zum Vorhofflimmern und in 27% zu ventrikulären Extrasystolen der Klasse Lown IVb kommen.

Röntgenologisch ist das Herz bei 73% aller Patienten vergrößert. Bei 58% der Patienten finden sich pulmonale Stauungszeichen. Der enddiastolische Durchmesser des linken Ventrikels (LVEDD) beträgt definitionsgemäß mehr als 55 mm, im Mittel etwa 67 mm [64].

Die klinische Entwicklung einer DCM nach Erstmanifestation ist bezüglich der Geschwindigkeit oder der Art der Progredienz nur schlecht vorhersagbar. Der klinische Zustand der meisten Patienten verschlechtert sich rasch, so daß die meisten Patienten innerhalb weniger Jahre nach Diagnosestellung versterben.
Zwischen 50 und 80% aller Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie sterben an den Folgen eines plötzlichen Herztodes, in der Regel infolge einer malignen ventrikulären Arrhythmie [64].
Die Letalität von Patienten mit Verdacht auf idiopathische dilatative Kardiomyopathie im ersten Jahr beträgt nach der V-HeFt I und II Studie [27, 28] und den epidemiologischen Unter-

suchungen von Anderson et al. [2] zwischen 12,6 und 17%. Die Fünfjahresüberlebensrate beträgt etwa 43%.

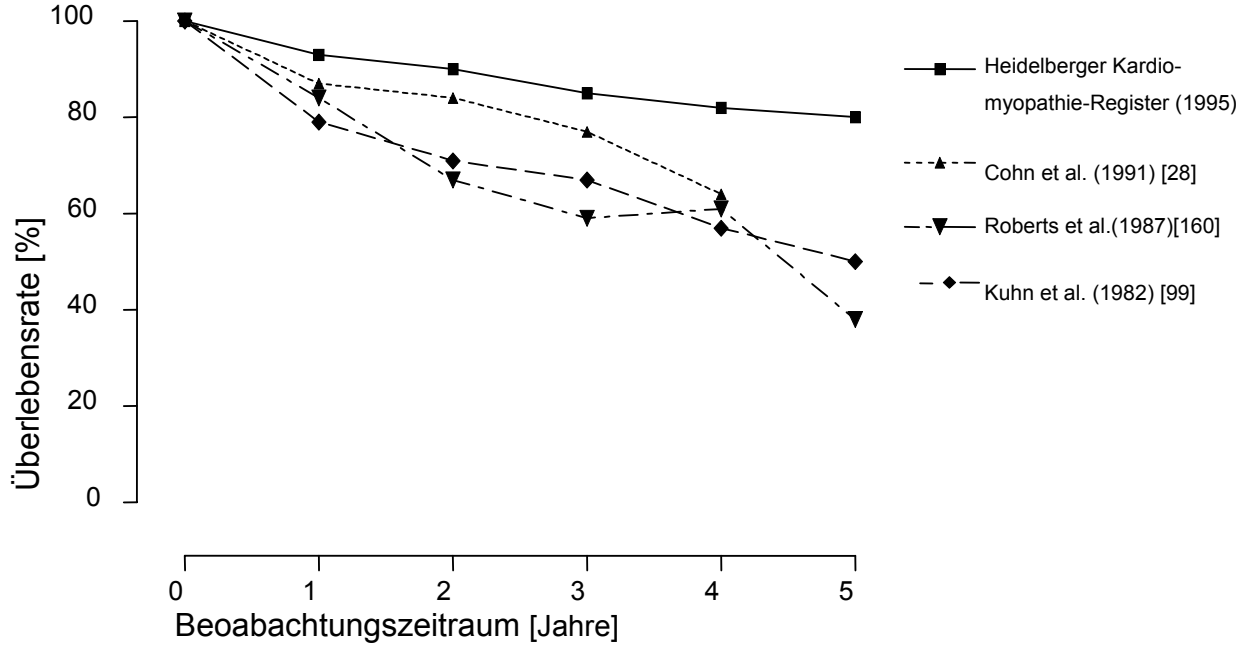


Abbildung 4: Überlebenskurven von unterschiedlichen Patientenkollektiven mit dilatativer Kardiomyopathie [64]

Die Art der medikamentösen Therapie scheint ebenso keinen grundlegenden Einfluß auf das Überleben zu haben, wie vorangegangene Symptome, persistierende Virusinfektionen, positive Familienanamnese, vorangegangene Schwangerschaften oder Alkoholabusus.

Es ist aber bekannt, daß Patienten, die eine schlechte Prognose haben, einen höheren linksventrikulären enddiastolischen Druck (LVEDP), größere endsystolische und enddiastolische Volumina (LVESV beziehungsweise LVEDV) und eine niedrigere Ejektionsfraktion (EF) aufwiesen als Vergleichspersonen. Es besteht eine signifikante negative Korrelation zwischen dem LVEDP und der Überlebenszeit [39]. Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion und der linksventrikuläre systolische Druck sind weitere unabhängige Prädiktoren für den kardialen Tod [168].

Das signalgemittelte EKG erlaubt als nicht-invasives Diagnostikum eine Identifikation von Kardiomyopathiepatienten mit einem hohen Risiko für ventrikuläre Tachykardien. Die Vorhersagekraft für den plötzlichen Herztod bleibt aber dennoch unklar. Bei etwa 50% der Patienten treten vor dem finalen ventrikulären Ereignis Bradykardien auf. Klinische und hämodynamische Parameter wie die linksventrikuläre Ejektionsfraktion, der maximale Sauerstoff-

verbrauch und die Herz-Thorax-Ratio im Röntgenbild korrelieren untereinander locker. Die Häufigkeit komplexer ventrikulärer Arrhythmien wurde in der V-HeFt-II-Studie als weiterer prognostischer Faktor beschrieben. Die Prognose für Patienten mit schweren Rhythmusstörungen der Klasse Lown IVb ist schlechter, als die für Patienten mit Arrhythmien der Klasse Lown I-IVa.

Die Prädiktoren wirken bei der Risikoabschätzung additiv [64].

Cohn et al. verdeutlichten diesen additiven Charakter der Prädiktoren anhand der Ejektionsfraktion und der Sauerstoffaufnahme (VO_2). Die maximale VO_2 ist ein Kriterium der körperlichen Leistungsfähigkeit und die Zunahme des Herzzeitvolumens unter Belastung. Bei kardialen Erkrankungen ohne pulmonale Begleitsymptomatik ist die VO_2 aufgrund des unzureichenden Anstiegs des Herzzeitvolumens erniedrigt. Eine sehr schlechte Prognose mit hoher Letalität haben demnach Patienten mit einer niedrigen linksventrikulären Ejektionsfraktion und einem unzureichenden Anstieg des Herzzeitvolumens unter Belastung. Hier liegt die Letalität nach einem Jahr bei circa 18%.

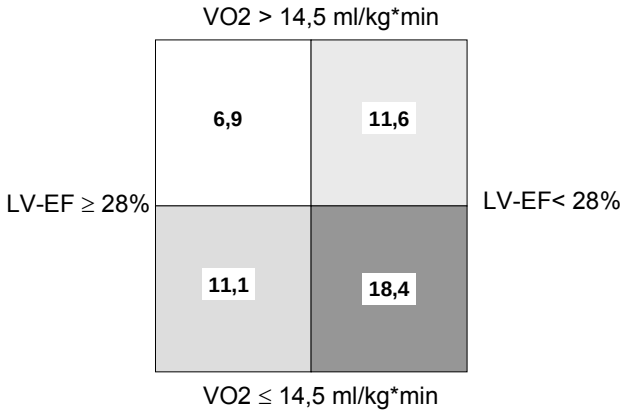


Abbildung 5: Prognostische Wertigkeit unabhängiger Variablen und Letalität (%) nach einem Jahr, V-HeFt-II-Studie (Cohn et al. [29]) Abkürzungen: LV-EF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion; VO2 = max. Sauerstoffaufnahme [aus: 64]

Zusammengefaßt zeigen die Studien der vergangenen Jahre, daß LVEF, kardiales Noradrenalin-„spillover“, Plasmanoradrenalinspiegel, BNP, VO_{2max}, Alter und das Auftreten von höhergradigen ventrikulären Arrhythmien die besten multivariaten Prädiktoren zur Risikoabschätzung sind [46].

1.1.3 Aktueller Stand der Therapie der Herzinsuffizienz

Die Therapie der Herzinsuffizienz hat verschiedene Ziele. Oberste Priorität hat die kausale Therapie bei reversibel eingeschränkter systolischer Funktion, zum Beispiel Revaskularisierung, Klappenrekonstruktion beziehungsweise –ersatz.
Weitere Ziele sind unter anderem die Verbesserung der Lebensqualität auf der einen und die Verlängerung der Lebensdauer auf der anderen Seite.

Die moderne Therapie der Herzinsuffizienz ist auf die Entlastung des Herzens und die Reduktion der neurohumoralen Aktivierung (Renin-Angiotensin-Aldosteron-System, Katecholamine) ausgerichtet.
Die Ziele der Therapie sind:

a) Verbesserung der Lebenserwartung und Reduktion der Mortalität
b) Steigerung der körperlichen Belastbarkeit
c) Verbesserung der Lebensqualität und Senkung der Morbidität
d) Verlangsamung/Verhinderung der Progression der Erkrankung
e) Reduktion der Hospitalisierungsrate
f) Senkung der neurohumoralen Dysbalancen

Diese Ziele werden überwiegend durch eine pharmakologische Therapie erreicht.
Basierend auf neuen pathophysiologischen Sichtweisen der Herzinsuffizienz haben sich die Therpieoptionen in den letzten Jahren grundlegend geändert.
Zur Zeit bestimmen im wesentlichen sechs Pharmakongruppen die Therapie der chronischen Herzinsuffizienz: ACE-Hemmer, Diuretika, Betarezeptorenblocker, Aldosteron-Antagonisten, Digitalisglykoside und eventuell Antikoagulantien.

ACE-Hemmer
ACE-Hemmer blockieren das Angiotensin-Konversions-Enzym (ACE), das mit Kininase II identisch ist und Angiotensin I in Angiotensin II umwandelt. Gleichzeitig wird durch das Konversions-Enzym der Abbau des vasodilatorischen Bradykinins gehemmt und die Prostazyklinsynthese stimuliert.
ACE-Hemmer führen folglich zu einer Abnahme der Konzentration von Angiotensin II und einer Zunahme von Bradykinin und Prostaglandinen.

ACE-Hemmer führen zu einer Abnahme des systemischen Gefäßwiderstandes und damit zu einer Senkung der Nachlast. Durch die venöse Dilatation kommt es gleichzeitig zu einer Abnahme der rechts- und linksventrikulären Füllungsdrucke. Eine reflektorische Sympathikusaktivierung mit peripherer Katecholaminfreisetzung bleibt bei der Gabe von ACE-Hemmern aus.

In großen randomisierten klinischen Studien konnte gezeigt werden, daß ACE-Hemmer einen positiven Effekt auf das Überleben der Patienten haben und die Anzahl der kardial bedingten Klinikaufenthalte verringern können. In vielen Fällen kam es auch zur Reduktion einer vorbestehenden Dyspnoesymptomatik, zu einer Zunahme der körperlichen Belastbarkeit und einer Verbesserung der ventrikulären Funktion.

Neben einer symptomatischen Besserung zeigte die CONSENSUS-I-Studie, daß Enalapril zu einer Verlangsamung der Progression der schweren Herzinsuffizienz und zu einem Rückgang der Sterblichkeit um 50% führt. Enalapril führte zu einer Abnahme der Herzgröße und einer Reduktion der notwendigen Komedikation [187].

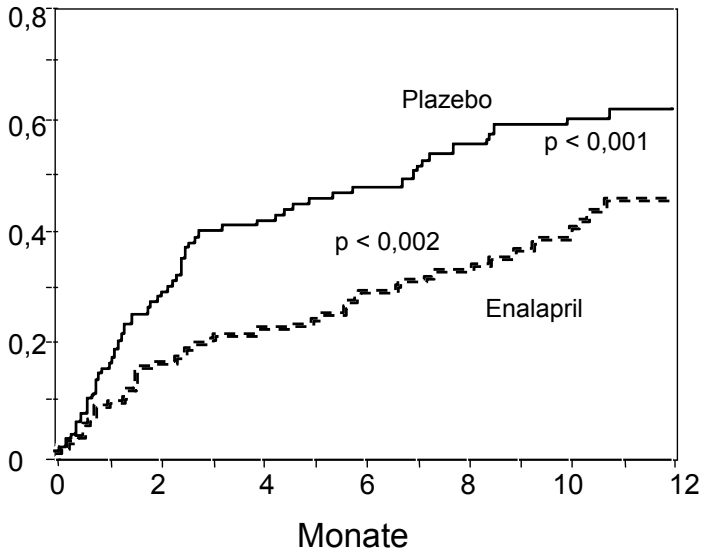


Abbildung 6: CONSENSUS-Studie: Einfluß von Enalapril auf die Mortalität [187]

Andere Studien, die an weniger symptomatischen Patienten durchgeführt worden waren, konnten ebenfalls den positiven Effekt der ACE-Hemmung bei chronischer Herzinsuffizienz

zeigen. Die SOLVD-Studie zeigte bei Patienten der NYHA-Klassen II-III und einer niedrigen linksventrikulären Ejektionsfraktion einen Rückgang der Mortalität und Hospitalisierungshäufigkeit bei zusätzlicher Gabe von Enalapril [189].

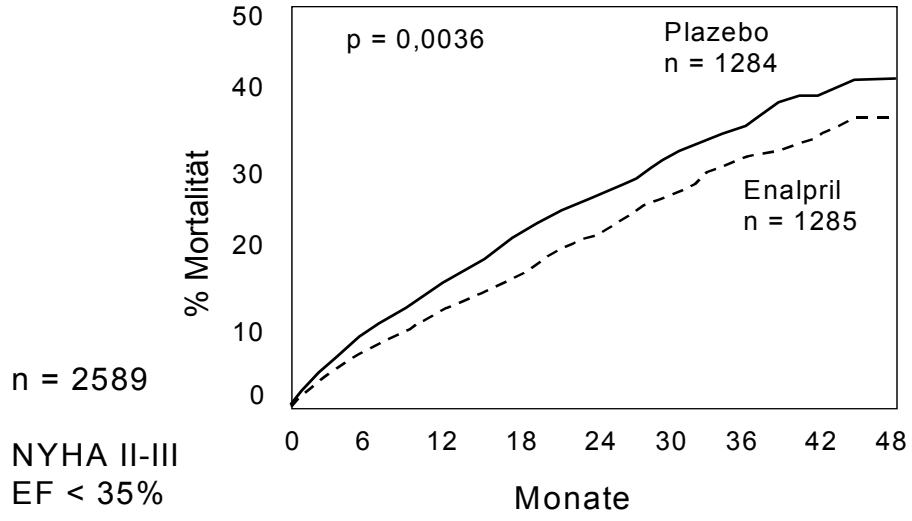


Abbildung 7: SOLVD-Studie: Einfluß von Enalapril auf die Gesamtmortalität [189]

Die SOLVD-Studie zeigte, daß der positive Effekt von Enalapril unabhängig von der Ätiologie und der Schwere der Herzinsuffizienz sowie der begleitenden Therapie mit Vasodilatoren, Diuretika und Digitalisglykosiden auftritt. Auch bei asymptomatischen Patienten (NYHA-Klasse I) wurde eine verminderte Sterblichkeit um 27% nachgewiesen. Demnach beeinflussen ACE-Hemmer die progrediente Verschlechterung der linksventrikulären Funktion in jeder Phase der Herzinsuffizienz günstig.

Da ACE-Hemmer sowohl zu einer symptomatischen Besserung als auch zu einer Verbesserung der Lebenserwartung führen, werden sie heute als Standardtherapeutikum schon in einem frühen Stadium der Herzinsuffizienz gegeben.

Der Frage der Dosierung wurde in der 1998 veröffentlichten ATLAS-Studie nachgegangen. Bei 3000 Patienten der NYHA-Klassen II-IV und einer Auswurffraktion von 30% oder weniger wurden die Effekte einer niedrigdosierten Lisinopril-Gabe (2,5-5 mg/Tag) mit denen einer hochdosierten Gabe (32,5-35 mg/Tag) verglichen. Es zeigte sich, daß die hochdosierte Gabe mit einer geringeren Rate von Krankenhausaufenthalten von Vorteil ist [76].

Angiotensin-Rezeptor-Antagonisten (AT_1-Rezeptor-Blocker)

Im Rahmen der ELITE-I-Studie wurden die Wirkungen auf die Nierenfunktion der ACE-Hemmer Captopril und der Angiotensin-Rezeptor-Antagonisten Losartan bei Patienten (> 65 Jahre) der NYHA-Klassen II-IV verglichen [147]. Unter einer Therapie mit Losartan zeigte sich eine signifikante Verbesserung der Prognose. Die insgesamt geringere Sterblichkeit konnte überwiegend auf die geringere Anzahl plötzlicher Todesfälle zurückgeführt werden. Im Rahmen der ELITE-II-Studie wurden die Effekte des Losartans auf die Sterblichkeit bei einem größeren Patientenkollektiv (3152 vs. 722 bei ELITE-I) überprüft. Hier zeigte sich, daß Losartan bezüglich des Überlebens keine signifikanten Vorteile gegenüber dem Captopril aufwies. Losartan wurde hingegen signifikant besser toleriert als der ACE-Hemmer [148].

In der RESOLVD-Studie wurden Candesartan, Enalapril oder die Kombination beider Wirkstoffe über 43 Wochen an 768 Patienten der NYHA-Klassen II-IV und einer Ejektionsfraktion unter 40% untersucht. Bezogen auf die Verbesserung der Hämodynamik und der Belastbarkeit zeigten Candesartan und Enalapril keine Unterschiede. Die Kombinationstherapie führte zu einer deutlichen Reduktion von Aldosteron, was ein Zeichen für eine vollständigere Hemmung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems ist, als es bei der Monotherapie möglich ist. Die Kombination des ACE-Hemmers mit dem AT_1-Rezeptor nimmt einen günstigeren Einfluß auf das linksventrikuläre Remodeling und die progrediente linksventrikuläre Dilatation als die alleinige Therapie mit einer der beiden Substanzen [119].

Die im Jahre 2001 publizierte Val-HeFT-Studie konnte zeigen, daß bei Patienten der NYHA-Klassen II bis IV die Gabe von 2 mal 160mg Valsartan zu einer bestehenden Therapie mit entweder ACE-Hemmern oder Betarezeptorenblockern die Hospitalisierungsrate, die Morbidität und Mortalität vermindert. Ferner kommt es zu einer signifikanten Verbesserung der Belastbarkeit, der Ejektionsfraktion und der Beschwerdesymptomatik. Eine Dreierkombination bestehend aus AT_1-Antagonist, ACE-Hemmer und Betarezeptorenblocker zeigte hingegen nachteilige Effekte auf die Morbidität und Mortalität.

Aldosteron-Antagonisten

Es wird vermutet, daß Aldosteron nicht nur durch seine klassische mineralokortikoide Wirkung an der Entwicklung der Herzinsuffizienz beteiligt ist, sondern auch direkte kardiale Wirkungen durch Bindung an kardiale Aldosteron-Rezeptoren hervorruft. Durch Bindung von Aldosteron an den Rezeptor kommt es zur Stimulation von Kardiofibroblasten und konsekutiv zur Fibrosierung [13, 16].

In der RALES-Studie wurde die Wirkung der zusätzlichen Gabe des Aldosteronantagonisten Spironolacton auf das Überleben chronisch herzinsuffizienter Patienten untersucht. In die

Studie wurden nur Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz (NYHA-Klassen II-IV) und einer Ejektionsfraktion von unter 40% eingeschlossen, die bereits unter einer Therapie mit ACE-Hemmern, Schleifendiuretika und gegebenenfalls Digitalisglykosiden standen. Nach einer mittleren Therapiedauer von 2 Jahren wurde die Studie aufgrund einer hochsignifikanten Reduktion der Mortalität von 30% unter Spironolacton vorzeitig abgebrochen. Unter Spironolacton-Therapie kam es zu einer signifikanten Verbesserung der Belastbarkeit und Verringerung der Hospitalisierungsnotwendigkeit [148].

Betarezeptorenblocker

Die Therapie mit Betarezeptorenblockern bei der chronischen Herzinsuffizienz führt trotz der negativen chronotropen und inotropen Wirkung zu einer Verbesserung der linksventrikulären Funktion in Ruhe und unter Belastung [135]. Die positiven Effekte der Betarezeptorenblockade bei Herzinsuffizienz zeigten sich bereits in den 70er Jahren [172]. Die ersten durch Studien gesicherten Ergebnisse folgten erst später. Die zwei größten Multizenterstudien (CIBIS-II und MERIT-HF) belegten eindeutig, daß Betarezeptorenblocker die Lebenserwartung von Patienten mit Herzinsuffizienz günstig beeinflussen können [24, 122]. In die CIBIS-II-Studie wurden Patienten der NYHA-Klassen III und IV mit einer Ejektionsfraktion unter 35% eingeschlossen. Die Patienten der MERIT-HF-Studie hingegen wiesen einen geringeren Schweregrad auf (NYHA II-IV, EF < 40%). Beide Studien wurden nach Ablauf eines Jahres vorzeitig beendet, da die positiven Ergebnisse der Bisoprolol- oder Metoprololtherapie evident waren. Die zusätzliche Therapie mit einem Betarezeptorenblocker zur bestehenden Insuffizienztherapie konnte neben der Rate der notwendigen Klinikaufenthalte vor allem die Mortalität um ein weiteres Drittel reduzieren.

Die multizentrische US-Carvedilol-Studie mit dem Betablocker Carvedilol, der neben der betablockierenden Wirkung zusätzlich zu einer Alpha-1-Blockade führt, wurde ebenfalls vorzeitig beendet, da die Mortalität deutlich gesenkt wurde [5, 138]. Der positive Effekt von Betarezeptorenblockern in Kombination mit ACE-Hemmern und Diuretika auf die Mortalität bei schwerer Herzinsuffizienz im NYHA-Stadium III-IV und einer Ejektionsfraktion von $\leq$ 25% wurde auch mit der COPERNICUS-Studie belegt. Hier senkte Carvedilol die jährliche Mortalität um 35% [45, 140].

In Bezug auf die dilatative Kardiomyopathie wurde 1993 die Metoprolol in Dilated Cardiomyopathy Trial-Studie (MDC) [203] vorgelegt. Aus dieser Studie ging zwar keine signifikante Reduktion der Sterblichkeit hervor, doch senkte die zusätzliche Betarezeptorenblockade mit Metoprolol die Rate der notwendigen Herztransplantationen signifikant. Die fünf Jahre später von Di Lenarda et al. vorgestellte Studie zum Effekt von Metoprolol auf das Überleben bei

DCM [38] konnte ebenfalls zeigen, daß eine additive Langzeittherapie mit Metoprolol die Sterblichkeit und die Notwendigkeit von Herztransplantationen senken kann.

Betablocker wirken sich folglich bei der Herzinsuffizienztherapie günstig auf das Überleben aus, sollten aber nur bei hämodynamisch stabilen Verhältnissen mit initial niedrigen Dosierungen angewendet werden. Im Verlauf der Therapie sind dann aber hohe Dosierungen anzustreben [24, 122, 138].

Diuretika

Derzeit liegen keine randomisierten Studien über die Verwendung von Diuretika vor. In den Therapieempfehlungen der „European Society of Cardiology“ von 1997 [190] ist die Gabe von Diuretika vor allem bei Flüssigkeitsüberladung wie peripheren Ödemen und Lungenstauung indiziert. Diuretika sollten mit ACE-Hemmern kombiniert gegeben werden.
Bei milden Formen der Herzinsuffizienz sollten, sofern die glomeruläre Filtrationsrate der Patienten über 30 ml/min liegt, Thiazide gewählt werden. Bei einer Verschlechterung der Symptomatik sind Schleifendiuretika oder eine Kombination aus Schleifendiuretika und Thiaziden indiziert, da beide bei der schweren Insuffizienz einen synergistischen Effekt haben.
Unter Kontrolle des Serumkaliumspiegels sollte entsprechend den Ergebnissen der RALES-Studie Spironolacton zur Therapie hinzugefügt werden.

Digitalisglykoside

Entsprechend den Empfehlungen der „European Society of Cardiology“ [190] sind Digitalisglykoside indiziert bei Vorhofflimmern und gleichzeitiger symptomatischer Herzinsuffizienz aufgrund einer systolischen Dysfunktion.
Eine Kombination mit ACE-Hemmern, Diuretika und Betarezeptorenblockern in den NYHA-Klassen II bis IV hat einen günstigen Einfluß auf die Symptome.
Bei bestehendem Sinusrhythmus führen Digitalisglykoside zu einer Zunahme der linksventrikulären Ejektionsfraktion von etwa 4% [61, 186].
Die größte Studie zu Herzglykosiden (DIG-Studie [188]) zeigte bei 6800 herzinsuffizienten Patienten (NYHA-Klassen II-III) mit Sinusrhythmus und einer Ejektionsfraktion unter 45%, daß Digoxin zwar keinen Einfluß auf die Mortalität, aber einen positiven Einfluß auf die Anzahl der Krankenhausaufnahmen hat.

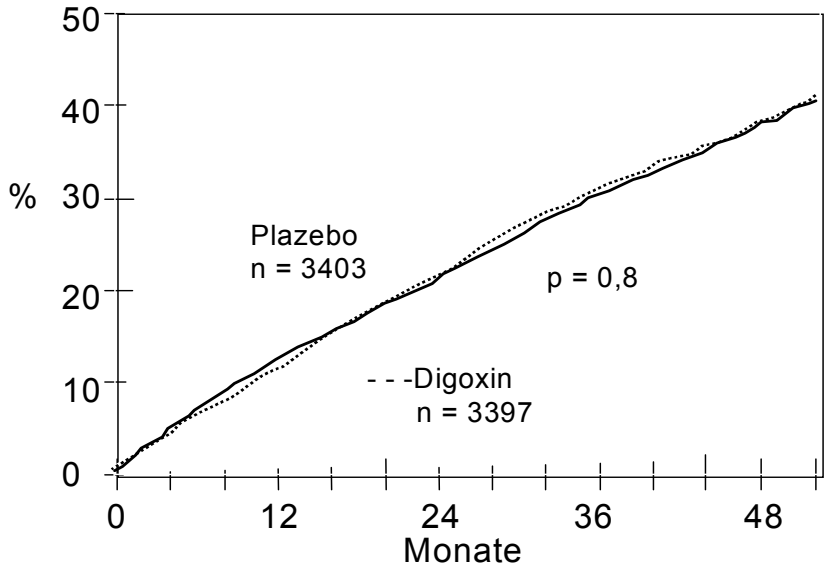


Abbildung 8: DIG-Studie: Effekte von Digoxin auf die Gesamtmortalität bei Patienten mit Herzinsuffizienz [188]

Kalziumantagonisten und andere Vasodilatoren

Entsprechend den Richtlinien der „European Society of Cardiology“ von 1997 [190] ist die Therapie der Herzinsuffizienz mit Kalziumantagonisten nicht empfohlen. Die DiDi-Studie [51] konnte zeigen, daß es unter einer Therapie mit Diltiazem bei DCM zu einer Verbesserung der kardialen Funktion und des subjektiven Wohlbefindens kam, ohne einen Einfluß auf die Transplantationsnotwendigkeit zu nehmen. Die PRAISE-Studie [139] zeigte, daß Amlodipin die Progredienz der Herzinsuffizienz nicht positiv beeinflußt. Unter einer Amlodipin-Therapie war das Outcome der Patienten mit nichtischämischer Kardiomyopathie besser als in der Plazebogruppe. Vorläufige Daten zeigen bei der Herzinsuffizienz in kleinen Subkollektiven (zum Beispiel idiopathische dilatative Kardiomyopathie) entweder keinen oder einen positiven Einfluß der Kalziumkanalblockade [31, 131].

Die Gabe von Dihydralazin in Kombination mit organischen Nitraten (Isosorbiddinitrat) ist der Therapie mit ACE-Hemmern unterlegen und sollte nur bei deren Unverträglichkeit in Erwägung gezogen werden [43].

Antikoagulation

Da Patienten mit Herzinsuffizienz ein Thromboembolierisiko von 2-3% pro Jahr aufweisen [43], ist bei gleichzeitigem Vorliegen von Vorhofflimmern die orale Antikoagulation mit Vitamin-K-Antagonisten beziehungsweise Azetylsalizylsäure empfohlen.

1.2 Einführung in die Extrazellulärmatrix und den Kollagenstoffwechsel

1.2.1 Kollagensynthese

Bei der Synthese der Kollagenfibrillen ist ein intrazellulärer und ein extrazellulärer Prozeß zu unterscheiden.

Da sich die genetische Information für die Kollagenbiosynthese über weite DNA-Bereiche erstreckt, ist eine starke Prozessierung der RNA notwendig, bevor reife mRNA zur Verfügung steht.

Die Prokollagenpolypeptidketten werden in membrangebundenen Ribosomen gebildet. Zunächst wird eine Pro-α-Kette aufgebaut, die 50% länger ist als die Kollagen-α-Kette. Mit Hilfe typischer aminoterminaler Signalsequenzen gelangen die Polypeptide in die Zysternen des endoplasmatischen Retikulums, wo sie von verschiedenen Enzymen modifiziert werden. Als Ergebnis dieser Modifikation sind ca. 1/4 bis 1/5 der Aminosäuren eines extrazellulären Kollagenmoleküls verschieden vom ursprünglichen Translationsprodukt. Die wichtigste Modifikation ist die Hydroxylierung von Prolinresten zu Hydroxyprolinresten, die für die Konformationsänderung zu Tripelhelices notwendig sind. Die Hydroxylierung der Lysine ist für die spätere Quervernetzung der Kollagenfasern untereinander unerläßlich.

Nach der Hydroxylierung und Glykosylierung kommt es zur Bildung der Prokollagen-Tripelhelix. Dabei spielen sogenannte Registerpeptide eine wichtige Rolle. Die aus etwa 150 Aminosäuren bestehenden Registerpeptide befinden sich an den N- und C-terminalen Enden der neu synthetisierten Prokollagenmoleküle und sind nicht-helikal. Sie sorgen dafür, daß die α-Ketten in die richtige Position kommen und daß die neu synthetisierten Prokollagenmoleküle löslich bleiben. Sie schützen die Zellen somit vor einer intrazellulären Ansammlung unreifer Kollagenfibrillen und vor deren Präzipitation.

Über den Golgi-Apparat und Transportvesikel erfolgt die Exozytose des Prokollagens. Nach der Sezernierung in den extrazellulären Raum werden die C- und N-terminalen Prokollagenpropeptide (PICP und PINP für Typ-I-Kollagen beziehungsweise PIIICP und PIIINP für Typ-III-Kollagen) durch spezifische carboxy- und aminoterminale Propeptidasen enzymatisch abgespalten. Die Propeptide werden dabei en bloc entfernt.

Es entsteht ein Kollagenmolekül oder Kollagenmonomer, das als Tropokollagen bezeichnet wird. Ein Kollagenmolekül besteht, wie das Prokollagenmolekül, aus einer aus drei α-Ketten entstandenen Tripelhelix. Bei der Fibrillenbildung lagern sich die Kollagenmoleküle parallel zueinander so an, daß sie jeweils um 1/4 ihrer Länge zum Nachbarmolekül verschoben sind. Es kommt zu kovalenten Vernetzungen der Moleküle. Die dabei entstehende Quervernetzung ist für die Zugfestigkeit kollagener Fibrillen entscheidend.

Am Ende der Prozessierung lagern sich die Kollagenmoleküle im Extrazellulärraum (ECR) spontan zu Kollagenfasern zusammen.
Anschließend durchlaufen die Kollagenfasern den Prozeß der Reifung, durch den sie durch Ausbildung kovalenter Bindungen zu benachbarten Polypeptidketten weniger löslich und widerstandsfähiger gegenüber proteolytischen Enzymen werden.
Die intermolekulare kovalente Quervernetzung durch Lysin führt zu einer Stabilisierung des Fasergeflechts. Stabile Pyridinolin-Querverbindungen (cross-links) sind für die Integrität der Extrazellulärmatrix essentiell. Die Pyridinolin-Konzentration steht in einem festen Verhältnis zum Kollagengehalt des Gewebes und beträgt in gesundem Herzgewebe 2,07 mol/mol Kollagen [11, 66].
Die Art der Quervernetzungen (zwei- bzw. mehrwertig) zeigt gewebespezifische Muster.

1.2.1.1 Stoffwechsel des C-terminalen Propeptids des Typ I-Prokollagens (PICP)

PICP ist ein globuläres Protein mit einer Primärstruktur, die keine kollagenartigen, repetitiven Gly-X-Y-Sequenzen enthält. Da es aus dem Typ-I-Prokollagen stammt, besteht es aus drei Polypeptidketten; zwei von ihnen sind Teile der ursprünglichen Pro-α1(I)-Ketten, die dritte enthält das C-terminale Ende der Pro-α2(I)-Kette.
Die Gewebekonzentration von PICP scheint ein guter Indikator der lokalen Typ-I-Kollagensynthese zu sein. Es ist derzeit noch nicht gänzlich geklärt, auf welchen Wegen das aus Prokollagen in Geweben freigesetzte PICP anschließend in den Kreislauf gelangt.
Untersuchungen an der Ratte haben gezeigt, daß im Stoffwechsel zirkulierendes PICP von den Endothelzellen der Leber schnell gebunden und durch rezeptorvermittelte Endozytose aufgenommen wird. Ein ähnlicher Rezeptor wird auf der Oberfläche von Gewebemakrophagen vermutet. Genauere Untersuchungen am Menschen liegen derzeit noch nicht vor.
Der PICP-Serumspiegel korreliert mit der Geschwindigkeit der Knochenneubildung [49]. Eine Abnahme des PICP-Serumspiegels wurde unter einer Hormonersatztherapie mit Östrogenen und unter der Therapie mit Glukokortikoiden beobachtet [71, 81, 132].

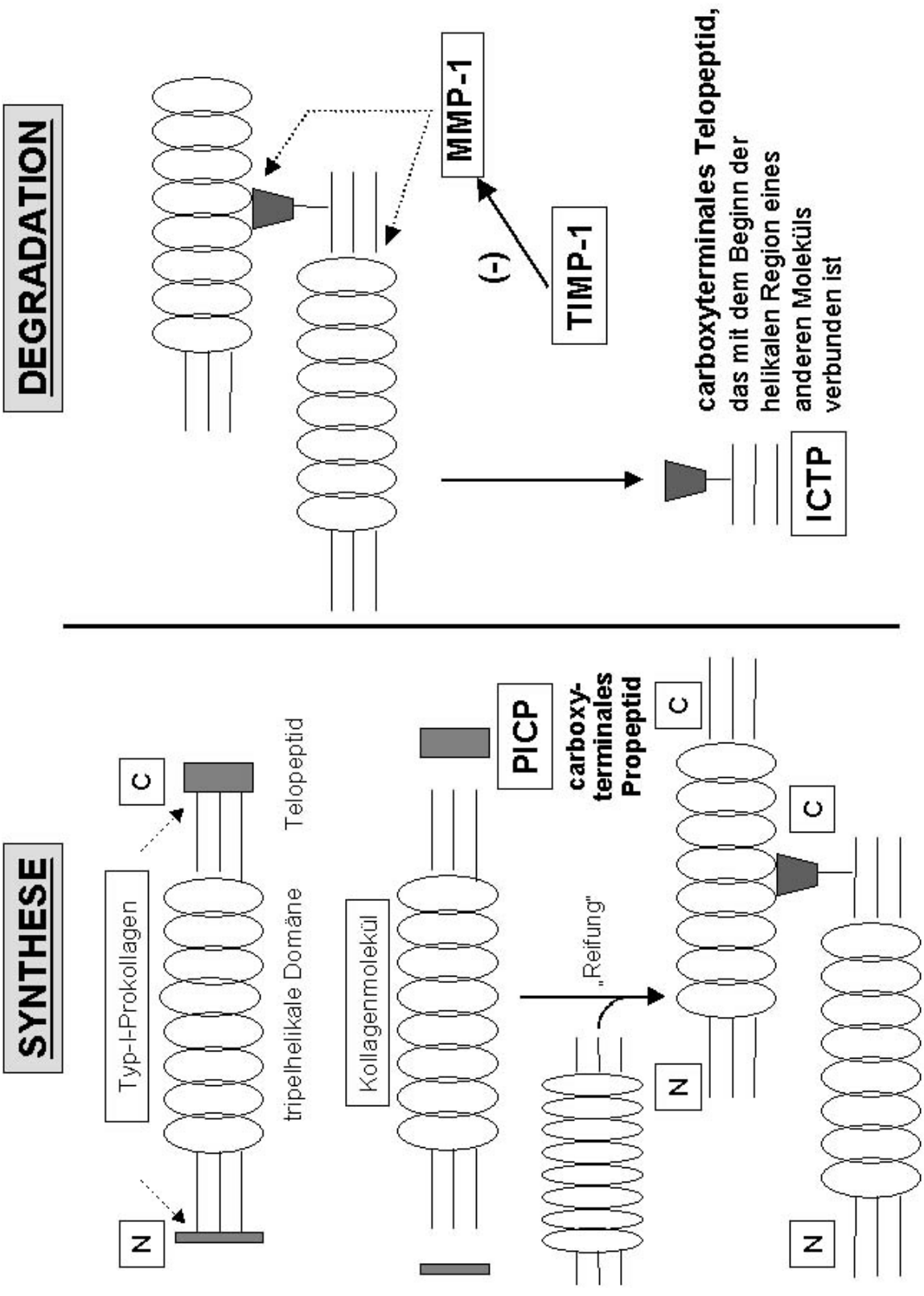


Abbildung 9: Schematische Darstellung der Typ-I-Kollagensynthese und –degradation unter Berücksichtigung der Bruchstücke PICP und ICTP

1.2.2 Kollagendegradation – Funktion und Regulationsmechanismen der Matrixmetalloproteinasen

Bei der Degradation von Kollagen werden prinzipiell zwei Wege unterschieden. Über einen intrazellulären Weg werden Prokollagenmoleküle innerhalb weniger Minuten nach der Synthese degradiert. Über den extrazellulären Weg wird fibrilläres Kollagen abgebaut.

An der Degradation des fibrillären Kollagens sind neben anderen Proteasen Matrixmetalloproteinasen (MMPs) maßgeblich beteiligt. Matrixmetalloproteinasen (MMP), auch Matrixine genannt, sind für den Umsatz von Bestandteilen der Extrazellulärmatrix (ECM) zuständig. Typische Substrate sind Kollagene, Proteoglykane, Elastin, Laminin, Fibronectin und andere Glykoproteine der extrazellulären Matrix. Zur Zeit sind 17 verschiedene MMPs bei Wirbeltieren bekannt.

MMPs werden in 5 Untergruppen unterteilt:

(1) Kollagenasen,
(2) Gelatinasen,
(3) Stromelysine,
(4) membrangebundene MMPs (membrane-type (MT-) MMPs) und
(5) andere.

Zu (1): Die Gruppe der Kollagenasen umfaßt folgende MMPs:

a) MMP-1: interstitielle Kollagenase (EC 3.4.24.7),
b) MMP-8: Neutrophilenkollagenase (Kollagenase 2; EC 3.4.24.34),
c) MMP-13: Kollagenase 3 und
d) MMP-18: Kollagenase 4 (Xenopus-Kollagenase).

Zu (2): Die Gruppe der Gelatinasen umfaßt neben der Matrixmetalloproteinase-2 (Gelatinase-A = 72 kDa-Gelatinase; EC 3.4.24.24) auch die Matrixmetalloproteinase-9 (Gelatinase-B = 92 kDa-Gelatinase; EC 3.4.24.22).

Zu (3): Bisher sind vier Stromelysine bekannt:

a) Stromelysin-1 (MMP-3; EC 3.4.24.17),
b) Stromelysin-2 (MMP-10; EC 3.4.24.22),
c) Stromelysin-3 (MMP-11) und
d) Enamelysin (MMP-20).

Zu (4): Die membrangebundenen MMPs umfassen die Enzyme MT1-MMP bis MT4-MMP beziehungsweise die Matrixmetalloproteinasen-14 bis -17.

Zu (5): Unter der Gruppe der anderen Matrixmetalloproteinasen werden die MMP-7 (Matrilysin; EC 3.2.24.23), MMP-12 (Makrophagen-Metalloelastase) und eine noch nicht näher benannte MMP-19 [129] subsumiert.

Die Kollagenasen (MMP-1, -8, -13) sind als neutrale Proteinasen am Initialschritt der Degradation des reifen fibrillären Typ-I bis –IV-Kollagens beteiligt. Die Kollagenasen spalten die Kollagenfibrillen an spezifischen Schnittstellen, so daß N-terminale 3/4- und C-terminale 1/4-Fragmente entstehen, die bei Körpertemperatur von anderen MMPs, zum Beispiel den Gelatinasen, weiter degradiert werden. MMP-2 ist wie die Kollagenasen in der Lage, den Initialschritt einzuleiten. MMP-9 ist nicht nur am zweiten Schritt der Degradation beteiligt, sondern spaltet die Kollagentypen I, II und V auch im nichthelikalen N-terminalen Telopeptid.
MMP-2 und –9 spielen wie die Kollagenasen eine wichtige Rolle im Remodeling der kollagenen Extrazellulärmatrix [84].

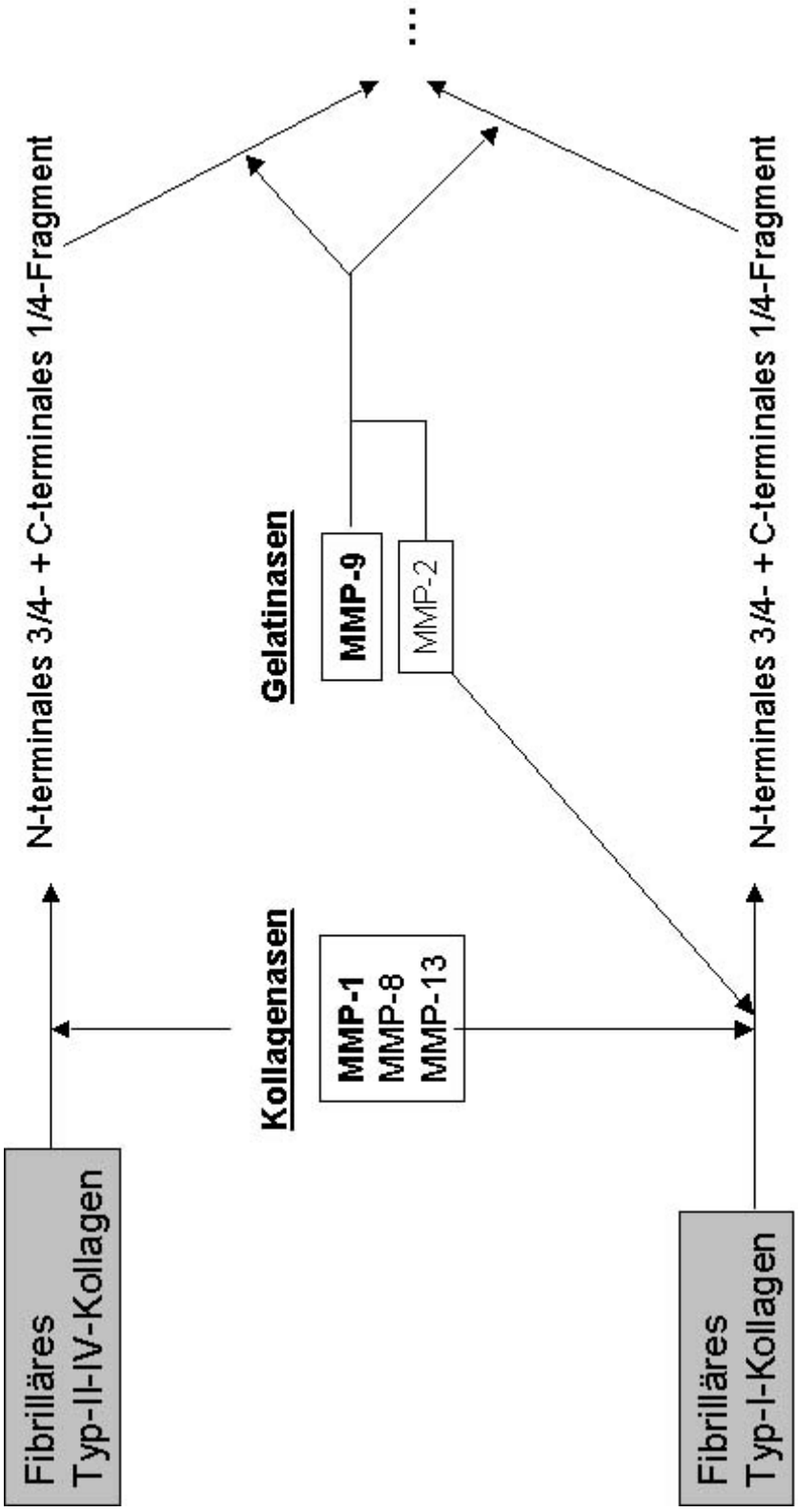


Abbildung 10: Bedeutung der Kollagenasen und Gelatinasen für den Initialschritt der Degradation von fibrillärem Kollagen [84]

Enzym	*MMP-Nummer*	*Substrat oder Funktion*
Kollagenasen		
interstitielle Kollagenase (EC 3.4.24.7)	MMP-1	Typ-I-, -II-, -III-, -VII- und –X-Kollagen, Gelatine, Entactin, Aggrecan, Verknüpfungsprotein
Neutrophilenkollagenase (EC 3.4.24.34)	MMP-8	Typ-I-, -II- und –III-Kollagen, Verknüpfungsprotein
Kollagenase 3	MMP-13	Typ-I-, -II-, -III-Kollagen
Kollagenase 4 (Xenopus)	MMP-18	Typ-I-Kollagen
Gelatinasen		
Gelatinase A (EC 3.4.24.24)	MMP-2	Gelatine, Typ-I-, -IV-, -V-, -VII-, -X- und –XI-Kollagen, Fibronectin, Laminin, Aggrecan, Elastin, großes Tenascin C, Vitronectin, β-Amyloid-Proteinvorstufe (β-Sekretase-ähnliche Aktivität)
Gelatinase B (EC 3.4.24.35)	MMP-9	Gelatine, Typ-IV-, -V-, -XIV-Kollagen, Aggrecan, Elastin, Entactin, Vitronectin
Stromelysine		
Stromelysin 1 (EC 3.4.24.17)	MMP-3	Aggrecan, Gelatine, Fibronectin, Laminin, Typ-III-, -IV-, -IX- und –X-Kollagen, großes Tenascin-C, Vitronectin
Stromelysin 2 (EC 3.4.24.22)	MMP-10	Aggrecan, Fibronectin, Typ-IV-Kollagen
Stromelysin 3	MMP-11	schwach aktiv bei Fibronectin, Laminin, Typ-IV-Kollagen, Aggrecan, Gelatine
Enamelysin	MMP-20	Amelogenin
membrangebundene (MT-)MMP		
MT1-MMP	MMP-14	Typ-I-, -II-, -III-Kollagen, Fibronectin, Laminin-1, Vitronectin, Dermatansulfatproteoglykan; MT1-MMP aktiviert proMMP-2 und proMMP-13
MT2-MMP	MMP-15	MMP-2, Gelatine, Fibronectin, Tenascin, Laminin
MT3-MMP	MMP-16	aktiviert proMMP-2, MMP-2
MT4-MMP	MMP-17	unbekannt
Andere		
Matrilysin (EC 3.2.24.23)	MMP-7	Aggrecan, Fibronectin, Laminin, Gelatine, Typ-IV-Kollagen, Elastin, Entactin, kleines Tenascin-C, Vitronectin
Makrophagen-Metalloelastase	MMP-12	Typ-IV-Kollagen, Elastin, Fibronectin, Laminin
N. N.	MMP-19	unbekannt

Tabelle 3: Übersicht über die derzeit bekannten MMPs und ihre Substrate [129]

MMPs werden von den verschiedensten Zelltypen in den Extrazellulärraum sezerniert oder in Form von membrangebundenen Enzymen exprimiert. Sie spielen in verschiedenen Bereichen der Extrazellulärmatrix und der Zell-Zell- beziehungsweise Zell-Gewebe-Interaktion eine wichtige Rolle. So beeinflussen sie z. B. die Embryogenese, die Morpho- und Angiogenese und die Gewebeinvolution.
Neben ihren zahlreichen physiologischen Aufgaben sind MMPs an vielen pathologischen Prozessen beteiligt. Durch eine Überexpression der Matrixine kann es zu einer Störung im Gleichgewichtes des Auf- und Abbaus der ECM kommen. Eine erhöhte MMP-Aktivität findet sich vor allem bei Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises, den Glomerulonephritiden, Erkrankungen des Parodontiums, Gewebeulzerationen und der Arteriosklerose [130, 211].

Eine erhöhte Expression oder Aktivität der MMPs hat eine gesteigerte proteolytische Aktivität im Extrazellulärraum zur Folge, was zu einem gesteigerten Remodeling mit Degradation von extrazellulären Makromolekülen wie Kollagenen, Lamininen und Proteoglykanen führt. Darüber hinaus können MMPs Zelladhäsionen verändern und bei der Durchwanderung des Extrazellulärraumes Zell-Matrix- und Zell-Zell-Kontakte herstellen. MMPs sind des weiteren an der Aktivierung von verschiedenen Botenstoffen beteiligt [195].

Die Bedeutung der MMPs für den Matrixkatabolismus unter physiologischen und vor allem pathologischen Bedingungen wird dadurch deutlich, daß die MMP-Konzentration in gesundem Gewebe in der Regel sehr gering ist, es aber im Rahmen pathologischer Prozesse durch den Einfluß von inflammatorischen Zytokinen, zellulären Transformationen, Hormonen und Wachstumsfaktoren zu einer Transkriptionssteigerung kommt [129, 210]. Im Rahmen einiger jüngerer Studien konnte in spezifischen Tumorzellinien ein Zelloberflächenprotein (EMMPRIN [extracellular matrix metalloproteinase inducer]) identifiziert werden, das die MMP-Expression induziert. [9, 36, 67, 101].

Die meisten MMPs werden als inaktive Vorstufen (Zymogene) sezerniert und mit Ausnahme der MMP-11 und MT1-MMP erst im Extrazellulärraum proteolytisch aktiviert [84]. Solche aktivierenden Proteasen sind z. B. Plasmin oder auch MMPs selbst. Die Fähigkeit der MMPs, sich gegenseitig zu aktivieren, führt zu einem komplexen Geflecht von Proteasen im Perizellulärspalt.
Die Aktivierung dieses proteolytischen Systems hat Ähnlichkeiten mit der Gerinnungskaskade, in der ein aktiviertes Enzym ein anderes Proenzym aktivieren kann, so daß regulativ eine positive Rückkopplung existiert.

Die Neutrophilenkollagenase (MMP-8) und Gelatinase-B (MMP-9) werden als einzige nach der Translation nicht in den Extrazellulärraum sezerniert, sondern in sekretorischen Granula von neutrophilen und eosinophilen Granulozyten gespeichert.

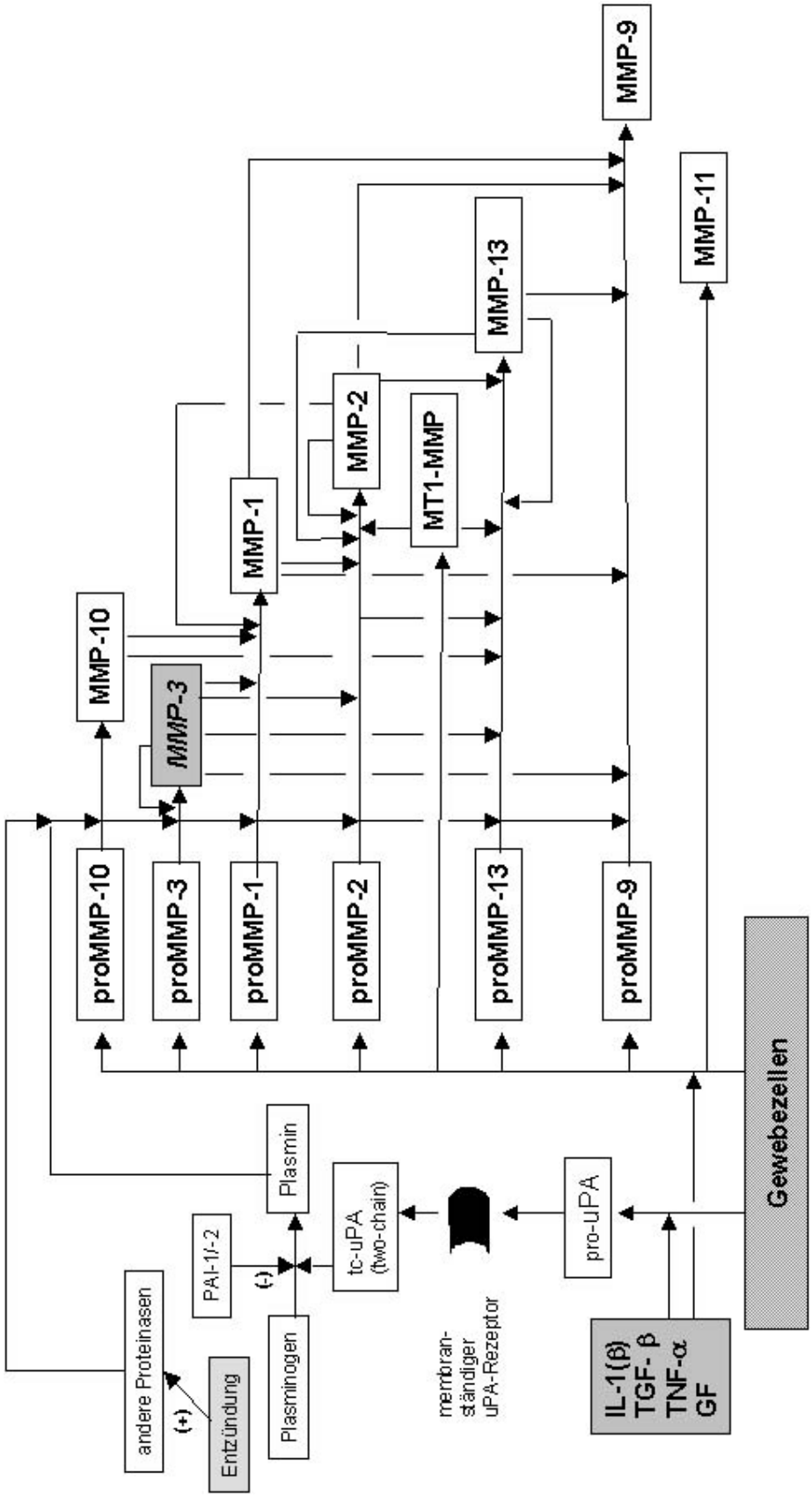


Abbildung 11: Aktivierungskaskade der Matrixmetalloproteinasen (modifiziert nach [84, 129, 177])

Nach der initialen Abspaltung von MMP-Propeptiden durch Serinproteasen wird für die endgültige Konversion zum aktiven Enzym Stromelysin (MMP-3) benötigt. Nach der Entfernung des carboxyterminalen Propeptids der Kollagenasen durch Stromelysin (MMP-3) steigt deren proteolytische Aktivität um den Faktor 5 bis 8 [42, 210].
Das Expressions- und Aktivierungsausmaß der MMP-3 stellt somit ein regulatorisch wichtiges Element für die MMP-Aktivierung dar [177]. Die Bedeutung des MMP-3 bei der Aktivierung der wichtigsten MMP-Subtypen ist in der folgenden Tabelle dargestellt:

Zymogen	**Initialschritt der Aktivierung**	**letzter Aktivierungschritt**
proMMP-1	Trypsin, Plasmin, Kallikrein	**MMP-3**, MMP-2
proMMP-2	MT-MMPs, MMP-1	MMP-2, **MMP-3**
proMMP-3	Proteinasen (keine MMPs)	**MMP-3**
proMMP-9	MMP-1, MMP-2, MMP-3	MMP-1, MMP-2, **MMP-3**
proMMP-13	MMP-3, MT1-MMP	**MMP-3**, MMP-13, MMP-2
proMT1-MMP	Ø	intrazelluläre Aktivierung

Tabelle 4: Matrixmetalloproteinasen mit einer potentiellen Relevanz zum myokardialen Remodeling [aus 177]

Membrangebundene MMPs (MT-MMP) aktivieren neben anderen Matrixmetalloproteinasen auch die für die Aktivierungskaskade bedeutsame Matrixmetalloproteinase-3 [129, 92].

Die Expression der MMPs wird auf verschiedenen Ebenen reguliert. Primär findet eine Regulation auf der Transkriptionsebene statt. Induziert wird die Transkription durch zahlreiche Zytokine (v. a. IL-1(β),TNF-α, IL-6 und IL-10) und Wachstumsfaktoren (v. a. PDGF), wohingegen TGF-β,Heparin, Retinsäure und Kortikosteroide einen inhibitorischen Effekt haben [42].
Des weiteren wurde beobachtet, daß EMMPRIN die MMP-Expression induziert [9, 36, 67, 101].

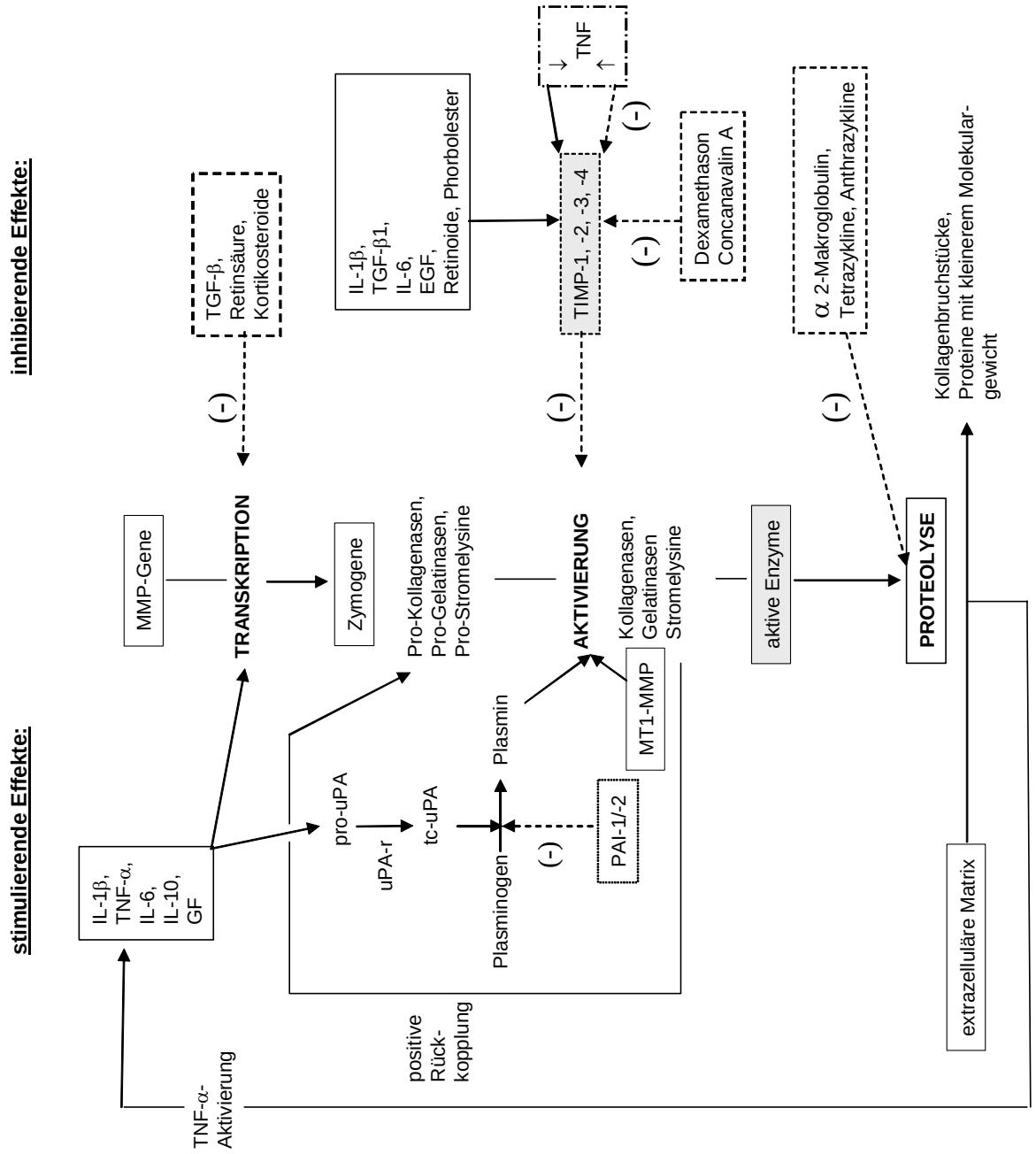


Abbildung 12: Kontrollmechanismen und Regulationsebenen der Matrixmetalloproteinasen (Abkürzungen: uPA = Plasminogenaktivator, uPA-r = Plasminogenaktivator-Rezeptor, gestrichelte Linien geben hemmende Reaktionswege, durchgezogene Linien aktivierende Reaktionswege wieder); modifiziert nach [42, 62, 136]

Neben Zytokinen und Wachstumsfaktoren sind weitere Faktoren bekannt, die einen Einfluß auf das Vorhandensein von Matrixmetalloproteinasen nehmen.

stimulierende Faktoren	
Oberflächenfaktoren	Kalziumkanal A23187
	Zellfusionen
	Kollagentypen in der Basalmembran
	Concanavalin A
	Urat, Hydroxyapatit, Calciumpyrophosphat
	Integrin-Rezeptor-Antikörper
	Eisen
	Phagozytose
chemische Faktoren	cAMP
	Colchizin
	Lipopolysaccharide
	Mitomycin C
	Phorboldiester
	Prostaglandin E
physikalische Faktoren	Hitze
	UV-Strahlung
Zytokine/Wachstumsfaktoren	epidermaler Wachstumsfaktor (EGF)
	Fibroblasten-Wachstumsfaktor b
	Interferon α, β, γ
	Interleukin (1α, β)
	PDGF
	TNF-α
andere Faktoren	virale Transformation
	Onkogene
	autokrine Agentien
	Fibroblastenalterung
hemmende Faktoren	Retinsäure
	Glukokortikoide
	Adenovirus-5 E1A-Gen
	Östrogen, Progesteron
	TGF-β

Tabelle 5: Induzierende/stimulierende und hemmende Faktoren der Kollagenase- und Stromelysinproduktion [modifiziert nach 210]

Die Aktivität der Matrixmetalloproteinasen wird ferner auf der Ebene der Sekretion, der Zymogenaktivierung und der aktiven Enzyme reguliert.

An der Zymogenaktivierung der meisten Matrixmetalloproteinasen ist vor allem Plasmin (uPA) beteiligt. Die Bindung von uPA an seinen Rezeptor (uPA-r) löst die proteolytische Aktivität auf zellulärer Ebene aus. uPA und uPA-r werden von verschiedenen Zelltypen exprimiert [42].

Auf der Ebene der aktiven Enzymform ist vor allem die Gruppe der Tissue Inhibitors of Matrixmetalloproteinase (TIMPs) und das α_2-Makroglobulin wirksam.

Eine weitere wichtige Determinante der Regulation der MMP-Expression sind neben den intrazellulären Mediatoren mechanische Interaktionen zwischen Zellen und der Matrix. Lambert et al. [102] zeigten, daß mechanische Kräfte, die auf Fibroblastenkulturen appliziert wurden, die Expression der interstitiellen Kollagenasen regulieren konnten [211].

1.2.2.1 Stoffwechsel des C-terminalen Telopeptids des Typ I-Kollagens (ICTP)

Kollagenmoleküle werden im Rahmen der Synthese miteinander quervernetzt. Die daran beteiligten Hauptpositionen sind die kurzen, nichthelikalen Telopeptidabschnitte an beiden Enden der Moleküle, die mit den helikalen Bereichen benachbarter Kollagenmoleküle verknüpft werden. Obwohl die Telopeptidabschnitte freier Kollagenmoleküle leicht durch unspezifische proteolytische Enzyme abgebaut werden, sind sie gegen proteolytischen Angriff relativ beständig, wenn sie an der intermolekularen Quervernetzung beteiligt sind.
Das ICTP, das mit der Aminosäure Nr. 87 vom Anfang der helikalen Region eines anderen Moleküls verknüpft ist [158], stellt eine der beiden Hauptpositionen für die Quervernetzung im Typ-I-Kollagen dar.

ICTP enthält eine reife, mehrwertige Kollagen-Quervernetzung sowie angrenzende Peptidstücke aus drei Polypeptidketten. Zwei davon sind die carboxyterminalen Enden der α1-Kette eines Typ-I-Kollagenmoleküls, die dritte stammt entweder aus einer α1- oder einer α2-Kette des helikalen Bereichs eines anderen Moleküls. Die relativ kleine Größe des ICTP-Molekül läßt vermuten, daß es renal eliminiert wird. Eine Abnahme der glomerulären Filtrationsrate unter zwei Drittel des unteren Grenzwertes führt zur Akkumulation von ICTP im Blut [158].

Der ICTP-Serumspiegel korreliert mit der Geschwindigkeit der Knochenresorption [49].

1.2.3. Inhibition der Kollagendegradation und Tissue Inhibitor of Matrixmetalloproteinases (TIMP)/Matrixmetalloproteinasen (MMP)-Interaktion

Die proteolytische Aktivität der aktivierten MMPs wird sowohl durch Tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) als auch durch unspezifische Inhibitoren wie α_2-Makoglobuline und α_1-Antiproteasen oder exogene Faktoren wie Heparin gehemmt [42, 84].

TIMPs binden in äquimolarem Verhältnis reversibel an das Zink-Atom der aktiven MMPs und bilden mit diesen nicht-kovalente Komplexe [17, 62]. TIMPs können bei den Matrixmetalloproteinasen 2 und –9 auch an andere Domänen als das Zink-Atom binden.

Zur Zeit sind vier verschiedene Isoformen bekannt: TIMP-1, -2, -3, -4. TIMP-1, -2 und -4 werden in flüssiger Form sezerniert, TIMP-3 wird in die extrazelluläre Matrix sequestriert.
Die vier Mitglieder der TIMP-Familie haben strukturelle Gemeinsamkeiten. Sie enthalten alle sechs Disulfidbrücken, die zur Aufrechterhaltung der dreidimensionalen Struktur notwendig sind.

Die Expression der von einer Reihe von Zelltypen gebildeten TIMPs wird, wie die der Matrixmetalloproteinasen, durch Zytokine, Wachstumsfaktoren und Hormone reguliert [157].
Wichtige Faktoren, die die Expression fördern, sind u.a. IL-1β, EGF, IL-6, Phorbolester und Retinoide. Der Tumornekrosefaktor hat eine ambivalente Bedeutung. In niedrigen Konzentrationen wird dieTIMP- Expression gefördert, in hohen Konzentrationen gehemmt [62].

In den letzten Jahren wurde bekannt, daß vor allem TIMP-1 ein biologisch sehr vielseitiges multifunktionales Protein ist, das unterschiedlichste biologische Funktionen hat. So kommt es durch TIMP-1 nicht nur zu einer Inhibition der aktiven Formen der MMPs. Durch Bindung an proMMP-9 kommt es zu einer Aktivierung derselben. Des weiteren stimuliert TIMP-1 die gonadalen Steroidsynthese, verändert die Zellmorphologie und inhibiert die Angiogenese. Ferner beeinflußt TIMP-1 die Aktivität des Wachstumsfaktors und nimmt Einfluß auf das physiologische und pathologische Gewebe-Remodeling [62].
TIMP-1 wird intramyokardial immer zusammen mit MMP-1 exprimiert [200].

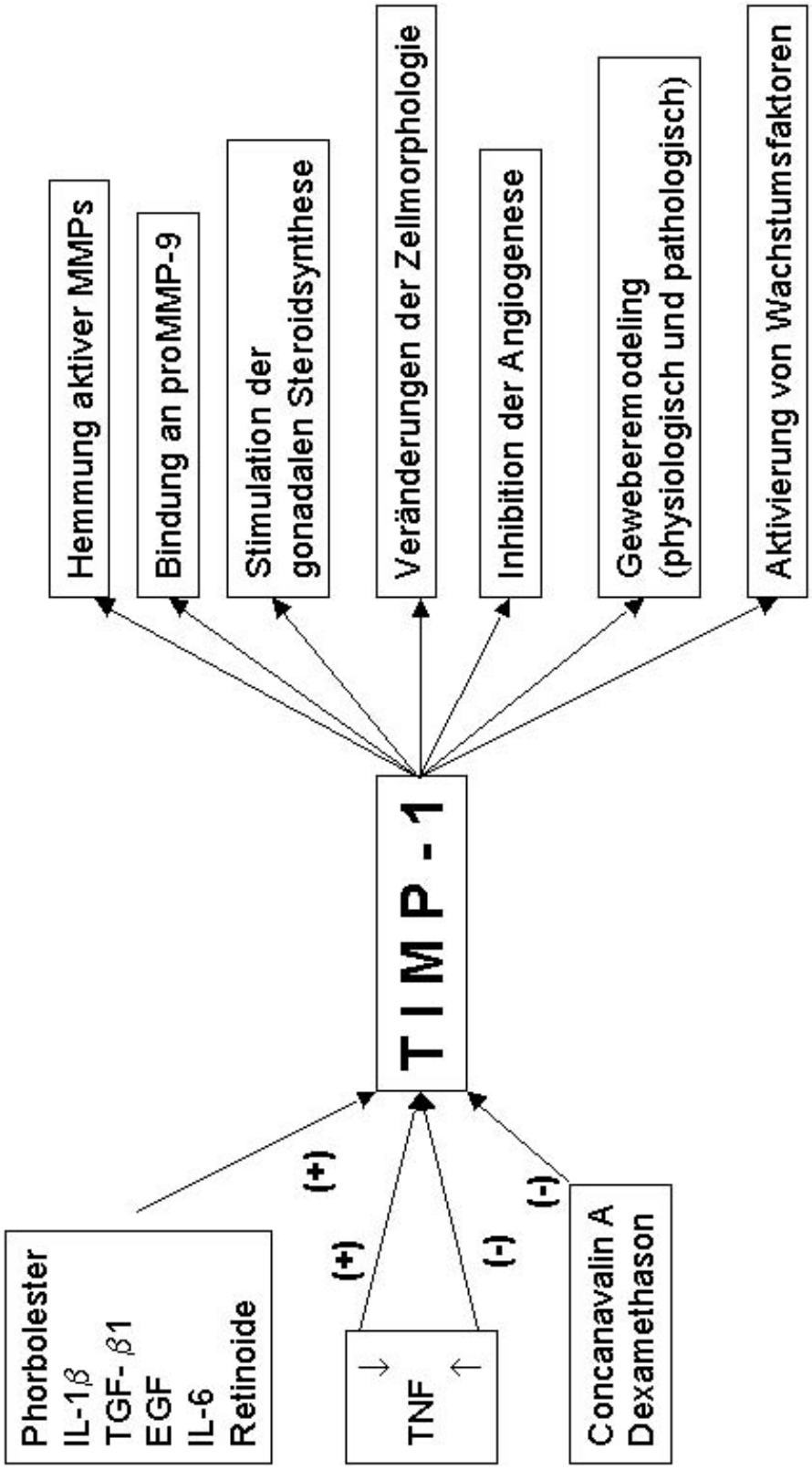


Abbildung 13: Regulation und Funktion von TIMP-1 [62]

TIMP-2 besitzt wie TIMP-1 neben der inhibitorischen Wirkung eine Wachstumshormon-ähnliche und antiangiogenetische Wirkung [62].

TIMP-1 und –2 hemmen die Aktivität aller bisher bekannten Matrixmetalloproteinasen und spielen somit eine Schlüsselrolle im Erhalt des Gleichgewichts zwischen Auf- und Abbau der Extrazellulärmatrix in physiologischen und pathologischen Prozessen.

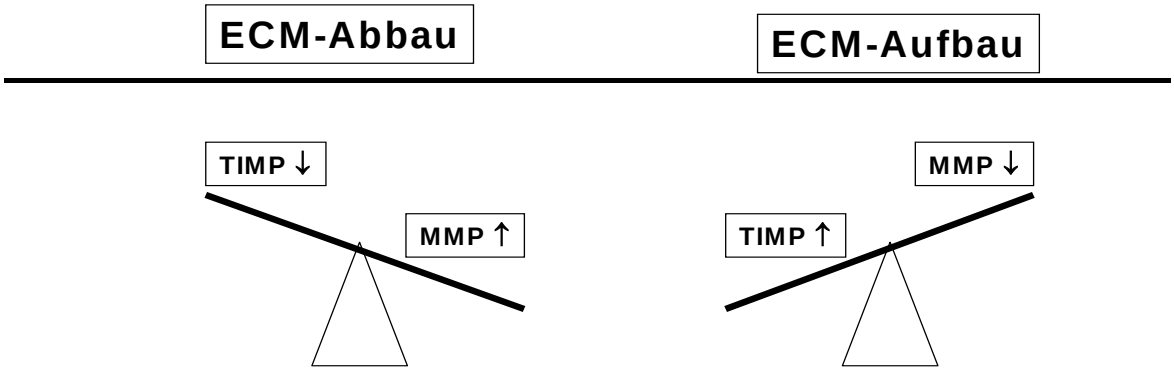


Abbildung 14: Auswirkungen des MMP/TIMP-Verhältnisses auf die Extrazellulärmatrix (ECM)

TIMP-1 und –2 können Komplexe mit den Pro-Formen von MMP-2 und –9, den Gelatinasen, bilden.
Der aus pro-MMP-9 und TIMP-1 bestehende Komplex kann durch Bildung eines stabileren pro-MMP-9/TIMP-1/MMP-9-Komplex aktives MMP inhibieren.
Der pro-MMP-2/TIMP-2-Komplex verhindert die Autoaktivierung von MMP-2. Der Komplex mit aktiviertem MMP-2 hat einen stabilisierenden Effekt.
Im Gegensatz zu TIMP-2, dessen Expression nahezu konstant ist und von der Gelatinase-A-(MMP-2) Expression, mit der TIMP-2 spezifisch interagiert, abhängt, wird die TIMP-1-Sekretion sensibel durch Zytokine und Hormone reguliert. In bestimmten Situationen, in denen TIMP-2 auf Regulatoren reagiert, ist die TIMP-1-Antwort konträr [42, 62].

TIMP-3 ist das einzige Mitglied der TIMP-Familie, das bisher ausschließlich in der Extrazellulärmatrix gefunden wurde. TIMP-3 inhibiert MMP-1, -2, -3, -9 und –13 und anders als die übrigen TIMPs als einziges das proinflammatorische TNF-α-converting-Enzym (TACE) [84]. Es wird durch einen zellzyklusähnlichen Modus in verschiedenen Zelltypen reguliert und könnte als Marker für die Differenzierung der Zellen dienen. Hohe Konzentrationen von TIMP-3 werden bei einer Blockade des Zellzyklus in der G_1-Phase gefunden [62] und sind in der Lage, in malignen Zellreihen die Apoptose zu induzieren [84].

TIMP-4, das zuletzt gefundene Mitglied der Inhibitoren-Familie, scheint ebenfalls eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der ECM zu spielen [62]. Das Expressionsprofil von TIMP-4 im Gewebe Erwachsener zeigt eine hohe Konzentration im Myokard und Gehirn und nur sehr geringe Konzentrationen in Niere, Plazenta, Kolon und Testes. TIMP-4 scheint zur Zeit das einzige Mitglied der Inhibitorenfamilie zu sein, das herz- und hirnspezifisch ist [62, 84, 111]. Ob jedoch TIMP-4 einen inhibitorischen Effekt an myokardialem Gewebe ausübt, ist zum jetzigen Zeitpunkt noch unklar [177].

1.3 Myokardiale Extrazellulärmatrix, Stoffwechsel und klinische Bedeutung

1.3.1 Die myokardiale Extrazellulärmatrix

Die Extrazellulärmatrix des Myokards stellt ein dreidimensionales Netzwerk dar, das zu etwa 90 % aus fibrillärem Typ-I- und aus Typ-III-Kollagen besteht. Die beiden im Myokard vorherrschenden Kollagentypen unterscheiden sich vor allem in ihren biomechanischen Eigenschaften. Typ-I-Kollagen mit einer Zugfestigkeit von Stahl gewährleistet die Steifigkeit und Integrität des Ventrikels, wohingegen Typ-III-Kollagen mit seinen elastischen Eigenschaften ein feines endomysiales Netzwerk bildet [19, 41, 77, 79, 206, 207].
Im gesunden Myokard liegen beide Kollagentypen in einem bestimmten Verhältnis vor, das sich durch Alterung beziehungsweise pathologische Prozesse verändern kann.
Die Extrazellulärmatrix hat eine Binde- und Stützfunktion und dient als Insertionsstelle für die Kardiomyozyten. Die Insertionsstelle der Kollagenfaserbündel liegt lateral der Z-Streifen am Ursprung des transversalen Tubulussystem [22, 207]. Das Kollagengerüst stellt neben der Verbindung der Kardiomyozyten untereinander die Verbindung zu intramyokardialen Kapillaren her.
Durch dieses Bindegewebeskelett des Herzens werden Kardiomyozyten zu funktionellen Einheiten zusammengeschlossen, so daß eine optimale, geordnete Kraftübertragung stattfinden kann und alle Kardiomyozyten die gleiche enddiastolische Länge haben. Die Anzahl und Lokalisation der Kollagenfaserbündel, die durch intermolekulare Querverbindungen (cross-links) stabilisiert werden [11], verhindert eine Verschiebung der Kardiomyozyten in lateraler oder longitudinaler Richtung.

Im gesunden Gewebe liegt ein physiologisches Gleichgewicht zwischen kollagenan- und -abbauenden Substanzen vor. Wird dieses Gleichgewicht gestört, kommt es zur abnormen Kollagensynthese beziehungsweise -degradation mit Zerstörung der Gewebearchitektur.

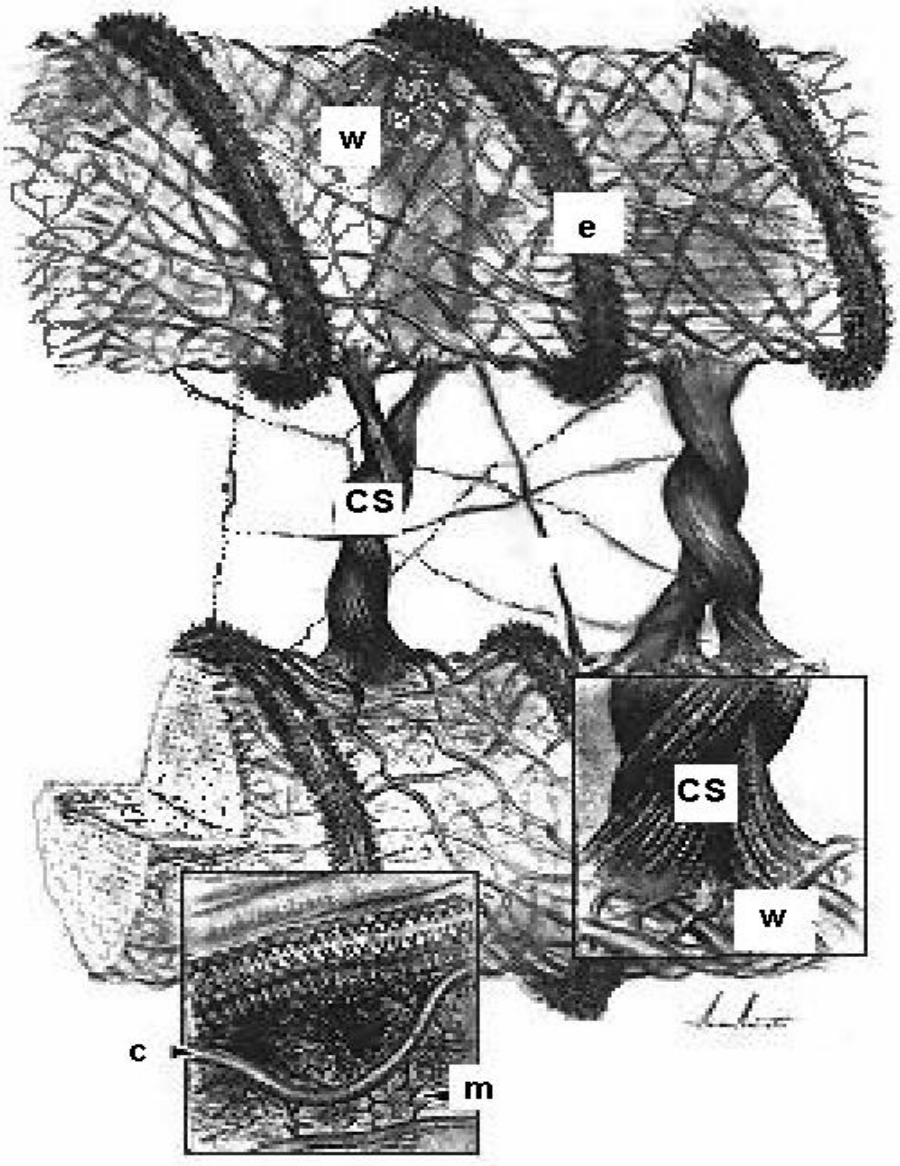


Abbildung 16: Schematische Darstellung der lateral vernetzen Kardiomyozyten. (CS = Kollagenfaserbündel; e = elastische Fasern; C = kleine Kollagenfasern). Die kleinen Abbildungen zeigen die Insertion der Kollagenfaserbündel in das Kollagennetz (w) der Zellen und die Beziehung zwischen Kollagenfibrillen (c) dem Kollagenmikrofasergitter (m) und der Zellmembran. [aus: 161]

Bei der Degradation von Kollagen werden, wie oben beschrieben, prinzipiell zwei Wege unterschieden. Über den intrazellulären Weg werden Prokollagenmoleküle, wahrscheinlich innerhalb der ersten zehn Minuten nach der Synthese degradiert. Über den extrazellulären Weg wird fibrilläres Kollagen abgebaut. Im Gegensatz zu anderen Organen wie Lunge, Haut und Skelettmuskulatur, wird mehr als die Hälfte des im Herzen synthetisierten Kollagens intrazellulär degradiert, der übrige Anteil wird angelagert oder extrazellulär abgebaut [103].
Im Herzen und in der Haut von sechs Monate alten Ratten fanden Bishop [11] und Laurent [103] Degradationsraten von 93 bzw. 14% des neu synthetisierten Kollagens.
Es wurden rechts- und linksventrikuläre Kollagensyntheseraten von 2,9%/Tag bis 5,8%/Tag bei Kaninchen gefunden, wobei ungefähr ein Drittel des Kollagens für den raschen Abbau bestimmt war. Die Syntheserate der nicht-kollagen-assoziierten Proteine in beiden Ventrikeln lag zum Vergleich bei ca. 18%/Tag. Entsprechende Versuche mit Ratten ergaben eine tägliche Kollagenneusyntheserate von 9% im Alter von sechs Monaten. In diesem Alter wird 90% rasch degradiert.
Der tägliche linksventrikuläre extrazelluläre Umsatz von Kollagen bei normalen erwachsenen Kaninchen wurde auf etwa 0,6% pro Tag geschätzt [12].
Tyagi et al. fanden in menschlichen Herzen lediglich kleine Mengen aktiver Kollagenasen (etwa 3% der Gesamtkonzentration aller Kollagenasen), die am physiologischen Kollagenumsatz beteiligt sein könnten [198].

Mit zunehmendem Alter nimmt der Gesamtgehalt an Kollagen im Organismus im Sinne einer Altersfibrose zu. Die kardiale Kollagensyntheserate hingegen sinkt mit zunehmendem Alter. Mit dem Alterungsprozeß ist ferner eine Veränderung in der Typ-I- zu Typ-III-Kollagen-Ratio assoziiert. Während der Entwicklungs- und Wachstumsphase sowie im Rahmen des Alterns nimmt der relative Anteil des Typ-III-Kollagens zu. Es kommt außerdem zu einer organspezifischen Veränderung der Quantität und Qualität der die Kollagenfasern stabilisierenden cross-links [11, 97].

An der Zerstörung beziehungsweise dem Remodeling der kardialen Extrazellulärmatrix ist die endogene Gruppe der Matrixmetalloproteinasen ursächlich beteiligt.

1.3.2 Myokardiale Extrazellulärmatrix bei der DCM und Einfluß von MMP und TIMP auf die Erkrankung

Verschiedene Studien konnten zeigen, daß die dilatative Kardiomyopathie mit einer Fibrosierung des Myokards verbunden ist. Pauschinger et al. [144] zeigten, daß der Gesamtkollagengehalt des Myokards bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie und einer linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) kleiner 50% signifikant höher ist als bei Patienten mit einer LVEF größer 50 %.
Den größten Teil bildet das Typ-I-Kollagen, das für die Steifigkeit und Spannung des Gewebes verantwortlich gemacht wird und bei DCM-Patienten zur systolischen und diastolischen Dysfunktion beitragen kann.
Des weiteren fanden Klappacher et al. eine exzessive Erhöhung von Typ-I- und Typ-III-Kollagen im interstitiellen und perivaskulären Gewebe von explantierten Herzen mit Kardiomyopathie im Endstadium der Erkrankung [90].
Als eine Ursache für den Anstieg des myokardialen Gesamtkollagens wird der im Verlauf der Erkrankung auftretende Myozytenverlust mit konsekutiver Fibrosierung des Interzellularraumes im Sinne einer Replacement-Fibrose angesehen [207, 208].
Analog zur Veränderung des Gesamtkollagengehaltes im Verlauf der Erkrankung, kommt es zu einer Veränderung des Verhältnisses der dominanten Kollagensubtypen zueinander. Der Typ-I-Kollagengehalt nimmt relativ zu [144].

Ursächlich für die Entwicklung der dilatativen Kardiomyopathie scheint die Zerstörung der Gewebearchitektur durch Kollagenumbau sein. Entscheidend für die physiologische Anordnung der Kardiomyozyten sind die zwischen den Kollagenfaserbündeln ausgebildeten Quervernetzungen (cross-links).
Da die einzelnen Kardiomyozyten zur Ermöglichung einer effektiven Kraftübertragung von einem Netzwerk von Kollagenfasern umgeben sind, geht eine Zerstörung dessen mit einem Auseinandergleiten der Muskelfasern (fiber slippage) und konsekutiver Ausdünnung der Ventrikelwand einher [207, 208].
Weber et al. [208] beobachteten an Herzen mit dilatativer Kardiomyopathie einen Ausriß und Schwund von Kollagenfasern, Fehlanordnung der Kardiomyozyten im Endomyokard mit Zunahme der intermuskulären Spalten, sowie eine Zunahme von sehr dünnen Typ-III-Kollagenfasern. An den Stellen mit dicken Typ-I-Kollagenfaserbündeln fehlten die Querverbindungen. Bei der dilatativen Kardiomyopathie ist die Konzentration der stabilen Pyridinolin-cross-links im Vergleich zu gesundem Myokardgewebe um 50% reduziert [66, 133], wobei der Gesamtkollagengehalt des Myokards erhöht ist [10, 66, 116, 133, 144, 167].

Am Tiermodell konnte gezeigt werden, daß eine kardiale MMP-1-Expression zunächst zu einem Anstieg des kardialen Kollagengehaltes durch Überexpression von Typ-III-Kollagen und kompensatorischer Myozytenhypertrophie führt. Bei chronischer MMP-1-Expression sinkt der interstitielle Kollagengehalt und es kommt zu einer Ventrikeldilatation und damit zu einer Verschlechterung der systolischen Funktion. Aus geometrischen Gründen nimmt konsekutiv die Dehnbarkeit des Herzens ab [89]. Eine Ventrikeldilatation, die nicht durch eine akute Überdehnung bedingt ist, muß als wesentliche Ursache einen Umbau des organisatorisch relevanten Kollagennetzwerkes haben.

Verschiedene Studien konnten bei der dilatativen Kardiomyopathie auf Transkriptions- und Proteinebene eine Veränderung im Kollagenstoffwechsel im Sinne einer erhöhten Aktivität der Matrixmetalloproteinasen nachweisen [179, 191, 198, 199]. Kollagenauf- und –abbau -bruchstücke (PIIINP und ICTP) sind im Serum von Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie in erhöhter Konzentration gefunden worden [90].

1.4 Ziel der Untersuchung

MMP-1 und TIMP-1 können nützliche Informationen über das kardiale Remodeling und den kardialen Kollagenstoffwechsel liefern. Im Rahmen der bisherigen Studien zur dilatativen Kardiomyopathie sind Gesamtaktivitäten verschiedener Matrixmetalloproteinasen und der Inhibitoren TIMP-1 und –2 auf der Transkriptions- und Proteinebene mit Hilfe von Northern-blot-Analysen und Substratzymographien bestimmt worden.

Mit dieser Untersuchung sollte entsprechend den Überlegungen zur Kollagendegradation bei essentieller Hypertonie von Laviades et al. [104] untersucht werden, inwiefern es möglich ist, die Kollagenstoffwechselmarker MMP-1, -3 und -9, TIMP-1, PICP und ICTP, im periphervenösen Blut zu bestimmen und ob eine Veränderung des Kollagenstoffwechsels bei Patienten mit idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie mit klinischen Parametern korreliert.

Wegen ihrer Bedeutung an der Aktivierung anderer Matrixine und ihrer Substratvielfalt wurde die Aktivität der Matrixmetalloproteinase-3 im periphervenösen Blut bestimmt.

Die MMP-9-Konzentrationen wurden gemessen, um Veränderungen im Terminalschritt der fibrillären Kollagendegradation zu bestimmen.

Da die Prognose der dilatativen Kardiomyopathie trotz der heute zur Verfügung stehenden therapeutischen Optionen noch immer schlecht ist, sollte darüber hinaus ermittelt werden, ob einer veränderten Serumkonzentration von MMP-1, TIMP-1, ICTP und PICP eine prognostische Bedeutung zukommt. Zur Evaluierung der Bedeutung der Kollagenparameter in Bezug auf die Prognose wurde ein klinisches Follow-up durchgeführt.

2 Untersuchungen der Extrazellulärmatrix bei der dilatativen Kardiomyopathie

2.1 Patientenkollektiv

2.1.1 Gesamtkollektiv

Es wurden bei 43 Patienten (5 Frauen, 38 Männer) im Alter von 56 ± 2 Jahren (31 bis 83 Jahre) mit der klinischen Diagnose einer idiopathischen dilatativen Kardiomyopathie periphervenöse Blutproben entnommen. Der Einschluß in das Patientenkollektiv setzte eine nicht-invasive und eine invasive kardiologische Diagnostik voraus. Bei allen Patienten wurde zunächst eine ausführliche Anamnese erhoben und eine echokardiographische Untersuchung durchgeführt. Als Einschlußkriterium wurde die Größe des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers gemäß dem Kriterium der Val-HeFT-Studie [46] mit größer oder gleich 2,9 cm/m² Körperoberfläche gewählt.
Die Patienten erhielten zur Erfassung der hämodynamischen Standardparameter eine Angiokardiographie. Mittels invasiver Herzkatheteruntersuchung wurde eine koronare Makroangiopathie ausgeschlossen und eine eingeschränkte linksventrikuläre Pumpfunktion (Ejektionsfraktion ≤ 45%) nachgewiesen. Es erfolgte ferner der Ausschluß einer sekundären Ursache der Ventrikelfunktionsstörung infolge von Herzklappenfehlern, arterieller Hypertonie oder Schilddrüsenfunktionsstörungen. Bei einem Teil der Patienten wurden im Rahmen der Routinediagnostik zum Ausschluß einer Myokarditis oder eines anderen infiltrativen Prozesses Myokardbiopsien entnommen.
Keiner der Patienten zeigte laborchemisch eine Erhöhung der Leberenzyme (ALT, AST, GGT) oder litt unter einer Leberfibrose oder –zirrhose. Es gab keine klinischen Hinweise auf das Vorliegen einer Osteoporose, eines Myeloms, einer anderen malignen Erkrankung, osteolytischer Metastasen, einer systemischen Therapie mit Glukokortikoiden oder einer rheumatoiden Arthritis. Der Serumkreatininspiegel lag bei allen Patienten der DCM-Gruppe unter 1,2mg/100ml.

Eingeschlossen wurden nur Patienten, die jedes Einschluß- und kein Ausschlußkriterium erfüllten:

Einschlußkriterien	Ausschlußkriterien
▪ Ausschluß koronare Makroangiopathie ▪ Ausschluß von Hinweisen auf eine sekundäre Herzmuskelerkrankung ▪ Ejektionsfraktion ≤ 45% ▪ LVEDD ≥ 2,9 cm/m² Körperoberfläche	▪ Hinweis auf eine sekundäre Herzmuskelerkrankung ▪ EF > 45% ▪ LVEDD < 2,9 cm/m² Körperoberfläche ▪ Leberzirrhose ▪ Osteoporose ▪ maligne Erkrankung ▪ systemische Glukokortikoidtherapie ▪ terminale Niereninsuffizienz ▪ rheumatoide Arthritis

Tabelle 6: Einschluß-/Ausschlußkriterien für Patienten der DCM-Gruppe

Alle Patienten standen zum Zeitpunkt der Blutentnahme unter einer Standardherzinsuffizienztherapie mit ACE-Hemmern (n = 43), Diuretika (n = 43), Glykosiden (n = 43) und Betarezeptorenblockern (n = 43), die aufgrund ethischer Gesichtspunkte für die Studie weder abgesetzt noch verändert wurde.

2.1.2 Subkollektiv

Bei einem Subkollektiv von 10 Patienten (Durchschnittsalter: 64± 4 Jahre, 39 bis 83 Jahre) und 10 Kontrollpersonen aus dem Gesamtkollektiv (Durchschnittsalter: 56 ± 6 Jahre, 24 bis 80 Jahre; p = 0,353) wurden die Serumkonzentrationen von MMP-3 und MMP-9 (gesamt) bestimmt.

2.1.3 Kontrollkollektiv

Das Kontrollkollektiv bestand aus 47 Personen (18 Frauen und 29 Männer) mit einem Durchschnittsalter von 50 ± 2 Jahren (22 bis 80 Jahre; p = 0,11). In der Kontrollgruppe lagen keine Hinweise auf das Vorhandensein eines kardialen Leidens (Herzinsuffizienz, Myokardinfarkt, Myokarditis, Klappenvitien) oder eines der Ausschlußkriterien vor.

2.2 Material und Methoden

2.2.1 Blutentnahme und Probenaufbereitung

Für die Bestimmung der Konzentrationen der Matrixmetalloproteinasen-1 (MMP-1), - 3 (MMP-3) und -9 (MMP-9), des Tissue-Inhibitors der Matrixmetalloproteinase-1 (TIMP-1), des MMP-1/TIMP-1-Komplexes sowie der Konzentrationen des carboxyterminalen Telopeptids des Typ-I-Kollagens (ICTP) und des carboxyterminalen Propeptids des Typ-I-Prokollagens (PICP) wurden jeweils 24 Milliliter Blut mit einer 21 Gauge-Kanüle aus einer oberflächlichen Armvene in der Fossa cubitalis mittels eines Vacutainer®-Systems (Becton Dickinson®, goldene Verschlußkappe nach CMYK-Farbschema) entnommen. Das Blut wurde nach der Probenentnahme bei 3000 rpm für 10 Minuten bei 4°C zur Serumgewinnung zentrifugiert und nach Aliquotierung zu je 500 µl in Eppendorf-Gefäßen bis zur Bearbeitung bei –80°C gelagert.

2.2.2 ELISA-Untersuchungen

2.2.2.1 Human MMP-1 Immunoassay

Die Bestimmung der Serumkonzentration von MMP-1 erfolgte nach der zweistufigen Sandwich-ELISA-Methode, die unter Verwendung von zwei unterschiedlichen Antikörpern gegen verschiedene Epitope des gleichen Matrixmetalloproteinasemoleküls durchgeführt wurde. Zur Farbentwicklung kommt es durch Hinzugabe eines Enzymsubstrates zu dem MMP-Antigen-Antikörper-Komplex.
Die hierfür verwendeten ELISA-Kits (Chemicon International, Temecula, CA, USA) beinhalten eine Mikrotiterplatte, deren Vertiefungen (n = 96) mit einem gegen MMP-1 gerichteten Antikörper beschichtet sind, ferner enzymmarkierte Antikörperlösung, Farbreagenz (3,3‘,5,5‘-Tetramethylbenzidin + H_2O_2), lipophilisierten Assay-Puffer, lipophilisierten MMP-1-Standard und konzentrierte Waschlösung (Na_3PO_4, pH 7,0).

Die mit diesem Kit bestimmten Konzentrationen repräsentieren die MMP-1- und pro-MMP-1-Konzentrationen, sowie die Matrixmetalloproteinase-1, die mit TIMP-1 beziehungsweise –2 komplexiert ist.
Der Antikörper interferiert nicht mit α_2-Makroglobulin.
Die Inter- und Intraassayvariationen betragen 6,1 und 3,7%. Die Sensitivität (unterste Nachweisgrenze) beträgt 0,16 ng MMP-1/ml.
Die Waschlösung wurde durch Zufügen von 480 ml destilliertem Wasser zu konzentrierter Waschlösung (20 ml) hergestellt.

Der lipophilisierte Puffer wurde in 20 ml destilliertem Wasser (Aqua bidest.) aufgelöst. Die Standardlösung (3,6 ng/ml) wurde durch Hinzufügen von 1 ml destilliertem Wasser (Aqua bidest.) zum lipophilisierten MMP-1-Standard hergestellt.
Es wurde eine Standardverdünnungsreihe mit den Konzentrationen 3,6; 1,8; 0,9; 0,45; 0,23; 0,11 und 0 ng/ml erstellt.
Die enzymmarkierte Antikörperlösung wurde durch Zufügen von 12 ml Pufferlösung zum Antikörperkonzentrat erstellt.

Nach dem Auftauen der Patienten- und Kontrollseren wurden diese 1:5 mit Waschlösung verdünnt.

Jeweils 100 µl der Standards und der Seren wurden als Doppelbestimmung auf die Mikrotiterplatte aufgetragen, die dann für 120 Minuten bei Raumtemperatur (20-30°C) inkubiert wurde. Die Lösung wurde dann entfernt und die Titerplatte viermal mit Waschlösung gewaschen. Nach dem Waschvorgang wurden jeweils 100 µl enzymmarkierte Antikörperlösung in die Vertiefungen pipettiert und für 60 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach erneutem viermaligen Waschen wurde das Farbreagenz (jeweils 100 µl) hinzugegeben. Die Reaktion wurde nach 30 Minuten durch 100 µl H_2SO_4 (1mol/l) als Stopplösung beendet. Mit Hilfe eines Photometers konnte per optischer Dichtemessung im Bereich von 450 nm (A_{450}) die Serumkonzentration anhand der Extinktion bestimmt werden.

Bestimmung der freien MMP-1-Konzentration

Die freien MMP-1-Serumkonzentrationen der jeweiligen Patienten beziehungsweise Kontrollen wurden nach dem Modell von Laviades et al. [104] durch Bestimmung der Differenz aus der jeweiligen MMP-1-Serumkonzentration und der Konzentration des MMP-1-/TIMP-1-Komplexes (2.2.2.3) berechnet.

$$MMP\text{-}1_{frei} = MMP\text{-}1_{gesamt} - MMP\text{-}1\text{-}/TIMP\text{-}1\text{-}Komplex$$

2.2.2.2 Human TIMP-1-Immunoassay

Zur Messung der TIMP-1-Serumkonzentrationen wurde ein einstufiger Festphasen-Sandwich-ELISA der Firma Chemicon, Temecula, CA, USA verwendet, bei dem das TIMP-Molekül zwischen der Festphase und einem enzymmarkierten Antikörper gebunden und mit einem Enzymkonzentrat und einem Farbreagenz inkubiert wird. Aus dieser Inkubation resultiert ein Farbumschlag. Anhand der Absorption, die photometrisch bestimmt wird, wird dann die Konzentration bestimmt.

Die Inter- und Intraassayvariationen betragen 6,4 und 4,3%. Die Sensitivität (unterste Nachweisgrenze) beträgt 0,05 ng TIMP-1/ml.

Der ELISA beinhaltet eine Mikrotiterplatte, deren Vertiefungen (n = 96) mit einem gegen TIMP-1 gerichteten Antikörper beschichtet sind, eine Vinylplatte, ein Antikörper-HRP-Konjugat, Pufferlösung (Kälberalbumin in Na_3SO_4) Farbreagenzien (o-Phenylendiamin = OPD + 0,02%iges H_2O_2), Stopplösung (2 normale H_2SO_4), lipophilisierten TIMP-1-Standard und konzentrierte gepufferte Waschlösung (Na_3PO_4).

Die Pufferlösung wurde mit 20 ml destilliertem Wasser (Aqua bidest.) versetzt. Die Standardlösung (49 ng/ml) wurde durch Hinzufügen von 500 µl physiologischer Kochsalzlösung zum lipophilisierten TIMP-1-Standard hergestellt.
Es wurde eine Standardverdünnungsreihe mit den Konzentrationen 49; 20; 7,8; 3,1; 1,2 und 0 ng/ml erstellt.
Das Antikörperkonjugat wurde zu 80 µl gepufferter Waschlösung und der Pufferlösung gegeben.
Die Farblösung wurde durch Mischen von 5 ml 0,02%igem Wasserstoffperoxid und 5 ml OPD hergestellt. Die Waschlösung wurde durch Zufügen von 400 µl Pufferlösung zu 100 ml physiologischer Kochsalzlösung hergestellt.

Nach dem Auftauen der Patienten- und Kontrollseren wurden diese 1:41 mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Jeweils 10 µl der Standards und der verdünnten Seren wurden als Doppelbestimmung in die Vinylplatte pipettiert. Nach Zugabe von jeweils 150 µl Antikörper-HRP-Lösung wurden jeweils 100 µl auf die mit einem Antikörper beschichteten Mikrotiterplatte übertragen und für 30 Minuten bei Raumtemperatur (15-30°C) inkubiert. Anschließend wurde die Reaktion durch 200 µl Waschlösung gestoppt. Nach zweimaligem Waschen mit jeweils 300 µl Waschlösung wurden die Vertiefungen der Mikrotiterplatte mit jeweils 100 µl Farbreagenz versetzt und für 15 Minuten bei 15-30°C inkubiert. Die Enzymreaktion wurde dann durch 100 µl 2n H_2SO_4 gestoppt.
Mit Hilfe eines Photometers konnte per Absorptionsmessung im Bereich von 492 nm die Konzentration von TIMP-1 bestimmt werden.

Bestimmung der freien TIMP-1-Konzentration

Die freien TIMP-1-Serumkonzentrationen der jeweiligen Patienten beziehungsweise Kontrollen wurden nach dem Modell von Laviades et al. [104] durch Bestimmung der Differenz aus der jeweiligen TIMP-1-Serumkonzentration und der Konzentration des MMP-1-/TIMP-1-Komplexes (2.2.2.3) berechnet.

$$TIMP\text{-}1_{frei} = TIMP\text{-}1_{gesamt} - MMP\text{-}1\text{-}/TIMP\text{-}1\text{-}Komplex$$

2.2.2.3 Human MMP-1/TIMP-1 Complex Immunoassay

Zur Messung der TIMP-1-Serumkonzentrationen wurde ein zweistufiger Festphasen-Sandwich-ELISA der Firma Chemicon, Temecula, CA, USA verwendet.
Das Serum reagiert mit immobilisierten monoklonalen Anti-MMP-1-Antikörpern und enzymmarkierten Anti-TIMP-1-Antikörpern. Zur Farbentwicklung kommt es nach Inkubation mit einem Enzymsubstrat, dessen Aktivität proportional zur MMP-1/TIMP-1-Aktivität ist.

Die Inter- und Intraassayvariationen betragen 5,6 und 3,2%. Die Sensitivität (unterste Nachweisgrenze) beträgt 0,02 ng/ml.

Die zur Bestimmung des komplexierten MMP-1 und TIMP-1 verwendeten ELISA-Kits der Firma Chemicon International, Temecula, CA, USA, beinhalten eine Anti-MMP-1 beschichtete Mikrotiterplatte (96 Vertiefungen), konzentrierte enzymmarkierte Anti-MMP-1-Antikörperlösung, Farbreagenz (3,3‘,5,5‘-Tetramethylbenzidin + H_2O_2), lipophilisierten Assay-Puffer, lipophilisierten MMP-1/TIMP-1-Standard (3,6 ng/ml) und konzentrierte Waschlösung (Na_3PO_4, pH 7,0).

Die Waschlösung wurde durch Zufügen von 480 ml destilliertem Wasser zur konzentrierten Waschlösung (20 ml) hergestellt.
Der lipophilisierte Puffer wurde mit 20 ml destilliertem Wasser (Aqua bidest.) aufgelöst. Die Standardlösung (3,6 ng/ml) wurde durch Hinzufügen von 1 ml destilliertem Wasser (Aqua bidest.) zum lipophilisierten MMP-1/TIMP-1-Standard hergestellt.
Es wurde eine Standardverdünnungsreihe mit den Konzentrationen 3,6; 1,8; 0,9; 0,45; 0,23; 0,11 und 0 ng/ml erstellt.
Die enzymmarkierte Antikörperlösung wurde durch Zufügen von 12 ml Pufferlösung zum konzentrierten enzymmarkierten Antikörperkonzentrat erstellt.

Nach dem Auftauen der Patienten- und Kontrollseren wurden diese 1:5 mit Waschlösung verdünnt.

Jeweils 100 µl der Standards und der verdünnten Serumproben wurden als Doppelbestimmung auf die Anti-MMP-1-beschichtete Mikrotiterplatte aufgetragen. Die Mikrotiterplatte wurde anschließend für 120 Minuten bei Raumtemperatur (20-30°C) inkubiert. Die Lösung wurde entfernt und die Titerplatte viermal mit Waschlösung gewaschen. Nach dem Waschvorgang wurden jeweils 100 µl TIMP-1- Antikörperlösung in die Vertiefungen pipettiert und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Nach erneutem viermaligen Waschen wurde das Farbreagenz (jeweils 100 µl) hinzugegeben. Die Reaktion wurde nach 30 Minuten bei 20-30°C durch 100 µl 1molare H_2SO_4 gestoppt. Mit Hilfe eines Photometers konnte die Absorption im Bereich von 450 nm (A_{450}) bestimmt und die Serumkonzentration anhand der erstellten Standardkurve bestimmt werden.

2.2.2.4 Matrixmetalloproteinase-9-Aktivitätsassay

Zur Bestimmung der MMP-9-Gesamtkonzentration (freies MMP-9 und pro-MMP-9) wurde ein Biotrak™ MMP-9-Aktivitäts-Assay-System der Firma Amersham Pharmacia Biotech (Buckinghamshire, England) verwendet.

Der Assay besteht aus einer mit Anti-MMP-9-Antikörper beschichteten Mikrotiterplatte mit 96 Vertiefungen, einem lipophilisierten Standard (64 ng pro-MMP-9/ml), Tris-HCl-Puffer (pH 7,6), p-Aminophenylquecksilberacetat (APMA), einem Nachweisenzym (modifizierte Pro-Urokinase in Tris-Puffer), einem lipophilisierten Substrat (S-2444™) und Waschlösung (Phosphatpuffer, pH 7,0).

Mit dem Aktivitätsassay ist es möglich, Gesamtkonzentrationen (latente und aktive Form) der MMP-9 zu bestimmen. Zur Bestimmung der Gesamtkonzentration wird pro-MMP-9 durch Zugabe von p-Aminophenylquecksilberacetat (APMA), das als Aktivator der Pro-Form dient, in MMP-9 umgewandelt.

Das Testsystem verwendet die Pro-Form eines Nachweisenzyms, eine modifizierte Pro-Urokinase. Die Pro-Urokinase wird in einem proteolytischen Schritt durch antikörpergebundenes MMP-9 gespalten und durch ein Farbreagenz (S-2444™) nachgewiesen. Der resultierende Farbumschlag wird bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen.

Der im Assay verwendete Anti-MMP-9-Antikörper reagiert mit pro-MMP-9 und aktivem MMP-9. Es besteht keine Kreuzreaktivität mit anderen MMPs oder TIMPs. Es besteht eine 38,53%ige Kreuzreaktivität mit dem pro-MMP-9/TIMP-1-Komplex, eine 21,64%ige Kreuzreaktivität mit dem MMP-9/TIMP-1-Komplex und eine 7,04%ige Kreuzreaktivität mit dem MMP-9/TIMP-2-Komplex.

Die Interassay- und Intraassayvariation beträgt 20,87 bzw. 3,6%.
Die Sensitivität (unterste Nachweisgrenze) beträgt 0,5 ng/ml.

Die bei -80°C gelagerten Serumproben wurden nach Auftauen 1:32 mit Assaypuffer verdünnt.

Aus dem lipophilisierten Stock-Standard (64 ng/ml), der durch Zugabe von 1 ml Assaypuffer rekonstituiert wurde, wurde eine Standardverdünnungsreihe der Konzentrationen 32, 16, 8, 4 und 2 ng/ml erstellt.

In die Vertiefungen der mit Anti-MMP-9-Antikörpern beschichteten Mikrotiterplatte wurde in Doppelbestimmung jeweils 100 µl des entsprechenden Standards und jeweils 100µl Serum zur Bestimmung der Gesamtkonzentration und zur Bestimmung der endogenen aktiven MMP-9-Konzentration pipettiert. Die Mikrotiterplatte wurde über Nacht bei 4°C inkubiert.
Nach abgeschlossener Inkubation wurde die Mikrotiterplatte viermal mit Waschlösung gespült.

Das in Pulverform vorliegende APMA wurde vor Verwendung mit 1 ml Dimethylsulfoxid (DMSO) aufgelöst. Um eine 1 millimolare (1 mM) APMA-Lösung zu erhalten, wurden 10µl des Konzentrates mit 10 ml Assaypuffer vermischt.

Jeweils 50µl der APMA-Lösung wurden in die Vertiefungen pipettiert, die die Standardlösungen enthielten und in die Vertiefungen, die Serum zur Bestimmung der MMP-9-Gesamtkonzentration enthielten.
In die Vertiefungen mit Serum zur Bestimmung der Konzentration des endogen aktivierten MMP-9 wurde 50 µl Assaypuffer pipettiert.

Nach Schütteln (t = 20 s) wurde die Mikrotiterplatte für 2 Stunden bei 37°C inkubiert.

Anschließend wurden in alle Vertiefungen 50 µl des Nachweisreagenz, das im Verhältnis 1:1 aus Detektionsenzym und Substrat hergestellt wurde, pipettiert.

Nach Schütteln (t = 20 s) wurde der t_0-Wert durch photometrische Bestimmung (λ = 405 nm) ermittelt und die Platte für 3 Stunden bei 37°C inkubiert.

Im Anschluß an die Inkubation wurden die Konzentrationen durch photometrische Bestimmung der optischen Dichten (OD_{450}) und Auftragen der Absorption gegen die MMP-9-Standardkonzentrationen ermittelt.

2.2.2.5 Human MMP-3 Immunoassay

Die Bestimmung der Serumkonzentration von MMP-3 erfolgte mit einem Biotrak™ ELISA System der Firma Amersham Pharmacia Biotech, England, nach der zweistufigen Sandwich-ELISA-Methode. Hierbei werden zwei unterschiedliche Antikörper, die gegen verschiedene Epitope des gleichen Matrixmetalloproteinasemoleküls gerichtet sind, verwendet.
An die Mikrotiterplatte gebundene Matrixmetalloproteinase-3 wird durch einen mit Meerrettichperoxidase markierten Fab'-Anti-MMP-3-Antikörper nachgewiesen. Nach Zugabe eines Farbreagenz (TMP-Substrat) kommt es durch die gebundene Peroxidase zu einer Farbreaktion.
Die MMP-3-Konzentrationen werden nach spektrophotometrischer Bestimmung der optischen Dichten bei 450 nm durch Interpolation der Standardkurve bestimmt.

Der verwendete ELISA-Kit beinhaltet eine Mikrotiterplatte, deren Vertiefungen (n = 96) mit einem gegen MMP-3 gerichteten Antikörper beschichtet sind, ferner einen lipophilisierten MMP-3-Standard (240 ng) , Assayphosphatpuffer (pH 7,0), ein lipophilisiertes anti-MMP-3 Meerrettichperoxidasekonjugat, TMB-Substrat (3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin (TMB)/hydrogenperoxid) und Waschlösung.

Die mit diesem Kit bestimmten Gesamt-MMP-3-Konzentrationen repräsentieren aktive Matrixmetalloproteinase-3, pro-MMP-3 und in Form von MMP-3/TIMP-Komplexen gebundene Matrixmetalloproteinase-3.
Die verwendeten Antikörper gehen keine Kreuzreaktion mit MMP-1, -2, -9 und TIMP-1, -2 ein. Der verwendete ELISA weist nur MMP-3 nach, das nicht an den unspezifischen Proteaseinhibitor α_2-Makroglobulin gebunden ist.

Die Inter- und Intraassayvariationen betragen 11,27 und 3,1%. Die Sensitivität (unterste Nachweisgrenze) beträgt 2,35 ng MMP-3/ml.

Die Waschlösung wurde durch Zufügen von 487,5 ml destilliertem Wasser zu konzentrierter Waschlösung (12,5 ml) hergestellt.
Die Pufferlösung wurde durch Zufügen von 90 ml destilliertem Wasser zum Assaypufferkonzentrat (10 ml) hergestellt. Die Meerrettichperoxidaselösung wurde durch Zugabe von 12 ml des Assaypuffers zum Konjugat hergestellt.
Die Standardlösung (240 ng/ml) wurde durch Hinzufügen von 1 ml destilliertem Wasser (Aqua bidest.) zum lipophilisierten MMP-3-Standard hergestellt.
Es wurde eine Standardverdünnungsreihe mit den Konzentrationen 120; 60; 30; 15; 7,5; 3,75 und 0 ng/ml erstellt.

Nach dem Auftauen der Patienten- und Kontrollseren wurden diese 1:8 mit Assaypuffer verdünnt.

Jeweils 100 µl der Standards und der Seren wurden als Doppelbestimmung auf die Mikrotiterplatte aufgetragen, die dann für 60 Minuten bei 4°C inkubiert wurde. Die Mikrotiterplatte wurde entleert und viermal mit Waschlösung gewaschen. Nach dem Waschvorgang wurden jeweils 100 µl der mit Fab‘-Anti-MMP-3-Antikörpern markierten Peroxidaselösung in die Vertiefungen pipettiert und für 120 Minuten bei 4°C inkubiert. Nach erneutem viermaligen Waschen wurde das TMB-Substrat (jeweils 100 µl) hinzugegeben. Die Reaktion wurde nach 30 minütiger Inkubation bei Raumtemperatur durch Zugabe von jeweils 100 µl H_2SO_4 (1mol/l) gestoppt. Mit Hilfe eines Photometers konnten durch optischer Dichtemessung im Bereich von 450 nm (OD_{450}) die Serumkonzentrationen anhand der Extinktion bestimmt werden.

2.2.3 RIA-Untersuchungen

Die verwendeten Assays basieren auf der allgemein verwendeten RIA-Technik.
Eine Probe, die eine unbekannte Menge einer zu untersuchenden Substanz enthält, wird mit einer standardisierten radioaktiv markierten Menge eines Derivates dieser Substanz versetzt. Die markierten und unmarkierten Antigene konkurrieren dann um die in limitierter Anzahl zugefügten hochspezifischen Antikörper. Die Menge der radioaktiven Antigene im Antigen-Antikörper-Komplex ist umgekehrt proportional zur Konzentration des unmarkierten Antigens im Reaktionsgemisch. Nachdem das freie, ungebundene Antigen durch Waschen entfernt wurde, wird die verbleibende radioaktive Aktivität in Form von Zerfällen pro Minute gemessen. Die vorhandene Konzentration wird mit Hilfe der Standardkurve, die auf der gleichzeiten Messung der bekannten und der unbekannten Menge des vorhandenen Antigens beruht, berechnet.

2.2.3.1 ICTP-Radioimmunoassay

Die ICTP-Serumkonzentrationen wurden mit Hilfe eines Radioimmunoassays der Firma Orion Diagnostica, Finnland, bestimmt.
Der Kit enthielt eine mit PBS (Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung)-Puffer mit Ochsenserum-Albumin (BSA) und 0,05% NaN_3 versehene, gebrauchsfertige ^{125}I-markierte ICTP-Lösung, ein mit PBS-Puffer mit BSA und Na_3N (0,05%ig) versetztes ICTP-Antiserum (Kaninchen) und Standards der Konzentrationen 0; 1; 2,5; 5 ;10 ;25 und 50 µg/l. Als Separationsreagenz wurde eine Polyethylenglycol-Suspension in PBS-Buffer verwendet, die Ziegen-Anti-Kaninchen-Gammaglobulin und NaN_3 als Konservierungsmittel enthielt.
Ferner lagen zwei lipophilisierte ICTP-Kontrollen mit verschiedenen bekannten Konzentrationen vor.

Nach Auflösen der lipophilisierten Kontrollen mit jeweils 1 ml destilliertem Wasser (Aqua bidest.) und Auftauen der Serumproben wurden jeweils 100 µl des entsprechenden Standards, der Kontrollen und der zu messenden Seren als Doppelbestimmung unverdünnt in Reagenzgläser pipettiert. Nach Zugabe von jeweils 200 µl ^{125}I-markiertem ICTP und 200 µl Antiserum folgte eine zweistündige Inkubation bei 37°C. Zu den Standards, Kontrollen und Patientenseren wurden jeweils 500 µl Separationsreagenz hinzugefügt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. An die Inkubationszeit schloß sich eine Zentrifugation von 30 Minuten bei 2000 g und 4°C an. Nach dem Dekantieren wurde die Antikörper-gebundene Radioaktivität für eine Minute (Zerfälle/Minute) pro Probe gemessen. Die unbekannten Serumkonzentrationen wurden durch Interpolation aus der Standardkurve ermittelt.

Die Inter- und Intraassayvariabilität beträgt bei dem verwendeten Radioimmunoassay 5,7 und 4,8%. Die Sensitivität (untere Nachweisgrenze) beträgt 0,5 µg ICTP/l.

2.2.3.2 PICP-Radioimmunoassay

Die PICP-Serumkonzentrationen wurden mit Hilfe eines Radioimmunoassays der Firma Orion Diagnostica, Finnland bestimmt.
Der Kit enthielt eine mit PBS (Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung)-Puffer mit Ochsenserum-Albumin (BSA) und 0,05% NaN_3 versehene, gebrauchsfertige ^{125}I-markierte PICP-Lösung, mit PBS-gepuffertes und mit BSA und Na_3N (0,05%ig) versetztes PICP-Antiserum (Kaninchen) und Standards der Konzentrationen 0; 25; 50; 100 ;200 und 500 µg/l.
Als Separationsreagenz wurde eine Polyethylenglycol-Suspension in PBS-Buffer verwendet, die Ziegen-Anti-Kaninchen-Gammaglobulin und NaN_3 als Konservierungsmittel enthielt.
Ferner lagen zwei lipophilisierte ICTP-Kontrollen mit verschiedenen bekannten Konzentrationen vor.

Nach Auflösen der lipophilisierten Kontrollen mit jeweils 1 ml destilliertem Wasser (Aqua bidest.) und Auftauen der Serumproben wurden jeweils 100 µl des entsprechenden Standards, der Kontrollen und der zu messenden Seren als Doppelbestimmung unverdünnt in Reagenzgläser pipettiert. Nach Zugabe von jeweils 200 µl ^{125}I-markiertem PICP und 200 µl Antiserum folgte eine zweistündige Inkubation bei 37°C. Zu den Standards, Kontrollen und zu messenden Seren wurden jeweils 500 µl Separationsreagenz hinzugefügt und für 30 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. An die Inkubationszeit schloß sich ein Zentrifugation von 15 Minuten bei 2000 g und 4°C an. Nach dem Dekantieren wurde die Antikörper-gebundene Radioaktivität für eine Minute pro Bestimmung gemessen. Die unbekannten Serumkonzentrationen wurden durch Interpolation aus der Standardkurve ermittelt.

Die Inter- und Intraassayvariabilität des verwendeten RIAs betragen 5,1 und 2,8%. Die Sensitivität (untere Nachweisgrenze) beträgt 1,2 µg PICP/l.

2.2.4 Echokardiographische Untersuchungen

Mit Hilfe der zweidimensionalen Echtzeit-Echokardiographie (Toshiba Powervision 5000) wurden in typischer Weise die Dimensionen der Herzhöhlen, die Dicke des interventrikulären Septums, Veränderungen der Dimensionen und Dicken in der Zeit und regionale beziehungsweise globale Wandbewegungsmuster analysiert.
Der linksventrikuläre Durchmesser wurde zum einen in Millimetern bestimmt (LVEDD) und zum anderen in Beziehung der Körperoberfläche gesetzt und in Zentimetern pro Quadratmetern Körperoberfläche angegeben ($LVEDD_{KOF}$).

2.2.5 Herzkatheteruntersuchungen

Zum Ausschluß einer koronaren Makroangiopathie wurde eine Angiokardiographie durchgeführt, wobei die Herzhöhlen (Ventrikulographie) und die Herzkranzgefäße (Koronarangiographie) dargestellt wurden.
Die Untersuchung wurde im Rahmen der Routinediagnostik im Herzkatheterlabor der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie mit Hilfe eines Siemens Cathcor-Systems durchgeführt. Der Zugang erfolgte retrograd arteriell durch Punktion der Arteria femoralis rechts oder links und Einführung des Katheters (5 French) in Seldinger-Technik.
Zur Darstellung der Koronararterien und der Herzbinnenräume wurde ein röntgenstrahlenabsorbierendes Kontrastmittel injiziert. Anhand des Lävokardiogramms wurde durch Bestimmung des enddiastolischen und des endsystolischen Volumens das Schlagvolumen in Millilitern und die Auswurffraktion (Ejektionsfraktion) in Prozent bestimmt.
Eine Rechtsherzsondierung wurde bei einem Teil der Patienten zur Entnahme von Myokardbiopsien aus dem rechtsventrikulären Septum und zur Bestimmung des Pulmonalkapillardrucks (PC-Druck) durchgeführt. Der Zugang erfolgte durch Punktion der Vena femoralis rechts oder links. Bei Katheterlage in einem peripheren Pulmonalarterienast wurde das Gefäß durch den an der Katheterspitze befindlichen Ballon durch Aufblasen okkludiert, so daß der pulmonalkapilläre Verschlußdruck gemessen werden konnte.
Die Höhe der a-Welle der PC-Druckkurve (PCa) entspricht dem enddiastolischen Druck im linken Ventrikel (LVEDP).

2.2.6 Klinisches Follow-up

Nach einer Nachbeobachtungsdauer von 25,49 ± 0,98 Monaten (16 bis 41 Monate) wurde den 43 Patienten des DCM-Gesamtkollektivs per Post ein Fragebogen zugesandt, der folgende Fragestellungen beinhaltete:

- zwischenzeitliche Krankenhausaufenthalte,
- aktuelle Medikation,
- aktueller Gesundheitszustand unter besonderer Berücksichtigung von Symptomen der Herzinsuffizienz und von Herzrhythmusstörungen,
- subjektive Einschätzung der Veränderung des Gesundheitszustandes seit der Blutentnahme.

Den Patienten wurde die Möglichkeit gegeben, weitere Erkrankungen oder Auffälligkeiten anzugeben.
Patienten, deren Fragebogen nicht zurückgesandt worden war, wurden telefonisch kontaktiert. Den entsprechenden Patienten wurde der Fragebogen im Wortlaut vorgelesen.
Anhand der Patientenangaben wurde eine erneute Einschätzung der Belastbarkeit gemäß den Kriterien der New York Heart Association durchgeführt.

Das Gesamtkollektiv wurde nach erneuter Bestimmung der NYHA-Klasse in die Gruppen A und B eingeteilt. Die Gruppe A umfaßte die Patienten, deren Symptomatik im Vergleich zum Zeitpunkt t_0 (Blutentnahme) stabil beziehungsweise gebessert war. In die Gruppe B wurden die Patienten eingeschlossen, deren NYHA-Klassifkation schlechter war als zum Zeitpunkt t_0, die sich während der Beobachtungsphase einer Herztransplantation unterzogen hatten oder die während dieses Zeitraums verstorben waren.

2.3 Statistik

Die klinischen und serologischen Ergebnisse der deskriptiven Statistiken sind als Mittelwert und Standardfehler des Mittelwertes ($\overline{X}$ ± SEM) aufgeführt.

Die einzelnen Parameter zwischen der Kontroll- und der Patientengruppe wurden mit dem Mann-Whitney-U-Test für ungepaarte Stichproben auf Signifikanz geprüft.

Für die Prüfung der Unterschiede der NYHA-Klassifikation zum Zeitpunkt t_0 und t_1 wurde der nichtparametrische Wilcoxon-Test für verbundene Stichproben angewendet. Bivariate Korrelationen zwischen zwei Variablen wurden durch den nicht-parametrischen Spearman's Rho-Test berechnet (Rangkorrelationskoeffizienten r_s nach Spearman).

Ein p-Wert ≤ 0,05 galt als statistisch signifikant.

Die statistischen Analysen wurden mit dem Statistikprogramm SPSS (Version 10.1), lizensiert für die Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf, durchgeführt.

2.4 Ergebnisse

2.4.1 Klinische Befunde

2.4.1.1 Gesamtkollektiv

Parameter	DCM-Gruppe	Kontrollgruppe	p
n	43	47	
Alter [Jahre]	56 ± 2	50 ± 2	0,110
Geschlecht (m/w)	38/5	29/18	
NYHA-Klasse	2,6 ± 0,1	-	< 0,001
LVEDD [cm/m² KOF]	3,46 ± 0,07	-	
EF [%]	31,45 ± 1,66	-	
LVEDP [mm Hg]	23,86 ± 2,14	-	
CI [l/min/m²]	2,55 ± 0,17	-	

Tabelle 7: Charakteristika des Gesamtkollektivs

2.4.1.2 Subkollektiv

Parameter	DCM-Gruppe	Kontrollgruppe	p
n	10	10	
Alter [Jahre]	63 ± 4	56 ± 6	0,353
Geschlecht (m/w)	6/4	9/1	
NYHA-Klasse	2,7 ± 0,2	0	
LVEDD [cm/m² KOF]	3,77 ± 0,16	-	
EF [%]	27,49 ± 4,17	-	
LVEDP [mm Hg]	31,86 ± 5,28	-	
CI [l/min/m²]	2,28 ± 0,47	-	

Tabelle 8: Charakteristika des DCM-Subkollektivs

2.4.2 Biochemische Marker des Typ I-Kollagenstoffwechsels bei Patienten mit DCM und Kontrollen

2.4.2.1 MMP-1-Serumkonzentrationen

Die mittleren Gesamtserumkonzentrationen der MMP-1 waren in der DCM-Gruppe mit 5,96 ± 0,91 ng/ml gegenüber 2,43 ± 0,37 ng/ml in der Kontrollgruppe signifikant erhöht (p = 0,004). Die Konzentrationen der freien Matrixmetalloproteinase-1 betrug in der DCM-Gruppe 5,25 ± 0,82 versus 2,22 ± 0,29 ng/ml. Der Unterschied war ebenfalls signifikant (p = 0,02).

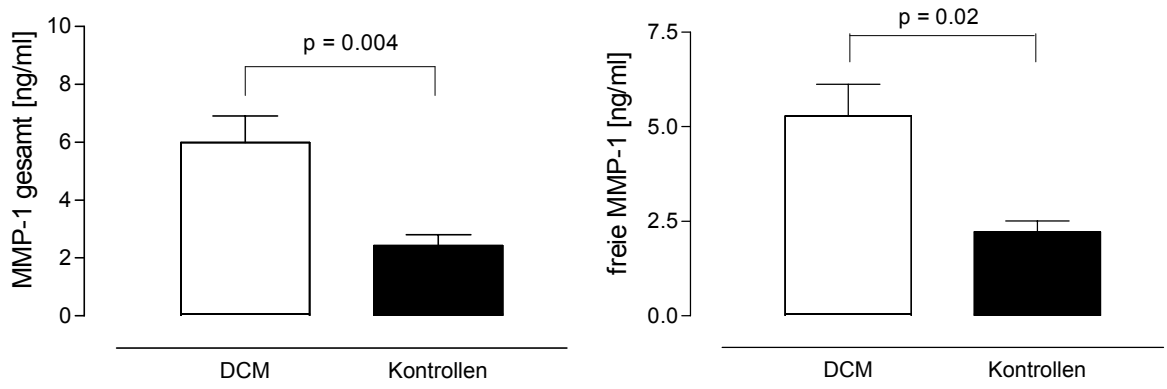


Abbildung 17: Mittlere Gesamtkonzentrationen und freie Konzentrationen von MMP-1 in ng/ml bei Kontrollen und DCM

2.4.2.2 TIMP-1-Serumkonzentrationen

Die mittleren TIMP-1-Gesamtserumkonzentrationen waren in der Gruppe der DCM-Patienten signifikant erhöht (211,99 ± 12,90 ng/ml versus 181,67 ± 8,58 ng/ml in der Kontrollgruppe; p = 0,02). Die Konzentration des freien TIMP-1 lag im Patientenkollektiv bei 211,26 ± 12,84 ng/ml. Im Vergleich dazu zeigten sich im Mittel signifikant niedrigere Werte im Kontrollkollektiv (181,44 ± 8,55 ng/ml; p = 0,02).

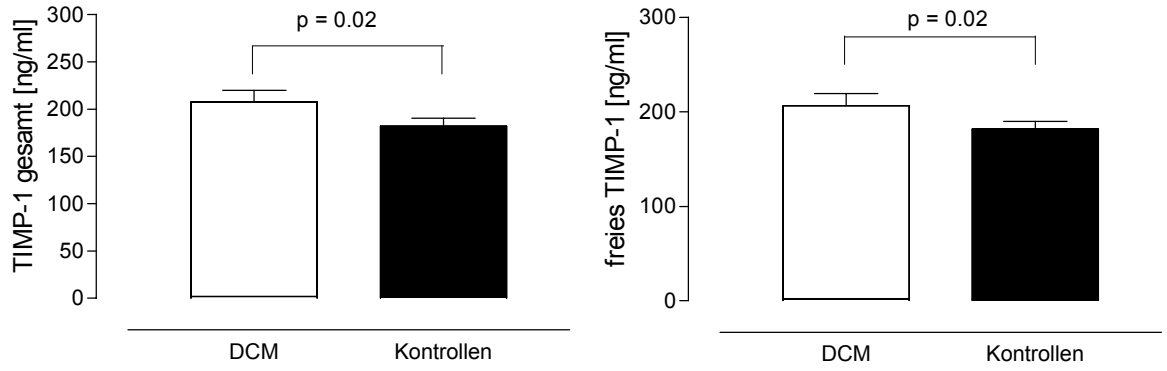


Abbildung 18: Mittlere Gesamtkonzentrationen und freie Konzentrationen von TIMP-1 in ng/ml bei Kontrollen und DCM

2.4.2.3 MMP-1-/TIMP-1-Komplex

Die mittleren Serumkonzentrationen des MMP-1-/TIMP-1-Komplexes lagen in der DCM bei 0,73 ± 0,13 ng/ml und lagen damit signifikant höher, als in der Kontrollgruppe (0,23 ± 0,12 ng/ml; $p < 0,001$).

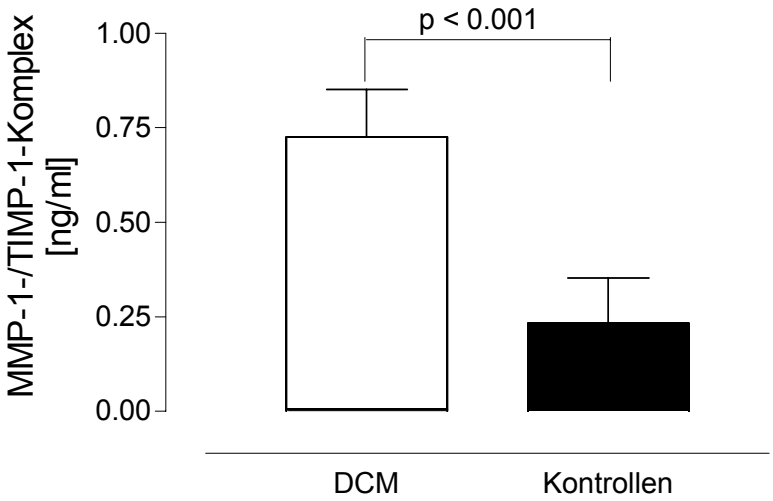


Abbildung 19: Mittlere Konzentrationen des MMP-1-/TIMP-1-Komplexes in ng/ml bei Kontrollen und DCM

2.4.2.4 MMP-1_{frei}/TIMP-1_{frei}-Ratio

Zur Bestimmung des Verhältnisses der freien Matrixmetalloproteinase zu ihrem Inhibitor TIMP-1 wurde der Quotient aus beiden Parametern gebildet, um die Ratio zu erhalten.
Die Ratio lag in der DCM-Gruppe im Mittel um den Faktor 2,5 höher, als bei der Kontrollgruppe (0,029 ± 0,005 versus 0,012 ± 0,001). Der Unterschied war signifikant erhöht (p = 0,01).

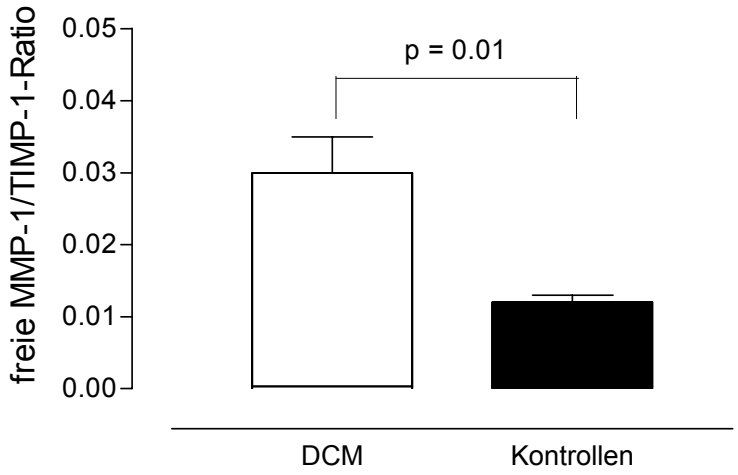


Abbildung 20: MMP-1_{frei}/TIMP-1_{frei}-Ratio bei DCM und Kontrollen

2.4.2.5 ICTP-Serumkonzentrationen

Die periphervenös bestimmte Konzentration des carboxyterminalen Telopeptids des Typ-I-Kollagens war dilatativer Kardiomyopathie erhöht. Die DCM-Gruppe wies signifikant höhere Konzentrationen auf (p < 0,001). Die mittleren Serumkonzentrationen betrugen in dieser Gruppe 7,62 ± 1,21 µg/l versus 3,44 ± 0,19 µg/l in der Kontrollgruppe.

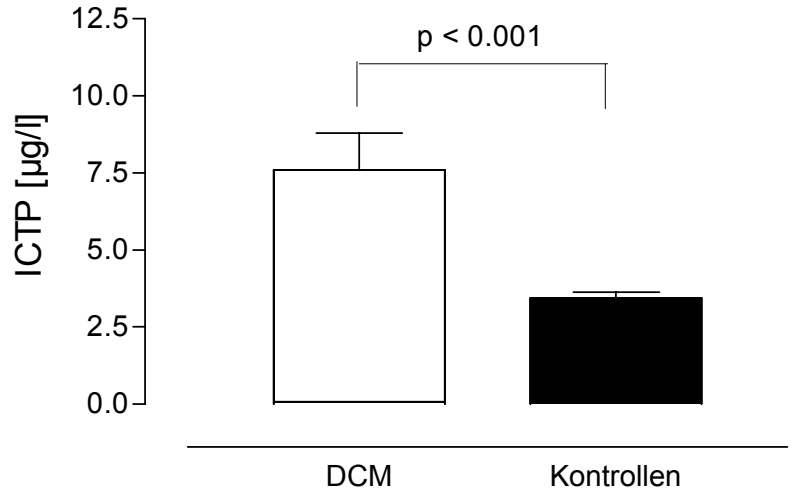


Abbildung 21: Mittlere Serumkonzentrationen des carboxyterminalen Telopeptids des Typ-I-Kollagens in µg/l bei DCM und Kontrollpersonen

2.4.2.6 PICP-Serumkonzentrationen

Bei der dilatativen Kardiomyopathie zeigte sich ein Trend zu erhöhten PICP Serumkonzentrationen (127,96 ± 8,79 µg/l versus 113,11 ± 5,47 µg/l). Die gemessenen Konzentrationen unterschieden sich mit p = 0,399 nicht signifikant voneinander.

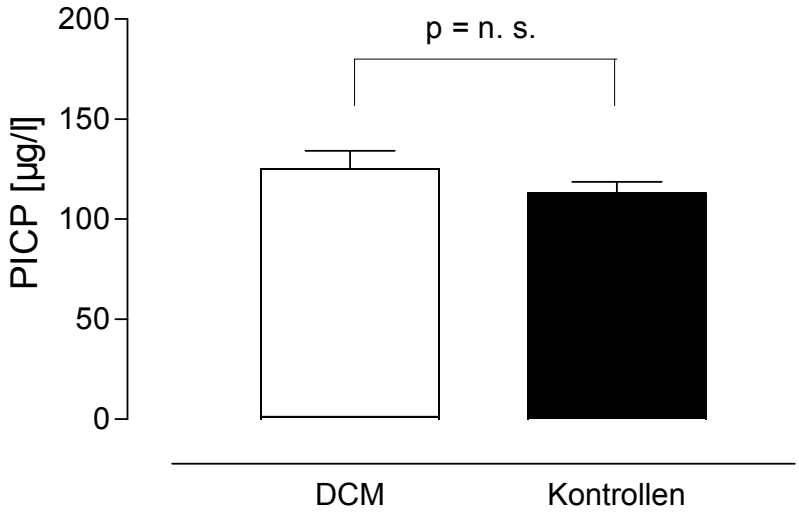


Abbildung 22: Mittlere Serumkonzentrationen des carboxyterminalen Propeptids des Typ-I-Prokollagens in µg/l bei DCM und Kontrollpersonen

2.4.2.7 MMP-9-Aktivität

Die Proform und die freie Form der MMP-9 (Gesamt-MMP-9) waren im DCM-Subkollektiv mit 288,05 ± 51,65 ng/ml gegenüber 153,57 ± 24,88 ng/ml im Kontrollsubkollektiv signifikant erhöht (p = 0,04).

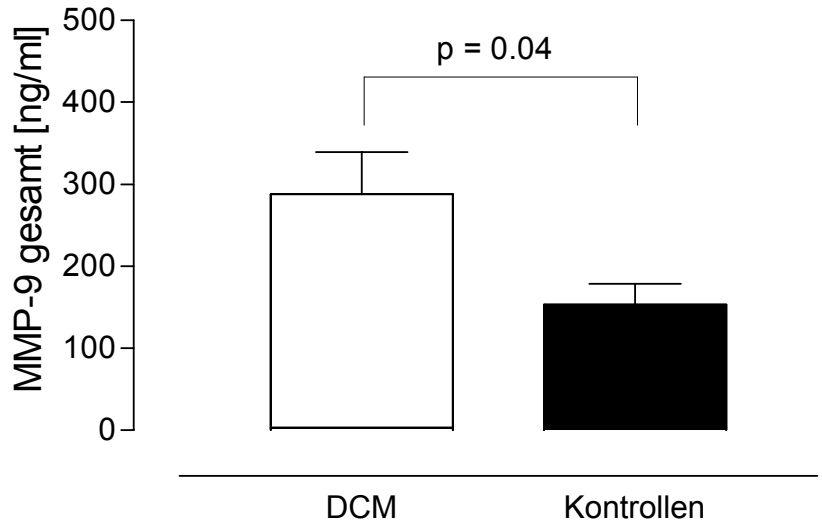


Abbildung 23: Mittlere Konzentrationen der MMP-9-Gesamtkonzentration (ng/ml) bei Kontrollen und DCM

2.4.2.8 MMP-3-Serumkonzentrationen

Die Serumkonzentrationen der Matrixmetalloproteinase-3 liegen bei Patienten mit idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie im Mittel bei 74,71 ± 12,76 ng/ml und sind damit nur tendeziell im Vergleich zu den Kontrollen (61,23 ± 11,17 ng/ml) erhöht, unterscheiden sich jedoch nicht signifikant von diesen (p = 0,579).

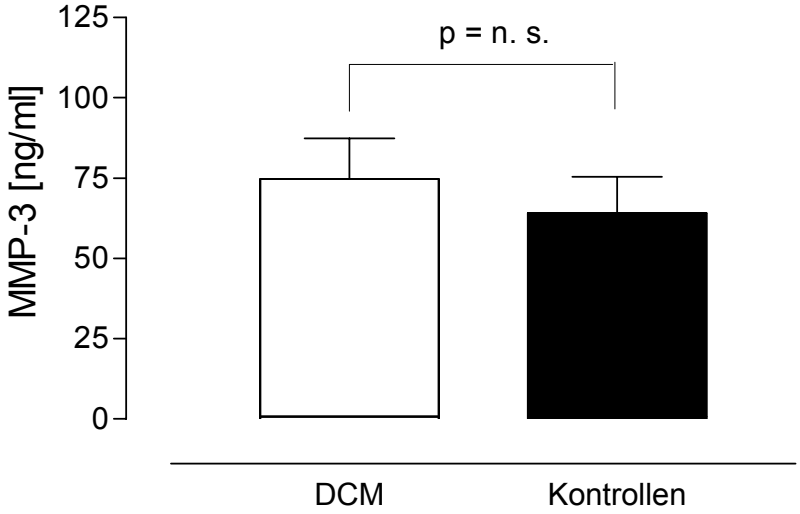


Abbildung 24: Mittlere Konzentrationen der MMP-3-Gesamtkonzentration [ng/ml] bei Kontrollen und DCM

2.4.2.9 Zusammenfassung der Ergebnisse

In der folgenden Tabelle (Tabelle 9) sind ausschließlich signifikante Unterschiede ($p \leq 0,05$) der verschiedenen Parameter zwischen den Gruppen (DCM vs. Kontrollen) in Form von Pfeilen dargestellt.

Parameter	**DCM-Patienten versus Kontrollen**
MMP-1	
Gesamtkonzentration	↑
freies MMP-1	↑
TIMP-1	
Gesamtkonzentration	↑
freier TIMP-1	↑
MMP-1-/TIMP-1-Komplex	↑
$MMP\text{-}1_{frei}/TIMP\text{-}1_{frei}$-Ratio	↑
Gesamt-MMP-9	↑
ICTP	↑

Tabelle 9: Zusammenfassung der Ergebnisse (signifikante Unterschiede Patienten vs. Kontrollen)

2.4.3 Korrelationen der Serummarker

2.4.3.1 Kontrollkollektiv

Innerhalb der Kontrollgruppe fand sich eine Korrelationen zwischen dem Alter und den Typ-I-Kollagenbruchstücken ICTP und PICP. Das Telopeptid zeigte eine positive Korrelation (r_s = 0,348; p = 0,008), wohingegen das Propeptid negativ mit dem Alter korrelierte (r_s = -0,376, p = 0,005).

Des weiteren korrelierte das freie TIMP-1 mit dem Alter (r_s = 0,387; p = 0,004). MMP-1 korrelierte nicht signifikant mit dem Alter (r_s = 0,133; p = 0,191).

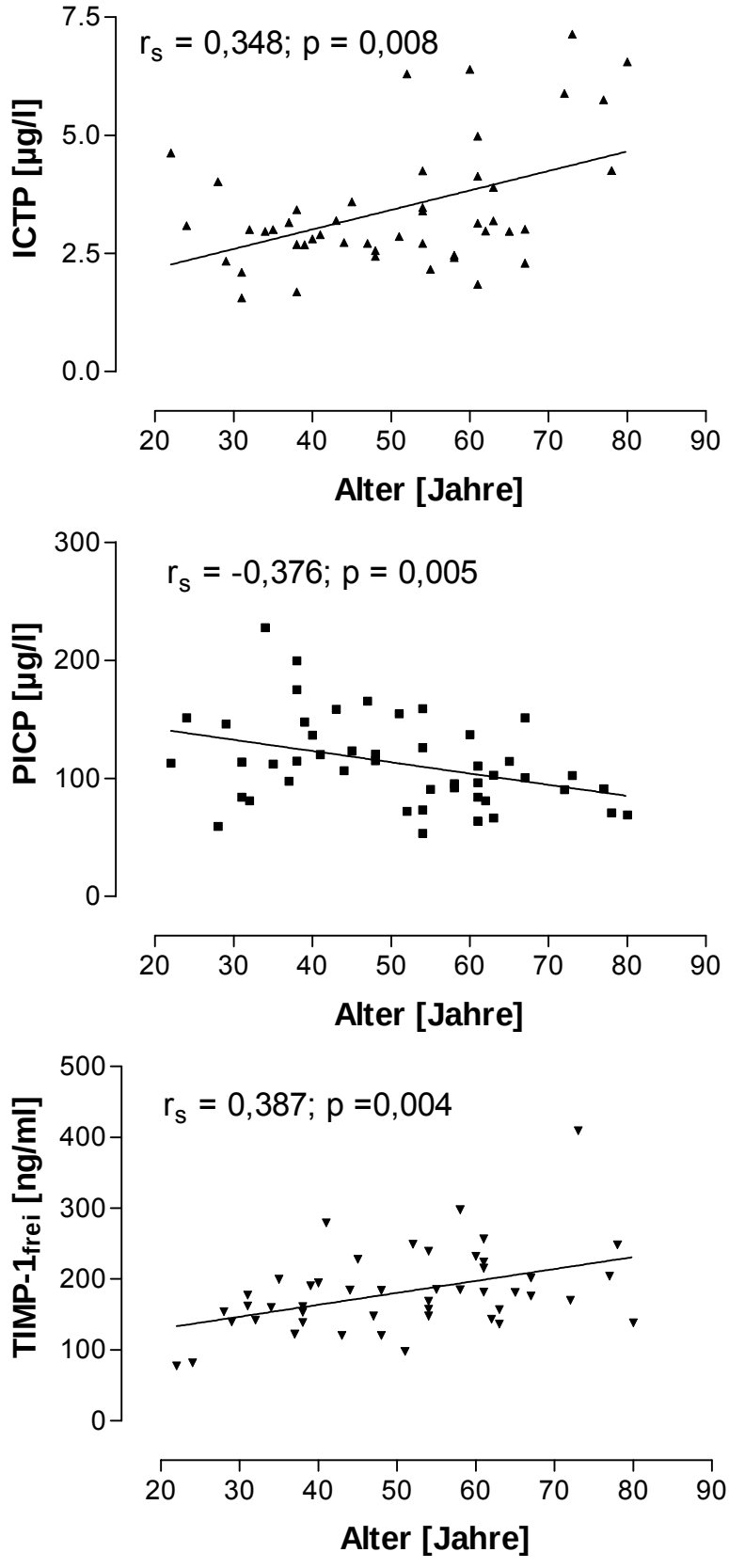


Abbildung 25: Korrelation zwischen dem Alter und der ICTP-, PICP- und freien TIMP-1-Konzentration

Sowohl die MMP-1-Gesamtkonzentrationen, als auch die Konzentrationen der freien MMP-1 korrelierten positiv mit den entsprechenden TIMP-1-Konzentrationen (r_s = 0,395; p = 0,004 beziehungsweise r_s = 0,372; p = 0,006).

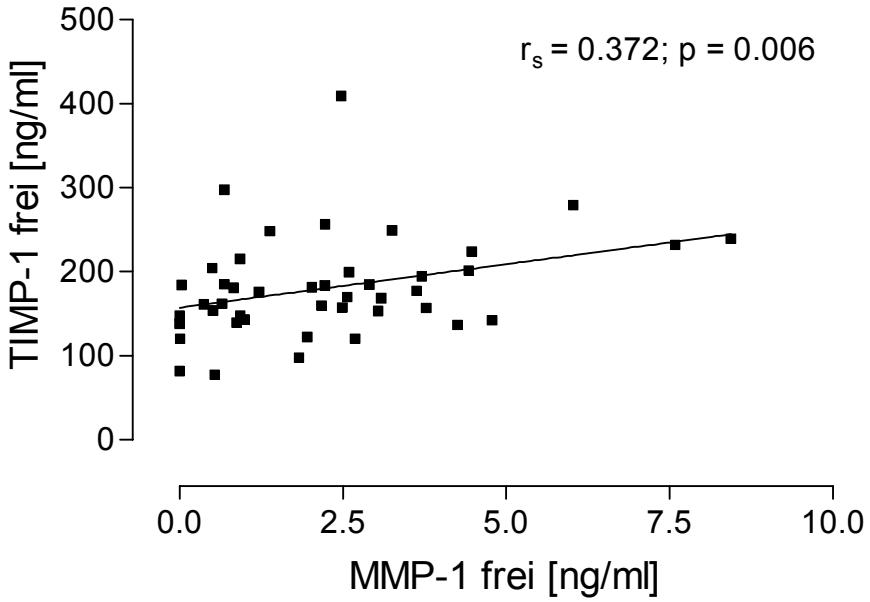


Abbildung 26: Korrelation zwischen freier MMP-1 und freiem TIMP-1 in der Kontrollgruppe

Es korrelierten ferner MMP-1_{gesamt} und MMP-1_{frei} mit der MMP-1_{frei}-/TIMP-1_{frei}-Ratio (r_s = 0,899; p < 0,001 bzw. r_s = 0,917; p < 0,001). Es fand sich keine signifikante Beziehung zwischen der Ratio und den TIMP-1-Konzentrationen. Ebenso fand sich keine Beziehung zwischen TIMP-1 und ICTP beziehungsweise PICP (r_s = 0,128; p = 0,196 beziehungsweise r_s = -0,168; p = 0,130; jeweils für TIMP-1_{frei})

Die Konzentrationen des Kollagenabbauproduktes ICTP verhielten sich invers zu denen des Aufbauproduktes PICP (r_s = -0,327; p = 0,012).

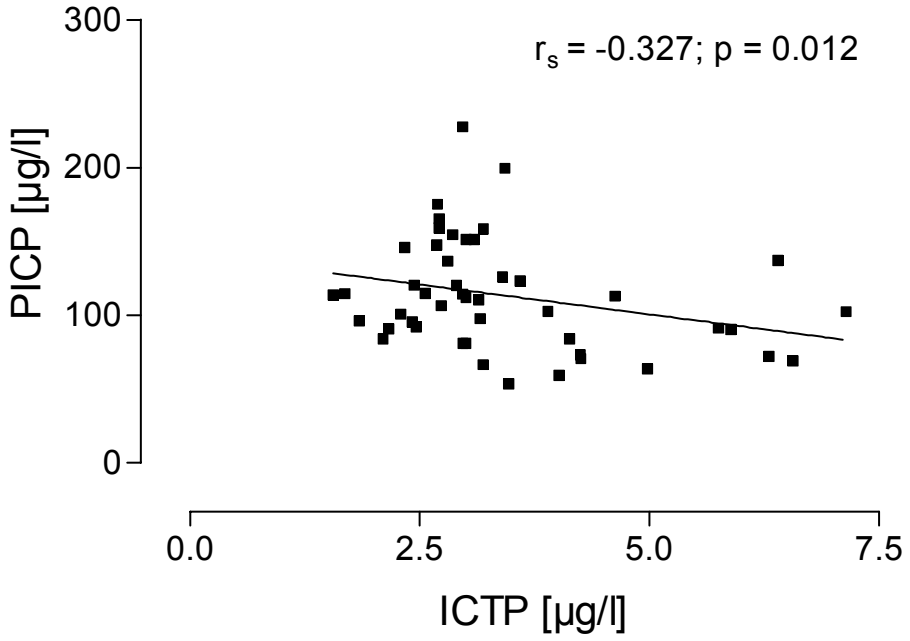


Abbildung 27: Korrelation zwischen ICTP und PICP in der Kontrollgruppe

2.4.3.2 Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie

Im Gegensatz zum Kontrollkollektiv korrelierte in der DCM-Gruppe das Alter nicht mit dem Typ-I-Kollagen-Propeptid bzw. –Telopeptid (r_s = 0,122, p = 0,221 bzw. r_s = 0,018, p = 0,455).

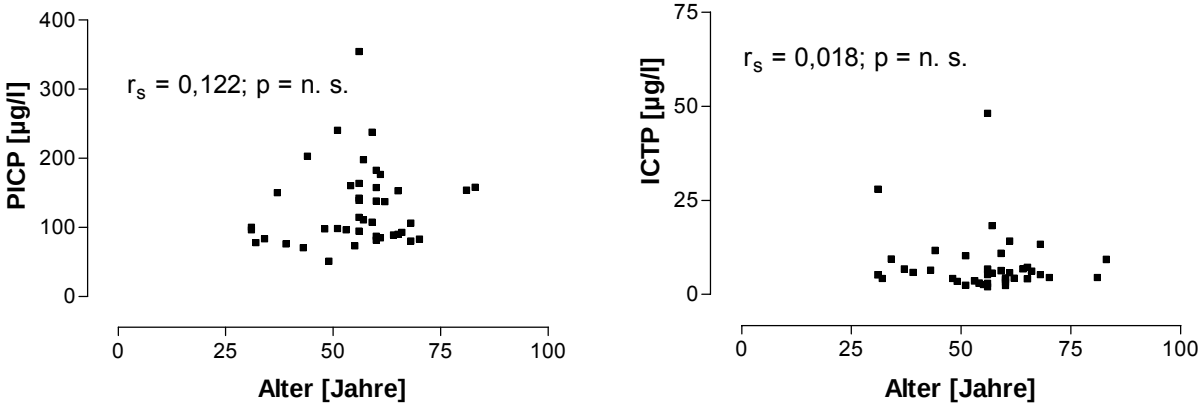


Abbildung 28: Korrelation zwischen dem Alter und der ICTP- und PICP-Konzentration bei DCM

Die signifikanten Beziehungen zwischen der MMP-1-Gesamtkonzentration beziehungsweise der freien Konzentration und den entsprechenden TIMP-1-Konzentrationen fand sich auch im DCM-Kollektiv (r_s = 0,594; p < 0,001 beziehungsweise r_s = 0,579; p < 0,001).

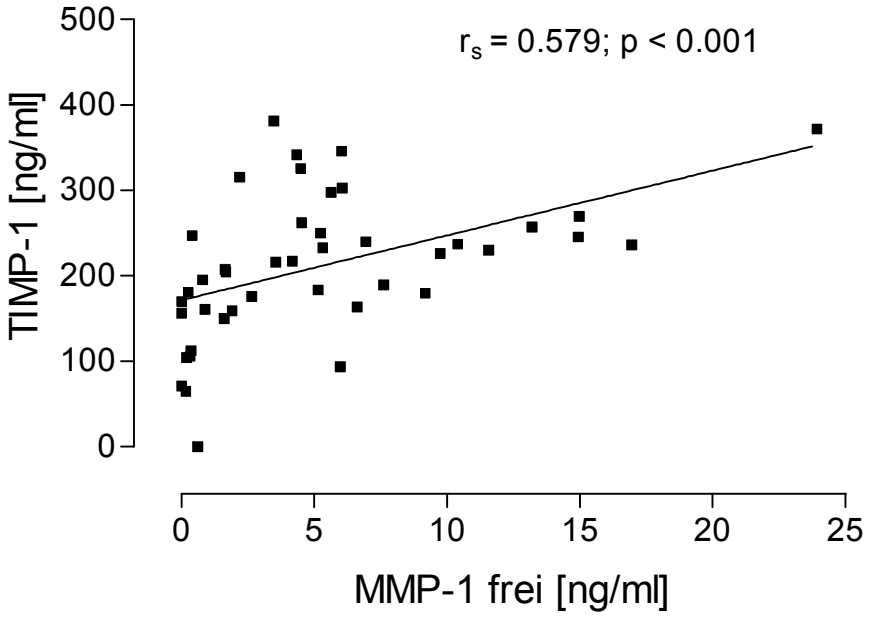


Abbildung 29: Korrelation der freien MMP-1-Konzentration mit der freien TIMP-1-Konzentration bei DCM

Im Gegensatz zu den Kontrollen besteht bei der dilatativen Kardiomyopathie eine signifikante Korrelation zwischen ICTP beziehungsweise dem nur tendenziell erhöhten PICP und TIMP-1 (für $TIMP\text{-}1_{gesamt}$: r_s = 0,473; p = 0,001 beziehungsweise r_s = 0,474; p = 0,001 und r_s = 0,473; p = 0,001 beziehungsweise r_s = 0,471; p = 0,001 für $TIMP\text{-}1_{frei}$).

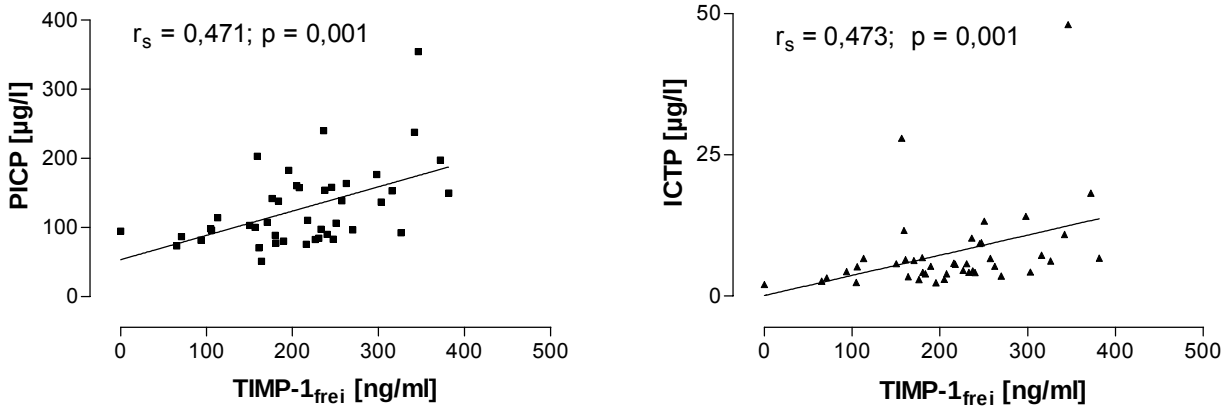
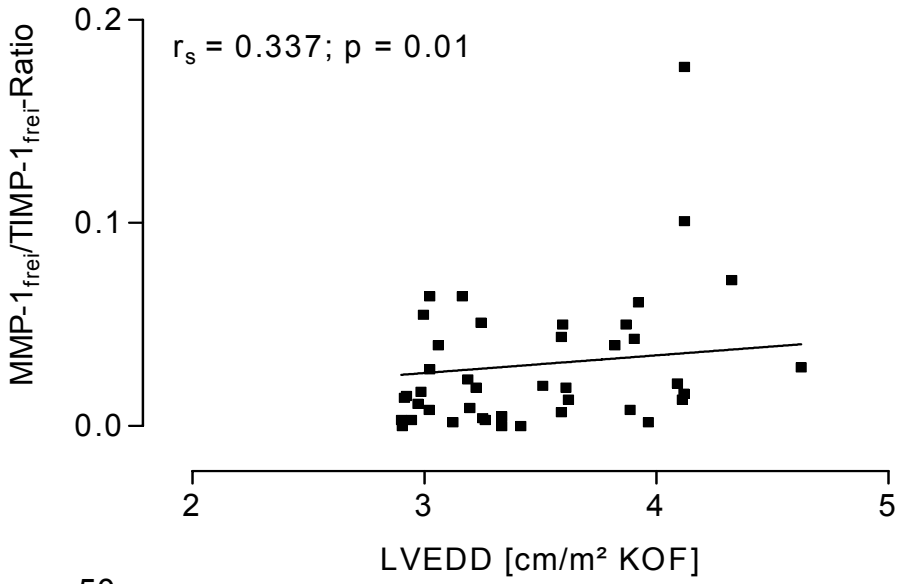
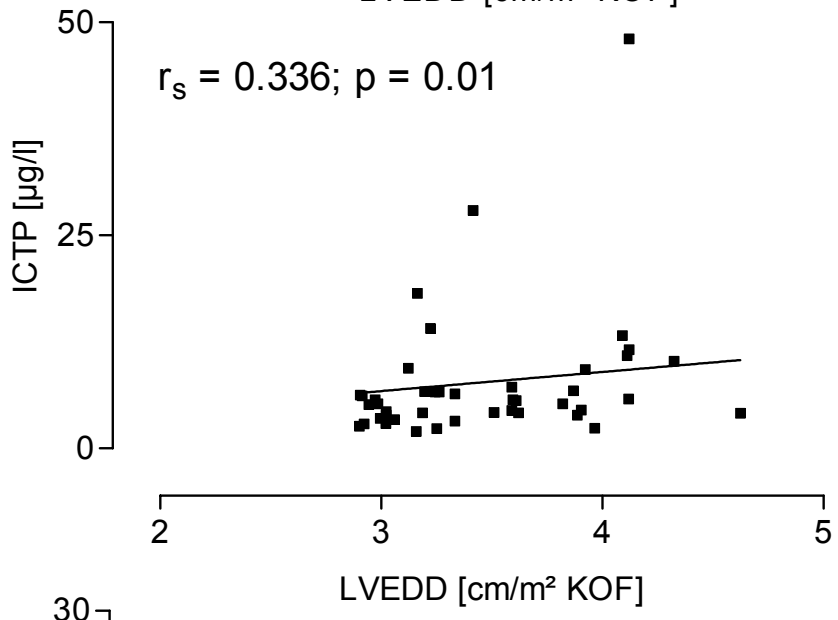


Abbildung 30: Korrelation zwischen den TIMP-1-Konzentrationen und ICTP beziehungsweise PICP bei DCM-Patienten

Der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser ($LVEDD_{KOF}$) korrelierte mit $MMP\text{-}1_{frei}$ (r_s = 0,271; p = 0,04), mit der MMP-1/TIMP-1-Ratio (r_s = 0,337; p = 0,014) und auch mit dem Abbauprodukt ICTP (r_s = 0,336; p = 0,014).





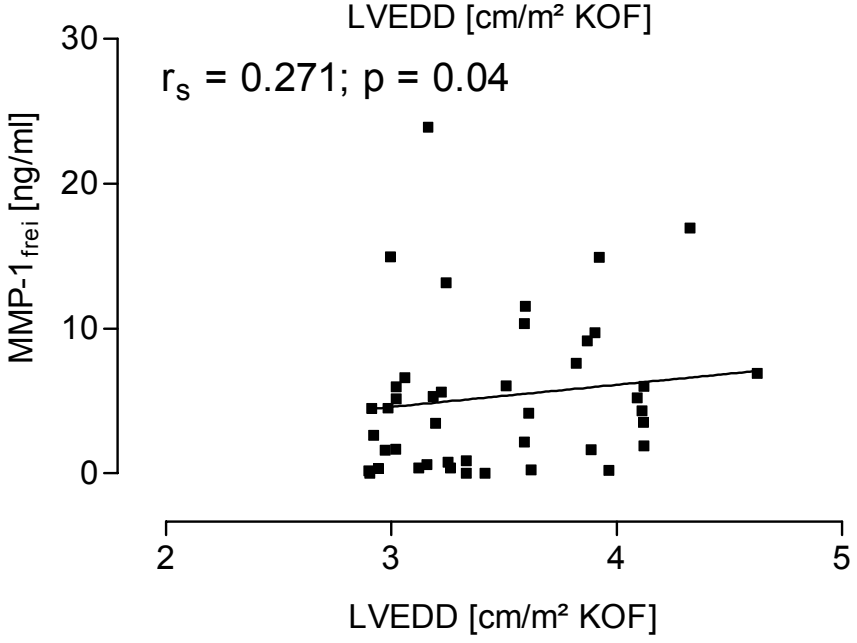
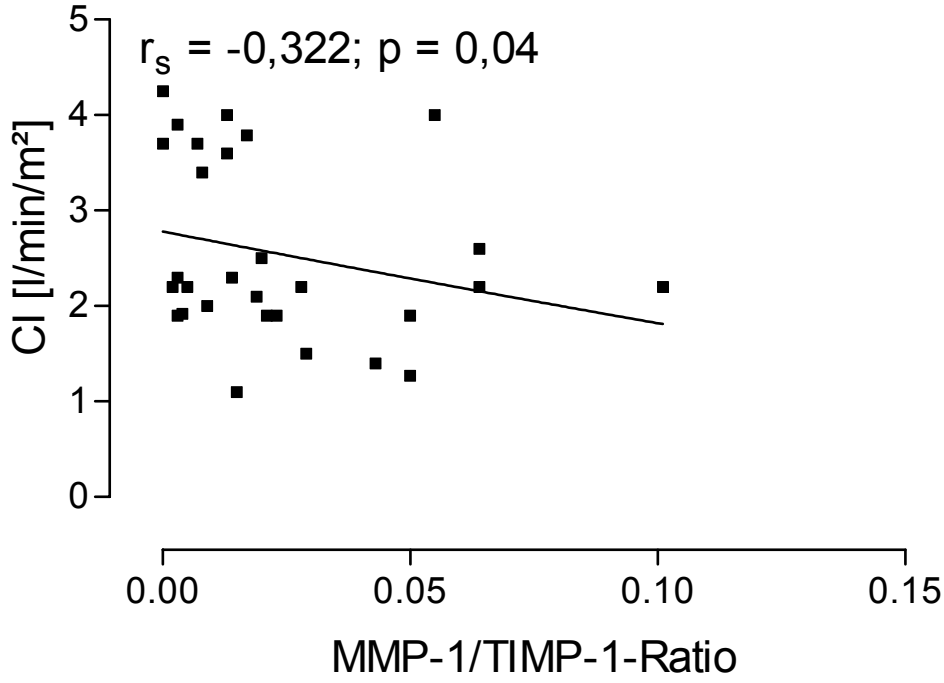
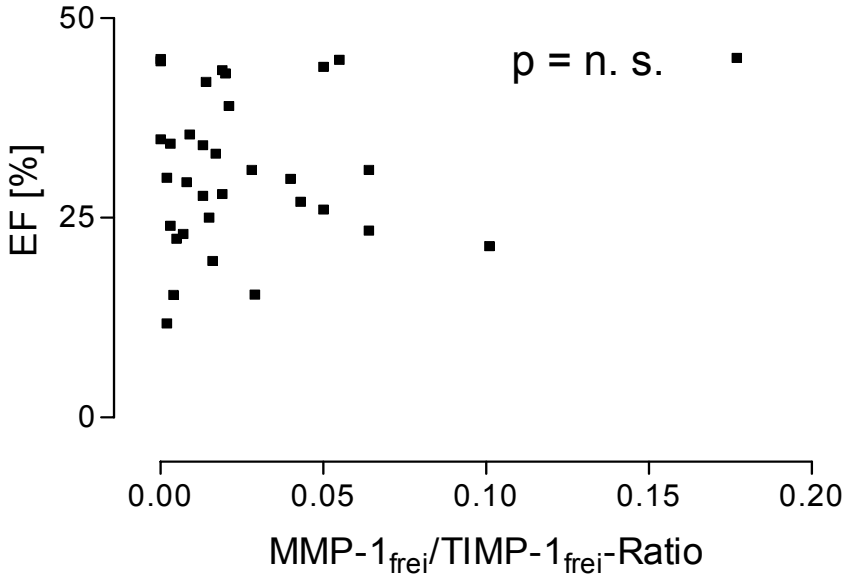


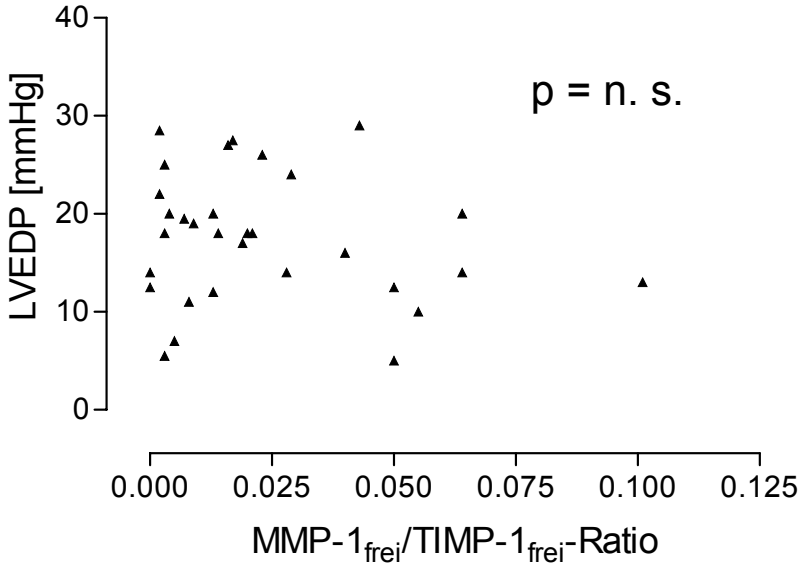
Abbildung 31: Korrelationen zwischen $LVEDD_{KOF}$ und der freien MMP-1, der freien Ratio und ICTP

CI zeigte eine signifikante Korrelation mit der freien MMP-1-Konzentration (r_s = -0,322; p = 0,04) und der freien MMP-1/TIMP-1-Ratio (r_s = -0,331; p = 0,04).

Die freie MMP-1/TIMP-1-Ratio korrelierte nicht signifikant mit ICTP (r_s = 0,241 ; p = 0,06) und PICP. (r_s = 0,209 ; p = 0,09) Es fanden sich ferner keine signifikanten Beziehungen zwischen der Ratio und der NYHA-Klasse (r_s = 0,160 ; p = 0,199), der EF (r_s = 0,045 ; p = 0,401) oder dem LVEDP (r_s = 0,160; p = 0,316). Das Alter der Patienten korrelierte nicht signifikant mit dem Pro- oder Telopeptid (r_s = 0,122 ; p = 0,221 beziehungsweise r_s = 0,018 ; p = 0,326).







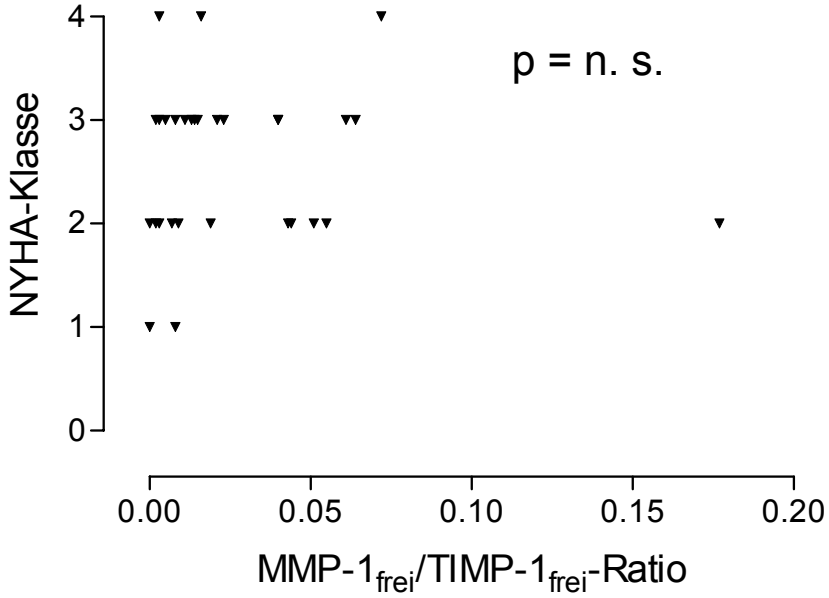


Abbildung 32: Korrelationen zwischen freier MMP-1/TIMP-1-Ratio und Herzindex, Ejektionsfraktion, linksventrikulärem enddiastolischem Druck und NYHA-Klassifikation

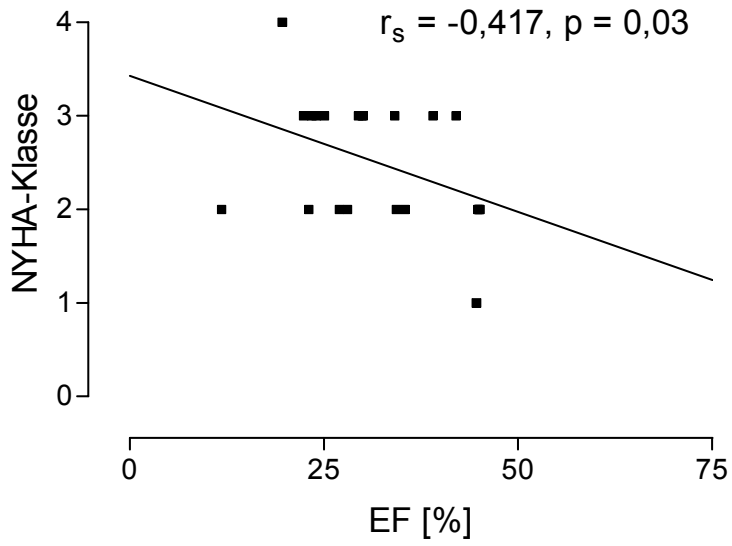


Abbildung 33: Korrelation zwischen EF und NYHA-Klasse

Die inverse Beziehung zwischen ICTP und PICP, die bei Gesunden bestand, war beim DCM-Kollektiv aufgehoben.

2.5 Klinisches Follow-up

Der mittlere Nachbeobachtungszeitraum (t_0 bis t_1) betrug 25,48 ± 0,98 Monate (16 bis 41 Monate).

Die Rücklaufquote (Rücksendungen und telefonische Befragung) der verschickten Fragebögen betrug 91% (39 von 43).

22 der nachuntersuchten Patienten (56%) waren zum Zeitpunkt t_1 beschwerdekonstant oder –gebessert. Der NYHA-Wert zum Zeitpunkt t_0 unterschied sich nicht signifikant vom t_1-Wert ($p = 0,11$). Diese Patienten wurde der Gruppe A zugeteilt. Die Patienten, deren Beschwerdesymptomatik sich im Follow up-Zeitraum verschlechtert hatte, das heißt höhere NYHA-Klassifikation zum Zeitpunkt t_1 als zum Zeitpunkt t_0 oder aber durchgeführte Herztransplantation oder Tod im Beobachtungszeitraum, wurden der Gruppe B (n = 17 ≙ 44%) zugeordnet.

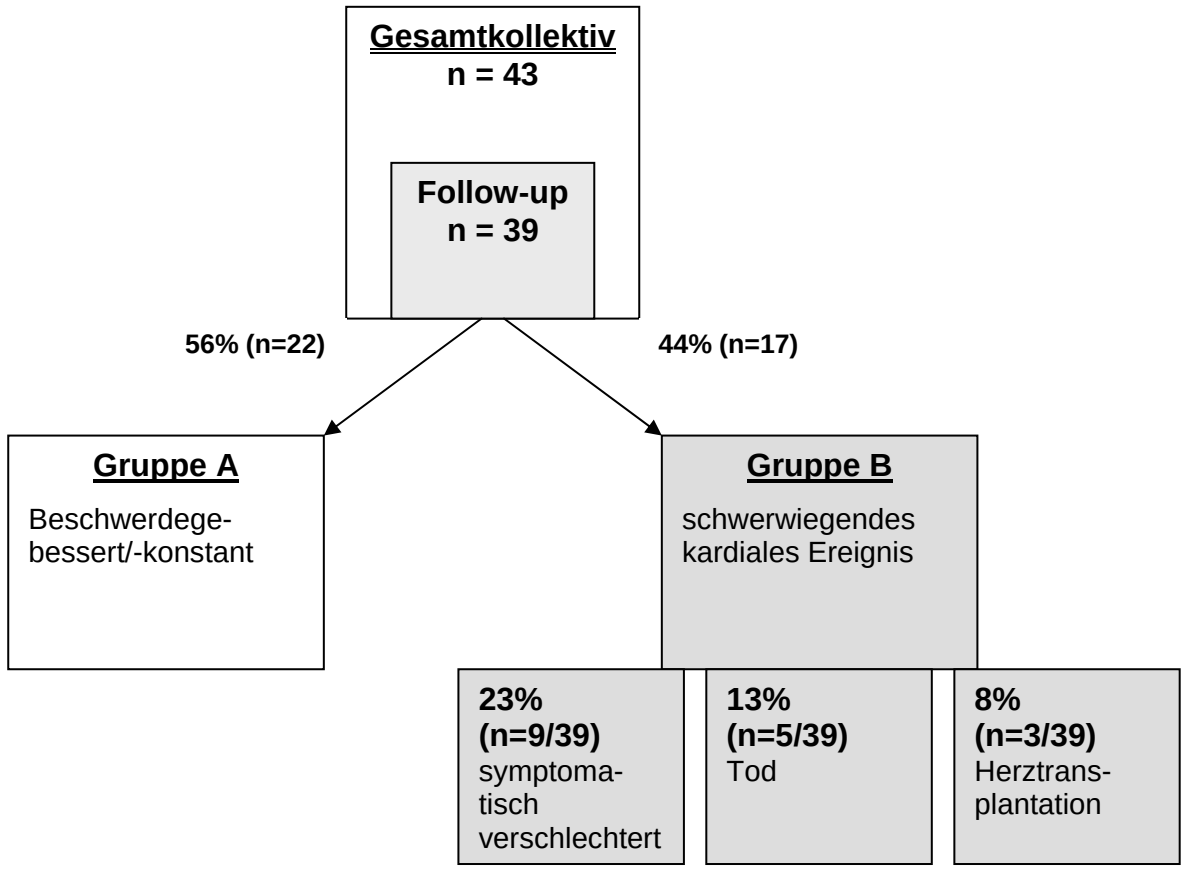


Abbildung 34: Flow chart der Follow-up-Ergebnisse

Parameter		Gruppe A	Gruppe B		p
N		22	17		
			davon:	verschlechtert: 9	
				transplantiert: 3	
				verstorben: 5	
Geschlecht (m/w)		18/4	16/1		
NYHA-Klasse	t_0	2,28 ±0,16	2,56 ± 0,18		n. s.
	t_1	2,02 ± 0,16	2,85 0,21		0,01
	p	n. s.	0,03		
$LVEDD_{KOF}$ [cm/m²]		3,31± 0,08	3,60 ± 0,12		n. s.
EF [%]		32,26 ± 2,46	30,79 ± 2,75		n. s.
CI [l/min/m²]		2,81 0,24	2,29 ± 0,24		n. s.
LVEDP [mm Hg]		23,21 ± 3,23	28,00 ± 2,64		n. s.
MMP-1 $_{frei}$ [ng/ml]		4,06 ± 0,98	6,32 ± 1,41		n. s.
$TIMP\text{-}1_{frei}$ [ng/ml]		189,14 ± 15,49	248,99 ± 22,32		0,02
$MMP\text{-}1_{frei}$/$TIMP\text{-}1_{frei}$-Ratio		0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01		n. s.
ICTP [µg/l]		6,34 ± 1,13	9,57 ± 2,65		n. s.
PICP [µg/l]		109,61 ± 7,75	153,01 ± 16,59		0,03

Tabelle 10: Charakteristika der Gruppen A und B des Follow-ups

Parameter der linksventrikulären Funktion (EF, CI, LVEDD) unterschieden sich zum Zeitpunkt der Untersuchung (t_0) nicht signifikant. Die Patienten beider Gruppen standen wie zum Zeitpunkt t_0 während des gesamten Follow-up-Zeitraumes unter einer Herzinsuffizienztherapie mit ACE-Hemmern, Diuretika, Betarezeptorenblockern und Glykosiden.

In der Gruppe B waren die Serumkonzentrationen des Inhibitors TIMP-1 ($TIMP\text{-}1_{frei}$: 248,99 ± 22,31 vs. 189,14 ± 0,98 ng/ml; p = 0,02 beziehungsweise 249,92 ± 22,44 vs. 189,78 ± 15,55 ng/ml; p = 0,02 für $TIMP\text{-}1_{gesamt}$) signifikant höher. PICP war bei den Patienten der Gruppe B ebenfalls erhöht (153,01 ± 16,59 vs. 109,61 ± 7,75; p = 0,03) nachzuweisen.

Die Konzentrationen für MMP-1 und das Typ-I-Kollagen-Telopeptid unterschieden sich nicht signifikant.

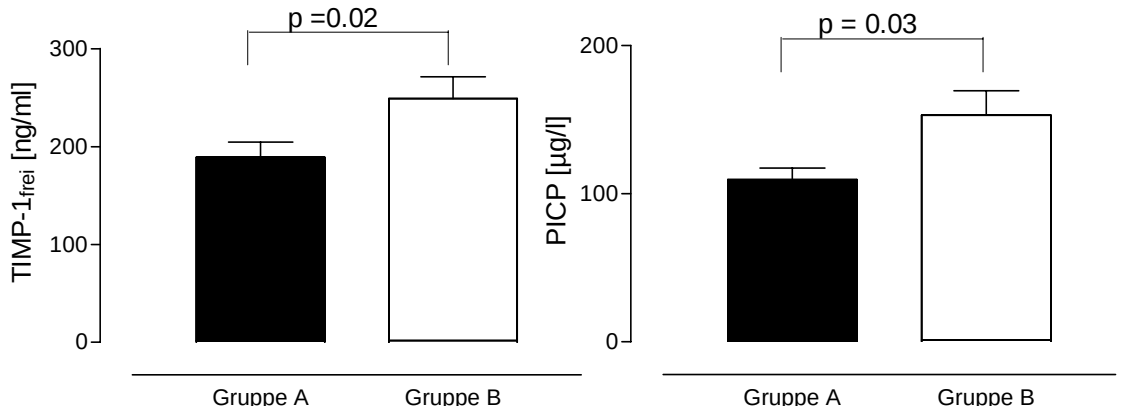


Abbildung 35: freie TIMP-1- und PICP-Serumkonzentrationen der Gruppen A und B zum Zeitpunkt t_0

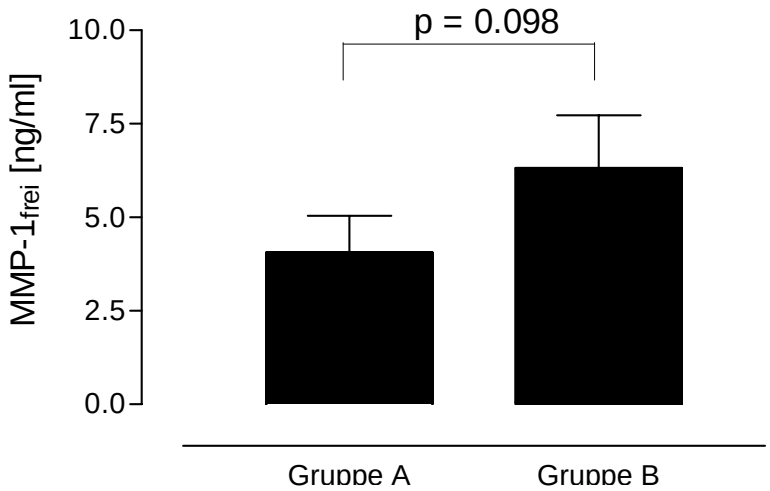


Abbildung 36: freie MMP-1-Serumkonzentration der Gruppen A und B zum Zeitpunkt t_0

3 Diskussion

3.1 Untersuchung des Typ-I-Kollagen-Stoffwechsels

Verschiedene klinische und experimentelle Studien haben gezeigt, daß die Entwicklung der systolischen Herzinsuffizienz mit einem ventrikulären Umbau (Remodeling) und konsekutiver linksventrikulärer Dilatation einhergeht [26, 83, 115, 142, 149, 160, 170, 181, 193, 204, 205]. MMPs und TIMPs sind für die physiologische Zusammensetzung der extrazellulären Matrix von essentieller Bedeutung. Die Extrazellulärmatrix ist in gesunden Herzen durch einen hohen Kollagenumsatz charakterisiert [84, 198].

Beltrami et al. [7] zeigten, daß die Zunahme des linksventrikulären Durchmessers mit zwei Veränderungen der Gewebearchitektur verbunden ist. Zum einen kommt es zu einer Hypertrophie der Herzmuskelfasern mit Verlängerung der Kardiomyozyten und zum anderen zu einem Auseinandergleiten der Herzmuskelfasern („side-to-side slippage“), wie es schon früher im Endstadium der Herzinsuffizienz gefunden wurde [113].
Das Absterben der Myozyten mit konsekutiven Reparaturprozessen im Sinne einer Fibrose führt bei der dilatativen Kardiomyopathie zu einer segmentalen und interstitiellen Fibrose des Myokards (Replacement-Fibrose) [7, 66, 208].

Das für die Degradation und das Remodeling der Extrazellulärmatrix verantwortliche endogene Enzymsystem der Matrixmetalloproteinasen und deren Inhibitoren ist für die Ausbildung der Herzdilatation bei der dilatativen Kardiomyopathie von essentieller Bedeutung [66, 215]. In einer Übersichtsarbeit von Lee [105] wird der MMP-Familie die Rolle eines nicht-infektiösen Mediators der kardialen Dilatation und Progression der Herzinsuffizienz zugeschrieben, welcher die Henle-Koch-Postulate erfüllt: (a) MMPs sind im Myokard bei experimentell induzierter oder im Rahmen von Erkrankungen entstandener Schädigungen (Infarkte und Dilatationen) erhöht. (b) Eine Überexpression von MMP-1 in Herzen transgener Mäuse kann zu kardialer Hypertrophie oder Dilatation mit systolischer Dysfunktion führen. (c) Verschiedene Arbeiten konnten zeigen, daß eine MMP-Inhibition das kardiale Remodeling aufhalten kann. (d) Das kardiale Remodeling in „MMP-knock-out-Mäusen“ ist abgeschwächt. Im Rahmen verschiedener Studien wurde die MMP-Aktivität im Zusammenhang mit schwerer Herzinsuffizienz und Kardiomyopathien untersucht [32, 66, 80, 178, 179, 180, 191, 214]. Verschiedene MMPs wurden für eine Desorganisation des kontraktilen Apparates und die Degradation der schweren Myosinketten im Myokard von DCM-Patienten verantwortlich gemacht [162]. Im Tiermodell konnte bei einer durch schnelle Herzschrittmacher-Stimulation experimentell induzierten Herzinsuffizienz eine erhöhte MMP-

Aktivität gezeigt werden. Auf der anderen Seite wurde gezeigt, daß die pharmakologische Inhibition der Matrixmetalloproteinasen mit dem MMP-Inhibitor Galardin während der Schrittmacherstimulation zu keiner Größenzunahme des linken Ventrikels führte und sich die linksventrikuläre Pumpfunktion deutlich verbesserte. Gleiche Ergebnisse fanden sich bei Applikation des MMP-Inhibitors PD 166793 beziehungsweise Gabe eines ACE-Hemmers (Fosinopril) oder der Kombination beider Substanzen [118].

Bei schwerer Herzinsuffizienz des Menschen konnte gezeigt werden, daß eine assistierte Zirkulation nach Implantation eines linksventrikulären „assist device“ innerhalb von drei Monaten zu einer Reduktion der MMP-Aktivität und einem Anstieg der Inhibitoren führt. Bei DCM kam es zu einem Anstieg des Quotienten aus unlöslichem zu löslichem Kollagen [110]. Durch Reduktion der im Rahmen der Erkrankung gesteigerten MMP-Aktivität wird neues Kollagen gebildet. Unter Umständen ist eine Rekonstitution der originären Ventrikelarchitektur möglich.

MMPs und ihre Inhibitoren (TIMPs) haben eine große Bedeutung für das (links-)ventrikuläre Remodeling und die myokardiale Plastizität.

Im menschlichen Myokard herzinsuffizienter Patienten konnten an linksventrikulären Gewebeproben erhöhte mRNA-Konzentrationen und erhöhte zymographische MMP-Aktivitäten gefunden werden.

Tyagi konnte in kardialem Gewebe von Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie eine deutliche Erhöhung der MMP-1-mRNA und des Translationsproduktes feststellen. Der TIMP-1-mRNA-Gehalt und die TIMP-1-Proteinmenge war vermindert [198, 199].
Gunja-Smith et al. [66] fanden bei zymographischen Untersuchungen an explantierten Herzen mit Ventrikeldilatation eine 30fache Erhöhung der Gelatinasenkonzentration, wobei 40% der Enzyme in der aktiven Form vorlagen. Eine erhöhte TIMP-Aktivität konnte hingegen nicht gefunden werden. Die Gruppe von Thomas fand im Rahmen substratzymographischer Untersuchungen an Explantaten eine Gesamt-MMP-Aktivitätserhöhung. Hier war MMP-1 bei der DCM weniger aktiv. Die TIMP-Aktivitäten waren um mehr als 500% erhöht [191].

In den genannten Studien, die an explantierten Herzen von Patienten mit Herzinsuffizienz im Terminalstadium durchgeführt wurden, sind die Aussagen zu MMP-1 und TIMP-1 nicht einheitlich. Veränderungen im MMP- und TIMP-Profil könnten vom Stadium der Erkrankung abhängig sein.

In der vorliegenden Studie konnten zum ersten Mal erhöhte periphervenöse Serumkonzentrationen von Markern des Typ-I-Kollagenmetabolismus bei Patienten mit leichter bis mäßiger Herzinsuffizienz aufgrund dilatativer Kardiomyopathie gefunden werden.

Die Studie zeigt, daß es bei der dilatativen Kardiomyopathie zu einer Erhöhung der Matrixmetalloproteinase-1- und der TIMP-1-Konzentrationen im periphervenösen Blut kommt.

Periphervenöse Serumkonzentrationen verschiedener Matrixmetalloproteinasen und TIMPs wurden bisher nur von Yamazaki et al. [212] bestimmt. Hier war MMP-9 bei der dilatativen Kardiomyopathie signifikant erhöht, wohingegen TIMP-1 keinen Unterschied zum Kontrollkollektiv zeigte.
Die bereits von mehreren Arbeitsgruppen beschriebenen Erhöhungen der MMP-9-Konzentrationen [33, 109, 178, 191, 212] fanden sich auch in der vorliegenden Studie
Es ist bekannt, daß der myokardiale MMP-3-Gehalt bei der dilatativen Kardiomyopathie erhöht ist [33, 178, 191]. Da MMP-3 eine wichtige Rolle in der Aktivierungskaskade der Pro-Matrixmetalloproteinasen-Aktivierung einnimmt, können erhöhte Konzentrationen auch bei der DCM eine wichtige Rolle bei der Zymogenaktivierung der übrigen Pro-Matrixmetalloproteinasen einnehmen [129]. In dieser Studie fanden sich leicht erhöhte MMP-3-Serumkonzentrationen, der Unterschied war jedoch nicht signifikant. Eine Ursache könnte die Größe des Subkollektivs (n = 10) sein, bei dem MMP-3-Konzentrationen gemessen wurden.

Es ist bekannt, daß MMPs und TIMPs physiologisch im gesunden Myokard koexprimiert werden und daß zur Erhaltung der Extrazellulärmatrix ein Gleichgewicht zwischen Matrixmetalloproteinasen und deren Inhibitoren besteht [200].
Daß diese Beziehung im Rahmen der DCM mit leicht- bis mäßiggradig erweiterten Ventrikeln erhalten bleibt, zeigen die Ergebnisse dieser Studie.
Es wird vermutet, daß Imbalancen jeglicher Art ein pathologisches myokardiales Remodeling mit der Folge einer strukturellen Erkrankung des Herzens induzieren können [191, 198].

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden neben erhöhten MMP-1 und TIMP-1-Serumkonzentrationen vor allem eine erhöhte MMP-1/TIMP-1-Ratio gefunden, die als Hinweis auf ein gestörtes Gleichgewicht mit Überwiegen der kollagenolytischen Aktivität gedeutet werden kann. Dieses relative Überwiegen von MMP-1 gegenüber TIMP-1 könnte eine Ursache für die gesteigerte Typ-I-Kollagendegradation sein. Im Einklang damit fand sich

eine erhöhte Serumkonzentration des Typ-I-Kollagen-Degradationsfragmentes (ICTP). Ferner zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der freien MMP-1/TIMP-1-Ratio und dem Ausmaß der linksventrikulären Dilatation sowie eine negative Korrelation mit dem Herzindex. Es ist bekannt und zeigt sich ebenfalls in der vorliegenden Studie, daß bei Patienten mit leichter beziehungsweise mäßiger Beschwerdesymptomatik (NYHA-Klasse < IV) das klinische Bild nur schlecht mit dem linksventrikulären Durchmesser korreliert [137]. Im Einklang mit bekannten Daten [59] korreliert in der vorliegenden Studie die Ejektionsfraktion signifikant mit der NYHA-Klasse ($r = -0,417$; $p = 0,03$). Interessanterweise korreliert die freie MMP-1/TIMP-1-Ratio nicht signifikant mit der NYHA-Klasse, was die größere Bedeutung zur linksventrikulären Geometrie und nicht zu hämodynamischen Parametern beziehungsweise dem klinischen Bild unterstreicht.

Es ist bekannt, daß Männer ein 2,5fach höheres Erkrankungsrisiko haben als Frauen [35]. Entsprechend bestand das Studienkollektiv nur zu 12% aus Frauen. Es ist bekannt, daß Geschlechtshormone die kardiale Muskelmasse beeinflussen [72]. Weibliche Geschlechtshormone sind in der Lage, MMPs zu hemmen [173]. Obwohl Geschlechtshormone einen hemmenden Einfluß auf Matrixmetalloproteinasen haben, zeigten sich in der vorliegenden Studie keine geschlechtsspezifischen Unterschiede in den zirkulierenden Typ-I-Kollagenmetabolismus-Markern. Es ist bislang noch unbekannt, ob bei Frauen mit DCM die Hormonmuster, denen ein protektiver Charakter zugesprochen wird, verändert sind. Anzunehmen ist, daß die Bedeutung der kardialen Grunderkrankung bei den Frauen, die erkrankt sind, besonders gravierend ist und kompensatorische Mechanismen, die möglicherweise hormonell bedingt sind, nicht zum Tragen kommen.

Im Rahmen der dilatativen Kardiomyopathie kommt es zu einer interstitiellen Fibrose mit einer Verschiebung des physiologischen Verhältnisses der dominierenden Kollagentypen zueinander. Während Weber et al. einen Verlust der dicken Fasern und eine Zunahme der dünnen Typ-III-Kollagenfasern fanden [207], zeigten neuere Studien, daß es mit zunehmender Verschlechterung der linksventrikulären Funktion zu einem Anstieg der Typ-I- zu Typ-III-Kollagen-Ratio kommt [143, 144, 170].

Das Absterben der Kardiomyozyten aufgrund von Apoptose, metabolischen, viralen, toxischen oder ischämischen Faktoren führt zu einer fokalen Kollagenakkumulation. Diese fokale Akkumulation wird Replacementfibrose genannt. Der Prozeß des Ersatzes von funktionellem bedeutendem myozytärem Gewebe durch funktionsloses beziehungsweise funktionsgemindertes Bindegewebe könnte bezüglich der Menge und auch des zeitlichen Ablaufs sporadisch sein. Dieses kann die Ursache dafür sein, daß in der vorliegenden Studie

die TIMP-Konzentration signifikant und der Marker der Typ-I-Kollagensynthese (PICP) nur leicht, nicht aber signifikant, erhöht war.
Die Arbeitsgruppe von Klappacher fand in einer Studie zum Umsatz der Extrazellulärmatrix bei Patienten mit idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie signifikant höhere Serumkonzentrationen von ICTP und PIIINP, dem Prokollagen des Typ-III-Kollagens [90].

Es ist folglich möglich, daß auf der einen Seite fokal weniger funktionelles Kollagen und Kollagen mit weniger Quervernetzungen („cross-links“) [66] akkumuliert, während auf der anderen Seite für die kardiale Struktur essentielles perimysiales und endomysiales Kollagen abgebaut wird. Bei experimentell induzierter Herzinsuffizienz fand sich eine zeitabhängige Reduktion des Gesamtkollagens, des Kollagenvernetzungsgrades, der linksventrikulären Steifigkeit und der linksventrikulären Funktion [180]. Durch die Degradation des funktionell bedeutsamen Kollagens kann es zu einer Störung im strukturellen Gefüge der die Kardiomyozyten umgebenden Kollagenfasern kommen, aus der eine Verschiebung der Herzmuskelfasern im Sinne eines „fibre slippage“ resultiert.
Das gleichzeitige erhöhte Vorkommen von Auf- und Abbauprodukte des Typ-I-Kollagens spricht für einen erhöhten Umsatz der extrazellulären Matrix. Die physiologisch bestehende inverse Beziehung zwischen PICP und ICTP, das heißt zwischen Typ-I-Kollagensynthese und –degradation ist bei der dilatativen Kardiomyopathie gestört.

Nach den vorliegenden Daten scheint nicht alleine die Gesamtmenge Kollagen im Myokard von Bedeutung zu sein, sondern vielmehr die topographische Zuordnung des Kollagens zu funktionellen beziehungsweise dysfunktionellen Einheiten.
Die Patienten dieser Studie zeigten lediglich das Bild einer leichten bis mäßigen Herzinsuffizienz. Es sind derzeit zahlreiche Studien zur myokardialen MMP-Aktivität bei Herzinsuffizienz bekannt. Bei der leichten bis mäßigen Herzinsuffizienz wurde eine erhöhte linksventrikuläre myokardiale zymographische MMP-Aktivität gefunden [179]. Auf der anderen Seite wurde im Endstadium der dilatativen Kardiomyopathie über verminderte linksventrikuläre MMP-1-Konzentrationen berichtet [178, 179, 191, 198]. Bei experimentell induzierter dilatativer Kardiomyopathie fand sich eine zeitabhängige Veränderung der myokardialen MMP-1-Aktivität mit niedriger zymographischer Aktivität zu Beginn und erhöhter Aktivität bei chronischer Herzinsuffizienz [180].

MMP-1 könnte ein Serummarker sein, der nützliche Informationen über das Stadium der linksventrikulären Dilatation im Rahmen der Erkrankung liefern kann.

Es ist bekannt, daß die MMP- und TIMP-Regulation von extrazellulären Stimuli wie Zytokinen, Hormonen und Wachstumsfaktoren abhängig ist. Matrixmetalloproteinasen werden auf der Ebene der Transkription und auf der Ebene der Zymogenaktivierung durch bioaktive Peptide und Zytokine reguliert [52, 157]. Bioaktive Peptide und Zytokine wie der Tumor-Nekrose-Faktor-α (TNF-α) und Interleukin-1β (IL-1β) sind in der Lage, die Transkription der MMPs zu stimulieren [15, 54, 157, 124]. Patienten mit einer linksventrikulären Dysfunktion weisen in der Regel erhöhte TNF-α- und Interleukin-1β-Spiegel auf [107, 114, 117, 127, 134, 171, 194, 215]. Obwohl die biologische Wirkung der Zytokine mehr von der Gewebekonzentration als von der Serumkonzentration abhängt, wird in mehreren Studien ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Zytokinserumkonzentrationen und der Schwere der Erkrankung vermutet [18, 86, 96, 107, 114, 117, 127, 215].

Inflammatorische Zytokine verursachen zum einen eine Hypertrophie der Herzmuskelfasern [121, 185, 213] und zum anderen eine Apoptose [4, 78, 95]. Siwik et al. fanden bei einer in vitro-Studie bei erhöhten IL-1β- und TNF-α-Serumspiegeln eine verminderte Kollagensynthese und eine erhöhte Aktivität der Matrixmetalloproteinasen in kardialen Fibroblasten [174].

In einer von Marriott et al. veröffentlichten Studie [117] wurden symptomatische DCM-Patienten mit einem linksventrikulären Durchmesser von 66 mm mit asymptomatischen Verwandten ersten Grades (LVEDD = 58 mm) und einem Kontrollkollektiv mit physiologischen linksventrikulären Maßen verglichen. Es fiel auf, daß IL-2 bei 65% der Patienten, bei 60% der Verwandten und nur bei 5% der Kontrollpersonen erhöht war. Die symptomatischen DCM-Patienten wiesen in 50% der Fälle erhöhte Serumspiegel von IL-10 auf, wohingegen dieses bei keinem der Verwandten oder Kontrollpersonen nachzuweisen war. Bei der dilatativen Kardiomyopathie sind die Konzentration der löslichen IL-2-Rezeptoren erhöht [112].

Da Zytokine und andere extrazelluläre Stimuli also bereits sehr früh, vor dem Auftreten erster morphologischer Veränderungen beziehungsweise erster Symptome, erhöht sein können, ist bereits eine sehr frühe Aktivierung des kollagenolytischen Systems möglich. Zytokine können demnach in verschiedenen Stadien der Progression der Erkrankung einen verschiedenartigen Einfluß auf das kollagenolytische System haben.

3.2 Marker des Typ-I-Kollagen-Metabolismus und klinisches Follow-up

Trotz verbesserter diagnostischer und therapeutischer Optionen hat sich die Prognose der idiopathischen dilatativen Kardiomyopathie in den letzten Jahren noch nicht zufriedenstellend gebessert.

Die in der Literatur angegebenen Letalitätsraten im ersten Jahr schwanken je nach Studiendesign zwischen 10 und 35% und im Zeitraum von fünf Jahren zwischen 42 und 55% [1, 27, 28, 39, 55, 58, 99, 160]. Die Überlebenskurve der DCM ist schlecht vorhersagbar und ähnelt am ehesten einem exponentiellen Verlauf mit hohen Sterblichkeitsraten in den ersten 2-3 Jahren und stabileren Raten in den Folgejahren. Vereinzelt wurde seit dem Einsatz von Betarezeptorenblockern als Standardtherapeutikum der Herzinsuffizienz in den 90er Jahren eine Verbesserung der Prognose beobachtet [6]. Die Patienten der vorliegenden Follow-up-Studie standen alle während des gesamten Beobachtungszeitraumes unter einer Betarezeptorblockermedikation. Bereits 1982 fanden Kuhn et al. [99], daß die jährliche Absterberate wesentlich vom Zeitpunkt des anamnestischen Krankheitsbeginn und weniger vom Zeitpunkt der invasiven Diagnostik abhängt. Bei den Patienten beider Gruppen dieser Studie (beschwerdekonstant, -gebessert und Verschlechterung der Beschwerden, Transplantation oder Tod) konnte der Zeitraum der Erkrankung (Zeitpunkt der Erstdiagnose bis zur ersten Befunderhebung [t_0]) nicht in allen Fällen hinreichend evaluiert werden, so daß über die genaue Dauer der Erkrankung vor Diagnosestellung keine eindeutige Aussage getroffen werden kann. Schwerwiegende kardiale Ereignisse (Verschlechterung der NYHA-Klasse, Herztransplantation oder Tod) entwickelten 44% der Patienten. Die Absterberate im mittleren Beobachtungszeitraum von 25 Monaten lag bei 13%. Vergleichbare Raten fanden sich auch in anderen neueren Follow-up-Studien zur idiopathischen dilatativen Kardiomyopathie [25, 163].

Im Rahmen zahlreicher Studien wurden Parameter gesucht, die eine Prognoseeinschätzung bei gesicherter idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie zulassen.

Neben der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) und dem linksventrikulären enddiastolischen Druck (LVEDP) wurden zusätzliche Parameter wie das Alter, Herzindex (CI), Herz-Thorax-Ratio, maximaler Sauerstoffverbrauch, Serumnatriumspiegel und Komorbidität zur Prognoseeinschätzung gefunden [1, 27, 28, 39, 55, 56, 183]. Patienten mit einem höheren Mortalitätsrisiko haben im Mittel eine niedrigere LVEF, einen höheren LVEDP und eine längere Periode vom Auftreten der Erstsymptome bis zur endgültigen Diagnosestellung. In der vorliegenden Follow-up-Studie unterschieden sich EF und LVEDP in der beschwerdegebesserten Gruppe nicht signifikant von den Werten der Gruppe mit schweren kardialen Ereignissen. Die NYHA-Klasse unterschied sich zum Zeitpunkt t_0

ebenfalls nicht signifikant. Es ist bekannt, daß die NYHA-Klasse ein unabhängiger Prädiktor ist [25].

Patienten mit schwerwiegendem kardialen Ereignis im Beobachtungszeitraum wiesen zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung signifikant erhöhte TIMP-1-Werte auf. MMP-1 war in der Gruppe mit schwerwiegendem kardialen Ereignis um 55% erhöht, unterschied sich aber, am ehesten wegen der kleinen Gruppengrößen (Gruppe A n = 22 bzw. B mit n = 17) nicht signifikant. Es ist bekannt, daß MMP-1 einen vom Stadium der Erkrankung abhängigen Verlauf zeigt. Die Aktivität der MMP-1 steigt im Laufe der Entwicklung einer Herzinsuffizienz zu Beginn langsamer an, als die anderer MMPs. Erst mit einer Latenz kommt es ab einem gewissen (derzeit noch nicht quantifizierbaren) Grad der Herzinsuffizienz zu einem überproportional starken Anstieg der MMP-1-Aktivität [180]

Patienten mit infauster Prognose zeigen im Verlauf ein verstärktes kardiales Remodeling, wobei funktionell minderwertiges Kollagen angelagert wird. Ein Hinweis hierfür kann der erhöhte Prokollagengehalt sein.

MMPs und TIMPs werden koexprimiert [200]. TIMP-1 ist kein spezifischer Inhibitor der Kollagenase MMP-1, sondern ein multifunktionales Protein. TIMP-1 hat unter anderem Inhibitoreigenschaften für weitere MMPs. Im Rahmen der Herzinsuffizienz sind diverse MMPs am Remodeling der Extrazellulärmatrix beteiligt, die ebenfalls mit TIMP-1 interagieren. Es ist bislang unbekannt, inwiefern sich bei DCM das gewebespezifische, für den physiologischen Erhalt der Extrazellulärmatrix notwendige „Matrixmetalloproteinasen-Muster“ verändert. TIMP-1 als Mitglied einer kleinen Proteinfamilie kann demnach ein sensiblerer Marker für ein verändertes Remodeling der Extrazellulärmatrix sein, als die große Gruppe der MMPs.

Es ist bekannt, daß im Verlauf der DCM zur systolischen Funktionsstörung eine diastolische, restriktive Funktionsstörung hinzutritt, die mit einer ungünstigen Prognose vergesellschaftet ist [145, 209]. Es ist zu prüfen, ob der erhöhte PICP-Serumspiegel ein Hinweis auf eine sich entwickelnde systolisch-restriktive Funktionsstörung des linken Ventrikels sein kann.

3.3 kritische Stellungnahme

Da zum Zeitpunkt der Blutentnahme alle Patienten unter einer Standardherzinsuffizienztherapie (ACE-Hemmer beziehungsweise AT_1-Antagonist, Diuretika, Digitalis und Betarezeptorenblocker) standen muß erörtert werden, inwiefern diese Medikamente den Kollagenstoffwechsel beeinflussen. Aufgrund ethischer Gründe wurde die Medikation für die Studie nicht unterbrochen oder variiert.
In der Literatur sind bislang nur wenige Berichte bekannt, die sich marginal mit dem Einfluß der Standardmedikation für die Herzinsuffizienz auf die MMP- und TIMP-Expression beschäftigten [40, 63, 104, 108, 169], so daß schlußendlich noch keine Folgerungen aus den bekannten Daten gezogen werden können.

Zur Einflußnahme von ACE-Hemmern und AT_1-Antagonisten auf die MMP- und TIMP-Expression sind daher zum gegenwärtigen Zeitpunkt nur wenige Studien bekannt. Dixon et al. fanden 1997 im Tierexperiment bei bestehender Kardiomyopathie eine Verminderung der MMP-Aktivität unter Gabe eines AT_1-Antagonisten (Losartan) [40].
Li et al. fanden im Tierexperiment mit Ratten, die an einer durch Hypertonie verursachten Herzinsuffizienz litten, eine Reduktion der linksventrikulären Dilatation und Normalisierung der MMP- und TIMP-Expression unter Therapie mit einem ACE-Hemmer (Quinapril) [108]. Es kam unter Quinapril zu einer Normalisierung vorbestehender zymographisch erhöhter MMP-2-, -9- beziehungsweise TIMP-1- und –2-Aktivitäten und zur Reduktion bestehender Erhöhungen des MMP-2-, TIMP-1- und –2-mRNA-Gehaltes.
Laviades et al. bestimmten Parameter des Kollagenstoffwechsels bei essentieller Hypertonie vor und nach Therapie mit einem ACE-Hemmer (Lisionopril) [104]. Die Lisinopril-Gabe führte zu einem Anstieg der freien MMP-1-Konzentration und zu einem Abfall der freien TIMP-1-Konzentration.
Eine Verschiebung des Gleichgewichtes zwischen freiem MMP-1 und TIMP-1 im Sinne von Laviades konnte in der vorliegenden Studie nicht gezeigt werden. In dieser Studie ist ein Anstieg der freien MMP-1 und auch TIMP-1-Konzentration im Rahmen der DCM festzustellen. Ebenfalls kam es in der vorliegenden Studie nicht zu einem Abfall der Kollagenasenkonzentration, wie er von Li et al. [108] beschrieben wurde. Die Normalisierung der MMP-/TIMP-Expression konnte nicht gezeigt werden.
Es ist im vorliegenden Fall davon auszugehen, daß die ACE-Inhibition im Rahmen der Standardherzinsuffizienztherapie bei den 43 DCM-Patienten nicht ursächlich an der signifikanten Erhöhung der MMP-1-Konzentration beteiligt war. Vielmehr scheint eine im Rahmen der dilatativen Kardiomyopathie erhöhte Konzentration von Zytokinen und anderen Mediatoren für der Anstieg der Kollagenasen- und Inhibitorenaktivität ursächlich zu sein.

In der Gruppe der Gesunden korreliert ICTP positiv und PICP negativ mit dem Alter. Des weiteren besteht eine inverse Beziehung zwischen dem Auf- und dem Abbaumarker, so daß der Typ-I-Kollagenauf- und –abbau in einer Art Gleichgewicht stehen.
Im Rahmen der sekundären Osteoporose, wie sie unter anderem bei kardial bedingter Inaktivität oder im Rahmen der Altersatrophie auftreten kann, kommt es zu einem pathologischen Anstieg der ICTP-Serumkonzentrationen [87].
In der vorliegenden Studie bestand in der DCM-Gruppe keine Beziehung mehr zwischen den Serumkonzentrationen von ICTP und PICP. Weder ICTP, noch PICP, noch MMP-1 korrelierten in dieser Studie mit dem Alter oder mit hämodynamischen Parametern. Im Rahmen der dilatativen Kardiomyopathie ist der Einfluß auf ICTP und PICP durch das Alter nicht erkennbar, beziehungsweise überlagert. Da beide Parameter und vor allem das für die sekundäre Osteoporose pathognomonische ICTP auch nicht mit der NYHA-Klasse korrelieren, ist davon auszugehen, daß die Erhöhung nicht durch eine Alters- und/oder Inaktivitätsatrophie bedingt ist.
Bei schwerer pulmonaler Hypertonie (PCWP > 12 mmHg) kommt es zu einem Anstieg der PICP-Konzentrationen, was am ehesten auf eine progrediente Fibrosierung der Pulmonalgefäße zurückzuführen sein dürfte.
Es ist aus zahlreichen Studien bekannt, daß die Serumkonzentrationen von ICTP und PICP durch verschiedene Krankheitsprozesse beeinflußt werden. Die ICTP-Serumkonzentration ist bei Krankheiten mit allgemein gesteigertem oder herabgesetztem Knochenumsatz, zum Beispiel Hyperthyreose, Hypothyreose oder Hyperparathyreose, Osteomalazie, primärer und sekundärer Osteoporose verändert [23, 49, 70, 71, 141]. Auch multiple Myelome, Metastasen eines Prostatakarzinoms und andere knochendestruktive Malignome führen zu einem erhöhten ICTP-Serumspiegel [47, 100]. Erhöhte Serumkonzentrationen von ICTP sind ein relativ häufiger Befund bei rheumatoider Arthritis und sind mit der Aggressivität der Krankheit verbunden [68, 93].
ICTP wird hauptsächlich aus dem Knochen freigesetzt, kann aber auch durch Stoffwechselvorgänge in der Haut und in tendinösen Geweben [159] freigesetzt werden. Erhöhte Konzentrationen fanden sich auch bei renaler Dysfunktion, herabgesetzter glomerulärer Filtrationsrate [158] und Lebererkrankungen unterschiedlicher Genese, wie zum Beispiel die Leberfibrose mit hepatischer Nephropathie [48, 74, 155].
Im Rahmen des Diabetes mellitus kommt es zum Anstieg der ICTP-Serumkonzentration [81].
Die ICTP-Serumspiegel können auch unabhängig von pathologischen Prozessen verändert sein. Eine Zwillingsstudie ergab einen genetischen Einfluß auf die ICTP-Serumkonzentrationen. In der gleichen Studie zeigte sich ein starker genetischer Einfluß auf die Serumkonzentrationen von PICP [192].

Frühere Studien konnten zeigen, daß der PICP-Serumspiegel ein besserer Indikator für Leberdysfunktionen ist, als für Veränderungen des Knochenstoffwechsels [8 ,196].
Des weiteren können weibliche Sexualhormone Matrixmetalloproteinasen inhibieren [173]. Im Verlauf der Schwangerschaft kommt es häufig zu erhöhten PICP-Konzentrationen [150]. Eine Hormonersatztherapie mit Östrogenen oder eine Therapie mit Glukokortikoiden führt oft zum Absinken der PICP-Serumkonzentrationen [71, 81, 132].
Beim Diabetes mellitus sinkt die PICP-Serumkonzentration ab oder bleibt unbeeinflußt [14, 81].
Osteoblastische Karzinommetastasen können durch eine gesteigerte Kollagensynthese zum PICP-Anstieg führen [100].
Die den ICTP- beziehungsweise PICP-Stoffwechsel beeinflussenden Erkrankungen und Faktoren wurden vor Studienbeginn zu Ausschlußkriterien erklärt, um einen stärkstmöglichen Bezug der Serumkonzentrationen zu kardialen Vorgängen herstellen zu können.
Aus verschiedenen Studien gibt es Hinweise darauf, daß die PICP-Serumkonzentration hauptsächlich durch die Bildung von Typ-I-Kollagen im Knochen beeinflußt wird und nicht durch die in den Weichteilgeweben stattfindende [82 , 71, 49, 141, 197]. Untersuchungen an Schweinen haben gezeigt, daß die PICP-Konzentrationen im Serum und in der Lymphe des Milchbrustganges vergleichbar sind und daß Senkung oder Erhöhung des Lymphstroms keine Auswirkungen auf die PICP-Konzentration im Serum haben [82]. Anders ist die Situation bei einem ähnlichen Prokollagenpropeptid, das aus dem für Weichteilgewebe spezifischen Typ-III-Prokollagen (PIIINP) stammt. Hier gibt es einen Gradienten von 10:1 zwischen den Konzentrationen in der Lymphe und im Serum. Änderungen des Lymphstroms rufen große Schwankungen der PIIINP-Konzentration hervor.

Aufgrund dieser Hinweise sollte in Folgestudien überprüft werden, ob PIIINP ein adäquaterer Marker für die Kollagensynthese ist. Klappacher et al. fanden signifikant höhere PIIINP-Serumkonzentrationen bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie [90].

3.4 Ausblick

Für eine genauere Abklärung der morphologischen Herkunft der gemessenen Substanzen ist in Folgestudien die Bestimmung der Konzentrationen der Marker des Typ-I-Kollagenmetabolismus aus peripher-, zentral-, koronarvenösem und aortalen Blut notwendig. Nur durch Bestimmung der koronarvenösen Konzentration beziehungsweise der aorto-koronarvenösen Differenz ist es möglich, exaktere Aussagen über den Kollagenstoffwechsel des Herzens zu machen ohne molekularbiologische oder zymographische Methoden anzuwenden. Molekularbiologische und zymographische Verfahren setzen eine invasive Gewinnung von Gewebeproben voraus.

Da offensichtlich fokale Veränderungen des Kollagengerüstes vorliegen, sind Untersuchungen zur Lokalisation von funktionalem und dysfunktionalem Kollagen im Myokard zur weiteren Verdeutlichung der Bedeutung eines gestörten Kollagenmetabolismus bei der Entstehung der Herzinsuffizienz wichtig.
Desweitern erscheint es notwendig, Veränderungen des MMP- und TIMP-Profils in Abhängigkeit von der Dauer des Krankheitsverlaufs und der klinischen Symptomatik zu untersuchen.

In einem weiteren Schritt wären Zytokinkonzentrationen, zum Beispiel TNF-α, IL-1β, IL-2 und IL-10, in Abhängigkeit vom linksventrikulären enddiastolischen Durchmesser zu bestimmen, um zu prüfen, ob die Daten von Marriott et al. Einfluß auf den Kollagenumsatz am Herzen nehmen.
Es ist bekannt, daß MMP-9 nicht am Initialschritt der Degradation von fibrillärem Kollagen beteiligt ist, sondern zusammen mit der Gelatinase-A (MMP-2) die Degradation der N-terminalen 3/4- und C-terminalen 1/4-Fragmente bewirkt [84]. Da keine Korrelation zwischen MMP-1, das am Initialschritt beteiligt ist, und dem myokardialen Kollagengehalt besteht, muß in einer weiteren Studie der Frage nachgegangen werden, inwieweit MMP-1 an diesem Schritt der Degradation der myokardialen Extrazellulärmatrix beteiligt ist. Hierzu wäre unter anderem wichtig zu bestimmen, inwieweit eine Korrelation zwischen der MMP-1-Serumkonzentration und der zymographisch bestimmten MMP-1-Konzentration besteht.
Desweiteren wäre zu erörtern, inwieweit die anderen am Initialschritt beteiligten Matrixmetalloproteinasen (MMP-2, -8, -13) beim Remodeling der kardialen Extrazellulärmatrix von Bedeutung sind.
Vor allem die Konzentration der MMP-3 sollte an einem größeren Kollektiv in Abhängigkeit der Krankheitsdauer und der objektiven und subjektiven Symptome bestimmt werden, da es

durch eine frühzeitige Aktivierung der MMP-3 zur nachgeschalteten Aktivierung anderer MMPs kommen kann.
Im Rahmen einer weiteren Follow-up-Studie sollten subjektive Symptome und hämodynamische Parameter in mindestens jährlichem Abstand evaluiert und in Beziehung zu den Parametern des Typ-I-Kollagenstoffwechsels gesetzt werden.

4 Zusammenfassung

Die dilatative Kardiomyopathie stellte einen hohen Anteil der primären und sekundären Formen der Kardiomyopathien dar. Sie ist definiert als eine Herzmuskelerkrankung, die zu einer Vergrößerung eines oder beider Herzkammern führt und überwiegend durch eine Einschränkung der systolischen, aber auch der diastolischen Funktion charakterisiert ist.
Die Ventrikeldilatation und die ventrikuläre Dysfunktion kann Folge unterschiedlicher Ursachen sein, so daß eine Differenzierung zwischen idiopathischen (=primären) und sekundären Formen der DCM hinsichtlich der Prognose und der therapeutischen Optionen wichtig ist.
In Abhängigkeit der diagnostischen Kriterien, liegt die jährliche Inzidenz zwischen 5 bis 8 Erkrankungen pro 100.000 Einwohnern. Die Prävalenz beträgt 36 pro 100.000. Die dilatative Kardiomyopathie ist ursächlich für etwa 10.000 Todesfälle pro Jahr. Die männliche und die farbige Bevölkerung hat ein 2,5fach höheres Erkrankungsrisiko.
Die dilatative Kardiomyopathie ist noch immer eine der Hauptindikationen für eine orthotrope Herztransplantation.
Verschiedene Studien konnten zeigen, daß die extrazelluläre Matrix für die linksventrikuläre Integrität und Funktion von großer Bedeutung ist. Die Extrazellulärmatrix stellt ein dreidimensionales Netzwerk dar, das zu 9/10 aus fibrillärem Typ-I- und –III-Kollagen besteht. Sie hat Binde- und Stützfunktion und dient als Insertionsstelle für Kardiomyozyten. Es wird vermutet, daß eine Kollagendegradation durch Kollagenasen, besonders durch Matrixmetalloproteinasen (MMPs), zur Ventrikeldilatation beiträgt. Durch eine Degradation der Extrazellulärmatrix kommt es zu einer Störung des Herzmuskelfasergefüges, welche unter anderem zu einem Auseinandergleiten der Kardiomyozyten („side-to-side-slippage“) führt.
An der Degradation des fibrillären Kollagens sind neben anderen Proteasen Matrixmetalloproteinasen (MMPs) maßgeblich beteiligt. MMPs sind für den Umsatz von Bestandteilen der Extrazellulärmatrix verantwortlich. Zur Zeit sind 17 verschiedene MMPs bekannt, die in fünf verschiedene Gruppen eingeteilt werden. Die verschiedenen MMPs unterscheiden sich zum einen in ihrer Funktion, zum anderen in ihrer Substratspezifität. Die proteolytische Aktivität der aktivierten MMPs wird sowohl durch „tissue inhibitors of matrix-metalloproteinases“ (TIMPs) als auch durch unspezifische Inhibitoren, Antiproteasen und exogene Faktoren wie Heparin gehemmt.
MMP-1, -3, -9 und TIMP-1 können somit nützliche Informationen über das kardiale Remodeling und den kardialen Typ-I-Kollagenstoffwechsel liefern. Im Rahmen zahlreicher

Studien sind MMP- und TIMP-Aktivitäten auf der Transkriptions- und Proteinebene mit Hilfe von Northern-blot-Analysen und Substratzymographien untersucht worden.

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit sollte untersucht werden, inwiefern es möglich ist, Marker des Kollagenstoffwechsels im peripherven ösen Blut zu bestimmen und mit klinischen Parametern bei Patienten mit idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie zu korrelieren. Hierzu wurden im Serum neben Typ-I-Kollagensynthese- (PICP) und –degradations-bruchstücken (ICTP) die Konzentrationen der Matrixmetalloproteinasen MMP-1, -3 und –9 sowie des Inhibitor TIMP-1 mittels RIA beziehungsweise ELISA bestimmt.
Da die Prognose der dilatativen Kardiomyopathie trotz der heute zur Verfügung stehenden therapeutischen Optionen noch immer schlecht ist, sollte darüber hinaus in einem zweiten Schritt ermittelt werden, ob einer veränderten Serumkonzentration einer der bestimmten Parameter eine prognostische Bedeutung zukommt. Zur Evaluierung der Bedeutung der Marker in Bezug auf die Prognose wurde ein klinisches Follow-up durchgeführt.

Die Typ-I-Kollagen-Stoffwechselmarker wurde bei 53 Patienten mit der klinischen Diagnose einer dilatativen Kardiomyopathie sowie 47 altersentsprechenden Kontrollpersonen bestimmt. Bei je 10 der Patienten und Kontrollen wurde zusätzlich die MMP-3- und –9-Serumkonzentration bestimmt.

MMP-1 und TIMP-1 waren bei Patienten mit DCM ebenso signifikant erhöht, wie der Abbaumarker ICTP. Die MMP-1/TIMP-1-Ratio war ebenfalls signifikant erhöht.
Die MMP-9-Konzentration war ebenfalls höher.

Bei der dilatativen Kardiomyopathie findet sich ein erhöhter Kollagenumsatz, insbesondere eine vermehrte Kollagendegradation, die duch eine Dysbalance der MMP-1/TIMP-1-Ratio charakterisiert ist. Serummarker der Typ-I-Kollagendegradation sind bei der dilatativen Kardiomyopathie erhöht. Die MMP-1/TIMP-1-Ratio wies eine signifikante Korrelation mit dem linksventrikulären enddiastolischen Durchmesser auf. Diese Serummarker des Typ-I-Kollagenmetabolismus können wertvolle Marker für die Progression der linksventrikulären Dilatation sein.

Das Follow-up zeigte, daß Patienten mit schwerwiegendem kardialen Ereignis im Beobachtungszeitraum im Vergleich zu Patienten ohne Progreß der Beschwerdesymptomatik zum Zeitpunkt der Erstuntersuchung signifikant erhöhte TIMP-1-Konzentrationen aufwiesen. MMP-1 war bei DCM um 55% erhöht, der Unterschied war jedoch nicht signifikant. PICP war ebenfalls signifikant erhöht. Es ist bislang noch unbekannt,

inwiefern dieser erhöhte PICP-Spiegel ein Hinweis auf ein diastolische, restriktive Funktionsstörung sein kann, die mit einer ungünstigen Prognose vergesellschaftet ist und häufig im Verlauf der Erkrankung neben der bestehenden systolischen Funktionsstörung hinzukommt.

5 Literaturverzeichnis

1 **Alla F,** Briançon S, Juillière Y, Mertes PM, Villemot JP, Zannad F for the EPICAL Investigators. Differental clinical prognostic classifications in dilated and ischemic advanced heart failure: The EPICAL study. *Am Heart J 2000; 139: 895-904*

2 **Anderson B**, Caidahl K, Waagstein F, Olofesson EL. Idiopathic dilated cardiomyopathy among swedish patients with congestive heart failure. *Eur Heart J 1995; 16: 53-60*

3 **Armstrong PW,** Moe GW, Howard RJ, Grima EA, Cruz TF. Structural remodellin in heart failure: gelatinase induction. *Can J Cardiol. 1994; 10: 214-220*

4 **Arstall MA,** Sawyer DB, Fukazawa R, Kelly RA. Cytokine-mediated apoptosis in cardiac myocytes: the role of inducible nitric oxide synthase induction and peroxynitrite generation. *Circ Res 1999; 85: 829-840*

5 **Australia/New Zealand Heart Failure Research Collaborative Group**. Randomized, placebo-controlled trial of carvedilol in patients with congestive heart failure due to ischemic heart disease. *Lancet 1997; 349: 375-380*

6 **Azuma A,** Matsuo A, Nakamura T, Kawasaki T, Yamamoto K, Hyogo M, Hirata A, Hirasaki S, Shima T, Sugihara H, Kunishige H, Kuribayashi T, Nakagawa M. Improved survival of idiopathic dilated cardiomyopathy in the 1990s. *Jpn Circ J 1999; 63(5): 333-8*

7 **Beltrami CA,** Finato N, Rocco M, Feruglio GA, Puricelli C, Cigola E, Sonnenblick EH, Olivetti G, Anversa P. The Cellular Basis of Dilated Cardiomyopathy in Humans. *J Mol Cell Cardiol 1995; 27: 291-305*

8 **Bentsen KD.** Type III procollagen peptide: studies on the circulating peptides as a marker of fibrogenesis with special reference to the liver. *Laegeforeningens Forlag, Kopenhagen, 1992*

9 **Berditchevski F,** Chang S, Bodorova J, Hemler ME. Generation of monoclonal antibodies to integrin-associated proteins. Evidence that alpha3beta1 complexes with EMMPRIN/basigin/OX47/OX6. *J Biol Chem 1997; 272(46): 29174-29180*

10 **Bishop JE,** Greenbaum R, Gibson DG, Yacoub M, Laurent GJ. Enhanced deposition of predominantly type I collagen in myocardial disease. *J Mol Cell Cardiol 1990; 22: 1157-1165*

11 **Bishop JE**, Laurent GJ. Collagen turnover and its regulation in the normal and hypertrophying heart. *Eur Heart J 1995; 16 (Supplement C): 38-44*

12 **Bonnin CM,** Sparrow MP, Taylor RR: Collagen synthesis and content in right ventricular hypertrophy in the dog. *Am J Physiol 1981; 10: H703-713*

13 **Bonvalet JP**, Alfaidy N, Farman N, Lombès M. Aldosterone: intracellular receptors in

human heart. *Eur Heart J 1995; 16 (Suppl N): 92-97*

14 **Bouillon R,** Bex M, Van Herck E, Laureys J, Dooms L, Lesaffre E, Ravussin E. Influence of age, sex and insulin on osteoblast function: osteoblast dysfunction in diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab 1995; 80(4): 1194-1202*

15 **Brenner DA,** O'Hara M, Angel P, Chojkler M, Karin M. Prolonged activation of jun and collagenase genes by tumor necrosis factor-alpha. *Nature 1989; 337: 661-663*

16 **Brilla CG**, Pick R, Tan LB, Janicki JS, Weber KT. Remodeling of the rat right and left ventricles in experimental hypertension. *Circ Res 1990; 67: 1355-64*

17 **Brown PD**. Matrix metalloproteinase inhibitors in the treatment of cancer. *Med Oncol 1997; 14: 1*

18 **Bryant D,** Becker L, Richardson J, Shelton J, Franco F, Peshock R, Thompson M, Giroir B. Cardiac function in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-α. *Circulation 1998; 97: 1375-1381*

19 **Burton AC.** Relation of structure to function of the tissues of the wall of blood vessels. *Physiol Rev 1954; 34: 619-642*

20 **Bussmann WD**. Consensus-Konferenz "Therapie der chronischen Herzinsuffizienz". *Z Kardiol 1993; 82: 200-210*

21 **Caforio AL**, Keeling PJ, Zachara E, Mestroni L, Camerini F, Mann JM, Bottazzo GF, McKenna WJ. Evidence from family studies for autoimmunity in dilated cardiomyopathy. *Lancet 1994; 344: 773-777*

22 **Caulfield JB**, Borg TK. The Collagen Network of the Heart. *Lab Invest 1979; 40 (3): 364-372*

23 **Charles P,** Mosekilde L, Risteli L, Risteli J, Eriksen EF. Assessment of bone remodeling using biochemical indicators of type I collagen synthesis and degradation: relation to calcium kinetics *Bone Miner 1994; 24(2): 81-94*

24 **Cibis-II Investigators and Committees**. The cardiac insufficiency bisoprolol study II (Cibis-II): a randomised trial. *Lancet 1999; 353: 9-13*

25 **Cicoira M,** Zanolla L, Latina L, Rossi A, Golia G, Brighette G, Zardini P. Frequency, prognosis and predictors of improvement of systolic left ventricular function in patients with 'classical' clinical diagnosis of idiopathic dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail 2001; 3(3): 323-30*

26 **Cintron G,** Johnson G, Francis G, Cobb F, Cohn JN. Prognostic significance of serial changes in left ventricular ejection fraction in patients with congestive heart failure. *Circulation 1993; 87: VI-17 – VI-23*

27 **Cohn JN**, Archibald DG, Ziesche S, Franciosa JA, Harston WE, Tristani FE, Dunkman WB, Jacobs W, Francis GS, Flohr KH, Goldman S, Cobb FR, Shah PM, Saunders R, Fletcher RD, Loeb HS, Hughes VC, Baker B. Effect of vasodilator therapy on mortality

in chronic congestive heart failure. *N Engl J Med 1986; 314: 1547-1552*

28 **Cohn JN**, Johnson G, Ziesche S, Cobb F, Francis G, Tristani F, Smith R, Dunkman B, Loeb H, Wong M, Bhat G, Goldman S, Fletcher RD, Doherty J, Hughes V, Carson P, cintron G, Shabetei R, Haakenson C. A comparison of enalapril with hydralazine-isosorbide dinitraee in the treatment of chronic congestive heart failure. *N Engl J Med 1991; 325: 303-310*

29 **Cohn JN**, Johnson GR, Shabetei R, Loeb H, Tristani F, Rector T, Smith R, Fletcher R for the V-HeFt V. A. Cooperative Studies Group. Ejection fraction, peak exercise oxygen consumption, cardiothoracic ratio, ventricular arrhythmias and plasma norepinephrine as determinants of prognosis in heart failure. *Circulation 1993; 87: VI-5 – VII-6 (Suppl VI)*

30 **Cohn JN**, Tognoni G. Effect of the Angiotensin Receptor Blocker Valsartan on Morbidity and Mortality in Heart Failure: the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *N Engl J Med 2001; 345(23): 1667-75*

31 **Cohn JN,** Ziesche SM, Loss LE, Anderson GT. Effect of felodipine on short-term exercise and neurohormones and long-term mortality in heart failure: Results of V-HeFT III (Abstr.). *Circulation 1995; 92 (Suppl 1): 1-143*

32 **Coker ML,** Thomas CV, Clair MJ, Hendrick JW, Krombach RS, Galis ZS, Spinale FG. Myocardial matrix metalloproteinase activity and abundance with congestive heart failure. *Am J Physiol 1998; 274: H1506-H1523*

33 **Coker ML,** Zellner JL, Crumbley AJ, Spinale FG. Deffects in matrix metalloproteinase inhibitory stoichiometry and selective MMP induction in patients with nonischemic or ischemic dilated cardiomyopathy. *Ann N Y Acad Sci 1999; 878: 559-562*

34 **Davis RC**, Hobbs FDR, Lip YH. ABC of heart failure-history and epidemiology. *Br Med J 2000; 320: 39-42*

35 **Dec GW**, Fuster V. Idiopathic dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med 1994; 331, No. 23: 1564- 1575*

36 **DeCastro R,** Zhang Y, Guo H, et al. Human keratinocytes express EMMPRIN, an extracellular matrix metalloproteinase inducer. *J Invest Dermatol 1996; 106: 1260-1265*

37 **Denolin H**, Kuhn H, Krayenbuehl HP, Loogen F, Reale A. The definition of heart failure. *Eur Heart J 1983; 4(7): 445-448*

38 **Di Lenarda A,** De Maria R, Gavazzi A, et al. Long term survivval effect of metoprolol in dilated cardiomyopathy. *Heart 1998; 79:337-344*

39 **Diaz RA**, Obasohan A, Oakley CM. Prediction of outcome in dilated cardiomyopathy. *Br Heart J 1987; 58: 393-399*

40 **Dixon IM,** Ju H, Reid NL, Scammell-La Fleur T, Werner JP, Jasmin G. Cardiac collagen remoedling in the cardiomyopathic Syrian hamster and the effect of losartan. *J*

Mol Cell Cardiol 1997; 29(7): 1837-1850

41 **Doering CW,** Jalil JE, Janicki JS, Pick R, Aghili S, Abrahams C, Weber KT. Collagen network remodeling and diastolic stiffness of the rat left ventricle with pressure overload hypertrophy. *Cardiovasc Res 1988; 22: 686-695*

42 **Dolley CM**, McEwan JR, Henney AM. Matrix Metalloproteinases and Cardiovascular Disease. *Circ Res. 1995; 77: 863-868*

43 **Dunkman WB,** Johnson GR, Carson PE, Bhat G, Farrell L, Cohn JN. Incidence of thromboembolic events in congestive heart failure. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. *Circulation 1993; 87: VI94-V101*

44 **Dzau JV**, Re R. Tissue angiotensin system in cardiovascular medicine. A paradigm shift? *Circulation 1994; 89: 493-498*

45 **Eichhorn EJ,** Bristow MR. The Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival (COPERNICUS) trial. *Curr Control Trials Cardiovasc Med. 2001; 2 (1): 20-23*

46 **Eichhorn EJ.** Prognosis Determination in Heart Failure. *Am J Med 2001; 110 Suppl 7A: 14-35*

47 **Elomaa I,** Virkkunen P, Risteli L, Risteli J. Serum concentrations of the cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen (ICTP) is a useful prognostic indicator in multiple myeloma. *Br J Cancer 1992; 66: 337-341*

48 **Epstein M.** Hepatorenal syndrome – emerging perspectives of pathophysiology and therapy. *J Amer Soc Nephrol 1994; 4: 1735-1753*

49 **Eriksen EF,** Charles P, Melsen F, Mosekilde L, Risteli L, Risteli J. Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: Correlation to bone histomorphometry. *J Bone Miner Res 1993; 8: 127-132*

50 **Fabunmi RP**, Baker AH, Murray EJ, Booth RFG, Newby AC. Divergent regulation by growth factors and cytokines of 95 kDa and 72 kDa gelatinases and tissue inhibitors of metalloproteinases-1, -2 and –3 in rabbit aortic smooth muscle cells. *Biochem J 1996; 315: 335-342*

51 **Figulla HR,** Gietzen F, Zeymer U, et al..*Circulation 1996; 94: 346-352*

52 **Fini ME,** Cook JR, Mohan R, Brinckerhoff CE. Regulation of matrix metalloproteinase gene expression. In: *Parks WC, Mecham RP, editors, Matrix metalloproteinases, San Diego: Academic Press, 1998, pp.299-362*

53 **Franz WM**, Cremer M, Herrmann R, Grünig E, Fogel W, Scheffold T, Goebel W, Kircheisen R, Kübler W, Voit T, Kartus HA. X-linked dilatd cardiomyopathy. Novel mutation of the dystrophin gene. *Ann N Y Acad Sci 1995; 752: 470-491*

54 **Frisch SM,** Morisaki JH. Positive and negative transcriptional elements of the human type IV collagenase gene. *Mol Cell Biol 1990; 10: 6524-6532*

55 **Fruhwald FM,** Dusleag J, Eber B, Fruhwald S, Zweiker R, Klein W. Long-Term

Outcome and Prognostic Factors in Dilated Cardiomyopathy. Preliminary Results. *Angiology 1994: 45(9): 763-770*.

56 **Fuster V,** Gersh BJ, Giuliani ER, Tajik AJ, Branderburg RO, Frye RL. The natural history of idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol 1981; 47: 525-31*

57 **Gaspoz JM**. [Costs and benefits of heart failure treatment] Coûts et bénéfices du traitement de l'insuffisance cardiaque. *Schweiz Med Wochenschr 1999; 129: 131-7*

58 **Gavazzi A,** Lanzarini L, Cornalba C, Desperati M, Raisaro A, Angoli L, De Servi S, Specchia G. Dilated (congestive) cardiomyopathy. Follow-up study of 137 patients. *G Ital Cardiol 1984; 14(7): 492-8*

59 **Genth S**, Zotz R, Darius H, Treese N, Sigmund N, Hanrath P, Meyer J. Comparison of NYHA classification with cardiopulmonary function in patients with heart failure. *Z Kardiol 1996; 85(6): 428-34*

60 **Gerzen P,** Granath A, Hohngren B, Zetterquist S. Acute myocarditis. A follow-up study. *Br Heart J 1972; 34(6): 575-83*

61 **Gheorghiade M**, Hall VB, Jacobsen G, Alam M, Rosman H, Goldstein S. Effects of increasing maintenance dose of digitoxin on left ventricular function and neurohormones in patients with chronic heart failure treated with diuretics and angiotensin-converting enzyme inhibitors. *Circulation 1995; 92: 1801-1807*

62 **Gomez DE**, Alonso DF, Yoshiji H, Thorgeirsson UP. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological functions. Review Article. *Eur J Cell Biol 1997; 74: 111-122*

63 **Grimm D,** Huber M, Jabusch HC, Shakibaei M, Fredersdorf S, Paul M, Riegger GA, Kromer EP. Extracellular matrix proteins in cardiac fibroblasts derieved from rat hearts with chronic pressure overload: effects of beta-receptor blockade. *J Mol Cell Cardiol 2001; 33(3): 487-501*

64 **Grünig E,** Brown B, Franz W, Zehelein J, Rottbauer W, Frey N, Scheffold T, Katus HA. Klinik und Verlauf der dilatativen Kardiomyopathie. *Z Kardiol 1995; 84: Suppl 4: 39-48*

65 **Grünig E**, Tasman JA, Kücherer H, Franz WM, Kübler W, Katus HA. Frequency and phenotypes of familial dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol 1998; 31: 186-194*

66 **Gunja-Smith Z**, Morales AR, Romanelli R, Woessner JF. Remodeling of Human Myocardial Collagen in Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Am J Pathol 1996; 148: 1639-1648*

67 **Guo H,** Zucker S, Gordon JK, et al. Stimulation of matrix metalloproteinase production by recombinant extracellular matrix metalloproteinase inducer from transfected Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem 1997; 227: 24-27*

68 **Hakala M,** Risteli L, Manelius J, Nieminen P, Risteli J. Increased type I collagen degradation correlates with disease severity in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*

1993; 52(12): 866-9

69 **Haldeman GA**, Croft JB, Giles WH, et al. Hospitalization of patients with heart failure: national hospital discharge survey 1985-1995. *Am Heart J 1999; 137: 352-60*

70 **Hasling C,** Eriksen EF, Melkko J, Risteli L, Charles P, Mosekilde L, Risteli J. Effects of a combined estrogen-gestagen regimen on serum levels of carboxy-terminal propeptide of human type I procollagen in osteoporosis. *J Bone Miner Res 1991; 6: 1295-1300*

71 **Hassager C,** Jensen LT, Johansen JS, Riis BJ, Melkko J, Podenphant J, Risteli L, Christiansen C, Risteli J. The carboxy-terminal propeptide of type I procollagen in serum as a marker of bone formation. The effect of nandrolone decanoate and female sex hormones. *Metabolism 1991; 40: 205-208*

72 **Haywaaard CS,** Webb CM, Collins P. Effect of sex hormones on cardiac mass. *Lancet 2001; 357 (9265): 1354-6*

73 **Hennersdorf M**, Schwartzkopff B, Strauer BE. Arzneimitteltherapie der Herzinsuffizienz. *Internist 2000; [Suppl. 1] 41: S2-S12*

74 **Henriksen JH,** Ring-Larsen H. Hepatorenal disorders: role of the sympathetic nervous system. *Semin Liver Dis 1994; 14: 35-43*

75 **Ho KKL**, Keaven MA, Kannel WB, Grossman W, Levy D. Survival After the Onset of Congestive Heart Failure in Framingham Heart Study Subjects. *Circulation 1993; 88: 107-115*

76 **Hobbs RE**. Results of the ATLAS study. High or low doses of ACE inhibitors for heart failure? *Cleveland Clin J Med 1998; 65: 539-542*

77 **Horowitz A,** Lanir Y, Yin FC, Perl M, Sheinman I, Strumpf RK: Structural three-dimensional constitutive law for the passive myocardium. *J Biomech Eng 1988; 110: 200-207*

78 **Ing DJ,** Zang J, Dzau VJ, Webster KA, Bishopric NH. Modulation of cytokine-induced cardiac myocyte apoptosis by nitric oxide, Bak and Bcl-x. *Circ Res. 1999; 84: 21-33*

79 **Jalil JE,** Doering CW, Janicki JS, Pick R, Shroff S, Weber KT. Fibrillar collagen and myocardial stiffness in the intact hypertrophied rat left ventricle. *Circ Res 1989; 64: 1041-1050*

80 **Janicki JS,** Henegar JR, Campbell SE, Tyagi SC. Myocardial collagenase acitivty in experimental dilated cardiomyopathy. In: *Weber KT, ed. Wound Healing in Cardiovascular Disease. Armonk, NY: Futura Press; 1995: 73-81*

81 **Jehle PM,** Jehle DR, Mohan S, Böhm BO. Serum levels of insulin-like growth factor system components and relationship to bone metabolism in Type 1 and Type 2 diabetes mellitus patients. *J Endocrinol 1998; 159(2): 297-306*

82 **Jensen LT,** Olesen HP, Risteli J, Lorenzen I. External thoracic duct-venous shunt in

conscious pigs for long term studies of connective tissue metabolites in lymph. *Lab Anim Sci 1990; 40: 620-624*

83 **Johnson RA,** Palacios I. Dilated cardiomyopathies of the adult. *N Engl J Med 1982; 307: 1051-1058*

84 **Kähäri VM**, Saarialho-Kere U. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in tumour growth and invasion. *Ann Med 1999; 31: 34-45*

85 **Kannel WB**. Vital epidemiologic clues in heart failure. *J Clin Epidemiol 2000; 53: 229-235*

86 **Kapadia SR,** Oral H, Lee J, Nakano M, Taffet GE, Mann DL. Hemodynamic regulation of tumor necrosis factor-α gene and protein expression in adult feline myocardium. *Circ Res 1997; 81: 187-195*

87 **Katz IA,** Epstein S. Post transplantation bone disease. *J Bone Miner Res 1992; 7: 123-126*

88 **Kelly DP**, Strauss AW. Inherited cardiomyopathies. *N Engl J Med 1994; 330: 913-919*

89 **Kim HE,** Dalal SS, Young E, Legato MJ, Weisfeldt ML, D'Armiento J. Disruption of the myocardial extracellular matrix leads to cardiac dysfunction. *J Clin Invest 2000; 106(7): 857-66*

90 **Klappacher G**, Franzen P, Haab D, Mehrabi M, Binder M, Plesch K, Pacher R, Grimm M, Pribill I, eichler HG, Glogar HD. Measuring Extracellular Matrix Turnover in the Serum of Patients With Idiopathic or Ischemic Dilated Cardiomyopathy and Impact on Diagnosis and Prognosis. *Am J Cardiol 1995; 75: 913-918*

91 **Kleine DE**, Stetler-Stevenson WG. Matrix metalloproteinases and metastasis. *Cancer Chemother Pharmacol 1999; 43: S42*

92 **Knauper V,** Murphy G. Membrane-type matrix metalloproteinases and cell surface-associated activation cascades for matrix metalloproteinases. In: *Parks WC, Mecham RP, eds. Matrix Metalloproteinases. Orlando Fla: Academic Press; 1998: 199-218*

93 **Kotaniemi A,** Isomäki H, Hakala M, Risteli L, Risteli J. Increased type I collagen degradation in early rheumatoid arthritis. *J Rheumatol 1994; 21(9): 1593-6*

94 **Krane SM.** Clinical Importance of Metalloproteinases and Their Inhibitors. *Ann N Y Acad Sci 1994; 732: 1-10*

95 **Krown KA,** Page MT, Nguyen C, Zechner D, Gutierrez V, Comstock KL, Glembotski CC, Quintana PJ, Sabbadini RA. Tumor necrosis factor α-induced apoptosis in cardiac myocytes: involvement of the sphigolipid signaling cascade in cardiac cell death. *J Clin Invest. 1996; 98: 2854-2865*

96 **Kubota T,** McTiernan CF, Frye CS, Slawson SE, Lemster BH, Koretsky AP, Demetris AJ, Feldman AM. Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-α. *Circ Res 1997; 81: 627-635*

97 **Kucharz EJ.** The Collagens: Biochemistry and Pathophysiology. *Springer-Verlag New*

York, Incorporated, 1992

98 **Kühl U**, Noutsias M, Seeberg B, Schultheiss HP. Immunological analysis for a chronic intramyocardial inflammatory process in dilated cardiomyopathy. *Heart 1996; 75: 295-300*

99 **Kuhn H**, Becker R, Fischer J, Curtius JM, Lösse B, Hort W, Loogen F. Untersuchungen zur Ätiologie, zum Verlauf und zur Prognose der dilatativen Kardiomyopathie (DCM). *Z Kardiol 1982; 71: 497-508*

100 **Kylmälä T,** Tammela T, Risteli L, Risteli J, Taube T, Elomaa I. Evaluation of the effect of oral clodronate on skeletal metastaseswith type I collagen metabolites. A controlled trial of the Finnish prostate cancer group. *Eur J Cancer 1993; 29A: 821-825*

101 **Lam M,** Martinez T, Jablons D, et al. Tumor derived EMMPRIN (extracellular matrix metalloproteinase inducer) stimulates collagenase transcription through MAPK p38. *FEBS Lett 1998; 441: 88-92*

102 **Lambert CA**, Soudant EP, Nusgens BV, Lapière CM. Pretranslational regulation of extracellular matrix macromolecules and collagenase expression in fibroblasts by mechanical forces. *Lab Invest 1992; 66: 444-51*

103 **Laurent GJ**. Dynamic state of collagen: pathways of collagen degradation in vivo and their possible role in regulation of collagen mass. *Am J Physiol 1987; 252 (1 Pt 1): C1-9*

104 **Laviades C**, Varo N, Fernández J, Mayor G, María JG, Monreal I, Díez J. Abnormalities of Extracellular Degradation of Collagen Type I in Essential Hypertension. *Circulation 1998; 98: 535-540*

105 **Lee RT.** Matrix metalloproteinase inhibition and the prevention of heart failure. *Trends Cardiovasc Med 2001; 11(5): 202-205*

106 **Levi G,** Scalvini S, Volterrani M, Marangoni S, Arosio G, Quadri A. Coxsackie virus heart disease: 15 years after. *Eur Heart J 1988; 9(12): 1303-7*

107 **Levine B,** Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med 1990;M 223: 236-241*

108 **Li H,** Simon H, Bocan TM, Peterson JT. MMP/TIMP expression in spontaneously hypertensive heart failure rats: the effect of ACE- and MMP-inhibition. *Cardiovasc Res 2000; 46(2): 298-306*

109 **Li YY,** Feldman AM, Sun Y, McTiernan CF. Differential expression of tissue inhibitors of meatlloproteinases in the failing human heart. *Circulation 1998; 98(17): 1728-1734*

110 **Li YY,** Feng Y, McTiernan CF, Pei W, Moravec CS, Wang P, Rosenblum W, Kormos RL, Feldmann AM. Downregulation of Matrix Metalloproteinases and Reduction in Collagen Damage in the Failing Human Heart After Support With Left Ventricular Assist Device. *Circulation 2001; 104: 1147-1152*

111 **Li YY**, McTierman CF, Feldman AM. Proinflammatory cytokines regulate tissue

inhibitors of metalloproteinases and disintegrin metalloproteinase in cardiac cells. *Cardiovasc Res 1999; 42: 162-172*

112 **Limas CJ,** Goldenberg IF, Limas C. Soluble interleukin-2 receptor levels in patients with dilated cardiomyopathy. Correlation with disease severity and cardiac autoantibodies. *Circulation 1995; 91: 631-634*

113 **Linzbach AJ.** heart failure from the point of view of quantitative anatomy. *Am J Cardiol 1960; 5: 370-382*

114 **Mann DL.** Mechanisms and models in heart failure. A combinatorial approach. *Circulation 1999; 100(9): 999-1008*

115 **Manolio TA,** Baughman KL, Rodeheffer R, Pearson TA, Bristow JD, Michels VV, Abelmann WH, Harlan WR. Prevalence and etiology of idiopathic dilated cardiomyopathy (summary of a National Heart, Lung and Blood Institute workshop). *Am J Cardiol 1992; 69: 1458-1466*

116 **Marijianowski MM,** Teeling P, Mann J, Becker AE. Dilated cardiomyopathy is associated with an increase in the type I/type III collagen ratio: a quantitative assessment. *J Am Coll Cardiol 1995; 25 (6): 1263-1272*

117 **Marriott JB**, Goldman JH, Keeling PJ, Baig MK, Dalgleish AG,McKenna WJ. Abnormal cytokine profiles in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy and their asymptomatic relatives. *Heart 1996; 75:287-290*

118 **McElmurray JH 3rd,** Mukherjee R, New RB, Sampson AC, King MK, hendrick JW, Goldberg A, Peterson TJ, Hallak H, Zile MR, Spinale FG. Angiotensin-converting enzyme and matrix metalloproteinase inhibition with developing heart failure: comparative effects on left ventricular function and geometry. *J Pharmacol Exp Ther 1999; 291(2): 799-811*

119 **McKelvie RS**, Yusuf S, Pericak D, Avezum A, Burns RJ, Probstfield J, Tsuyuki RT, White M, Rouleau J, Latini R, Maggioni A, Young J, Pogue J. Comparison of candesartan, enalapril and their combination in congestive heart failure: randomized evaluation of strategies for left ventricular dysfunction (RESOLVD) pilot study. The RESOLVD Pilot Study Investigators. *Circulation 1999; 100 (10): 1056-64*

120 **McMurray JJ**, Stewart S. Heart failure-Epidemiology, aetiology and prognosis of heart failure. *Heart 2000; 83: 596-602*

121 **McTiernan CF,** Lemster BH, Frye C, Brooks S, Combes A, Feldman AM. Interleukin-1β inhibits phospholamban gene expression in cultured cardiomyocytes. *Circ Res 1997; 81: 493-503*

122 **MERIT-HF Study Group**. Effect of metoprolol CR/XL in chronic heart failure: metroprolol CR/XL randomised intervention trial in congestive heart failure (MERIT-HF). *Lancet 1999; 353: 2001-2007*

123 **Michels VV,** Moll PP, Miller FA, et al.. The frequency of familial dilated cardiomyopathy in a series of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med 1992; 326: 77-82*

124 **Migita K,** Eguchi K, Kawabe Y et al. TNF-α mediated expression of membrane type matrix metalloproteinase in rheumatoid synovial fibroblasts. *Immunology 1996; 89: 553-557*

125 **Moeller S,** Hansen M, Hillingsoe J, Jensen JEB, Henriksen JH. Elevated carboxy terminal cross linked telopeptide of type I collagen in alcoholic cirrhosis: relation to liver and kidney function and bone metabolism. *Gut 1999; 44: 417-423*

126 **Moreas CT**, Di Maurio S, Zeviani M, Lombes A, Shanske S, Miranda AF, Nakase H, Bonilla E, Werneck L, Servidei S, Nonaka I, Koga Y, Spiro AJ, Brownell AKW, Schmidt B, Schotland L, Zupanc M, DeVivo DC, Schon EA, Rowland LP. Mitochondrial DNA deletions in progressive external ophthalmoplegia and Kearns-Sayre syndrome. *N Engl J Med 1989; 320: 1293-99*

127 **Munger MA**, Johnson B, Amber IJ, Callahan KS, Gilbert EM. Circulating Concentrations of Proinflammatory Cytokines in Mild or Moderate Heart Failure Secondary to Ischemic or Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Am J Cardiol 1996; 77: 723-727*

128 **Muntoni F**, Cau M, Ganau A, Congiu R, Arvecli G, Matedu A, Marrosu MG, Cianchetti C, Realdi G, Cao A, Melis MA. Deletion of the dystrophin musclepromoter region asociated with X-linked dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med 1993; 329: 921-925*

129 **Nagase H**. Activation Mechanisms of Matrix Metalloproteinases. Review. *J Biol Chem 1997; 378: 151-160*

130 **Nagase H**. Matrix Metalloproteinases. In: *Zinc Metalloproteinases in Health and Disease, N. M. Hooper, ed. (London, England: Taylor and Francis), pp. 152-204*

131 **O'Connor CM**, Belkin RN, Carson PE et al. for the PRAISE Investigators. Effect of amlodipine on mode of death in severe chronic heart failure: The PRAISE Trial [abstract]. *Circulation 1995; 92 (Suppl 1): 1-143*

132 **Oikarinen A,** Autio P, Vouri J, Väänänen K, Risteli L, Küstala U, Risteli J. Systemic glucocorticoid treatment decreases serum concentrations of carboxyterminal propeptide of type I procollagen and aminoterminal propeptide of type III procollagen. *Br J Dermatol 1992; 126: 172-178*

133 **Okada H,** Kawaguchi H, Kudo T, Sawa H, Okamoto H, Watanabe S, Urasawa K, Murakami T, Kitabatake A. Alteration of extracellular matrix in dilated cardiomyopathic hamster heart. *Mol Cell Biochem 1996; 156 (1): 9-15*

134 **Ono K,** Matsumori A, Shioi T, Furukawa Y, Sasayama S. Cytokine gene expression after myocardial infarction in rat hearts: possible implication in left ventricular

remodeling. *Circulation 1998; 98: 149-156*

135 **Osterziel KJ**, Dietz R. Therapie der Herzinsuffizienz mit β-Blockern. *Z Kardiol 1997; 86: 1-8*

136 **Overall CM**. Regulation of Tissue Inhibitor of Matrix Metalloproteinase Expression. *Ann N Y Acad Sci 1994; 732: 51-64*

137 **Pachinger O,** Kliepera M, Sochor H, Probst P, Kaliman J, Glogar D, Mayr H, Mlczoch J, Kaindl F. Hämodynamik der kongestiven Kardiomyopathie. *Z Kardiol 1982; 71: 509-516*

138 **Packer M**, Bristow MR, Cohn JN, Colucci WS, Fowler MB, Gilbert EM, Shusterman NH for the US Carvedilol Heart Failure Study Group. The effect of carvedilol on morbidity and mortality in patients with chronic heart failure. *N Engl J Med 1996; 334: 1349-1355*

139 **Packer M,** O'Connor CM, Ghali JK, Pressler ML, Carson PE, Belkin RN, Miller AB, Neuberg GW, Frid D, Wertheimer JH, Cropp AB, DeMets D. Effect of amlodipine on morbidity and mortality in severe chronic heart failure. *N Engl J Med 1996; 335. 1107-1114*

140 **Packer M.** Carvedilol Prospective Randomized Cumulative Survival (COPERNICUS) trial results. *Vorgestellt auf dem XXII Congress of the European Society of Cardiology; 29. August 2000, Amsterdam, Niederlande*

141 **Parfitt AM,** Simon LS, Villanueva AR, Krane SM. Procollagen type I carboxyterminal extension peptide in serum as a marker of collagen biosynthesis in bone. Correlation with iliac bone formation rates and comparison with total alkaline phosphatase. *J Bone Miner Res 1987; 2: 427-436*

142 **Parmley WW.** Pathophysiology of congestive heart failure. *Am J Cardiol 1985; 56: 7A-11A*

143 **Pauschinger M,** Doerner A, Remppis A, Tannhauser R, Kuhl U, Schultheiss HP. Differential myocardial abundance of collagen type I and type III mRNA in dilated cardiomyopathy: effects of myocardial inflammation. *Cardiovasc Res 1998; 37 (1): 123-129*

144 **Pauschinger M**, Knopf D, Petschauer S, Doerner A, Poller W, Schwimmbeck PL, Kühl U, Schultheiss HP. Dilated Cardiomyopathy Is Associated With Significant Changes in Collagen Type I/III ratio. *Circulation 1999; 99: 2750-2756*

145 **Pinamonti B,** Di Lenarda A, Sinagra G, Camerini F. Restrictive left ventricular filling pattern in dilated cardiomyopathy assessed by doppler echocardiography: Clinical echocardiography and hemodynamic correlations and prognostic implications. *J Am coll Cardiol 1993; 22: 808-815*

146 **Pitt B,** Poole-Wilson PA, Segal R, Martinez FA, Dickstein K, Camm AJ, Konstam MA, Riegger G, Klinger GH, Neaton J, Sharma D, Thiyagarajan B on behalf of the ELITE II

investigators. Effect of losartan compared with captopril on mortality in patients with symptomatic heart failure: randomized trial – the Losartan Heart Failure Survival Study ELITE II. *Lancet 2000; 355: 1582-1587*

147 **Pitt B**, Segal R, Martinze FA, Meurers G, Cowley A, Thomas I, Deedwania PC, Ney DE, Snavely DB, Chang PI. Randomised trial of losartan versus captopril in patients over 65 with failure (Evaluation of Losartan in Elderly Study, ELITE). *Lancet 1997; 349. 747-752*

148 **Pitt B,** Zannad F, Remme WJ, Cody R, Castaigne A, Perez A, Palensy J, Wittes J. The effect of spironolacton on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. *N Engl J Med 1999; 341: 707-717*

149 **Poole-Wilson PA.** Relation of pathophysiological mechanisms to outcome in heart failure. *J Am Coll Cardiol 1993; 22: 22A-29A*

150 **Puistola U,** Risteli L, Kauppila A, Knip M, Risteli J. Markers of type I and type III collagen synthesis in serum as indicators of tissue growth during pregnancy. *J Clin Endocrinol Metab 1993; 77: 178-182*

151 **Raynolds MV**, Brtistow MR, Bush EW, et al. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet 1993; 342: 1073-5*

152 **Remes J,** Helin M, Vaino P, Rautio P. Clinical outcome and left ventricular function 23 years after acute coxsackie virus myopericarditis. *Eur Heart J 1990; 11(2): 182-8*

153 **Report of the 1995 WHO/ISFC task force** on the definition and classification of cardiomyopathies, *ISFC/WHO Task Force Meeting in Genf 1995*

154 **Report of the WHO/ISFC task force** on the definition and classification of cardiomyopathies. *Br Heart J 1980; 44: 673-3*

155 **Ricard-Blum S,** Chossegros P, Guerret S, et al. The carboxy-terminal cross-linked telopeptide of type I collagen (ICTP) is a potential serum marker of ongoing liver fibrosis. *Clin Chim Acta 1996; 248: 187-195*

156 **Richardson D**, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connel J, Olsen E, Thiere G, Goodwin J, Gyarfas J, Martin I, Nordet P. WHO/ISFC Task Force definition and classification of cardiomyopathies. *Circulation 1996; 93:841-842*

157 **Ries C**, Petrides PE. Cytokine regulation of matrix metalloproteinase activity and its regulatory dysfunction in disease. *Biol Chem 1995; 376: 345-355*

158 **Risteli L,** Elomaa I, Niemi S et al. Serum concentration of the cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen: a new serum marker of bone collagen degradation. *Clin Chem 1993; 39: 635-640*

159 **Risteli L.** Assay of collagen metabolism. *Orion Diagnostica, Helsinki, 1993*

160 **Roberts WC**, Siegel RJ, McManus BM. Idiopathic dilated cardiomyopathy: analysis of

152 necropsy patients. *Am J Cardiol 1987; 60: 1340-1355*

161 **Robinson TF,** Cohen-Gould L, Factor SM. Skeletal framework of mammalian heart muscle: Arrangement of inter- and pericellular connective tissue structures. *Lab Invest 1983; 49(4): 482-498*

162 **Rouet-Benzineb P,** Buhler JM, Dreyfus P, Delcourt A, Dorent R, Perennec J, Crozatier B, Harf A, Lafuma Ch. Altered balance between matrix gelatinases (MMP-2 and MMP-9) and their tissue inhibitors in human dilated cardiomyopathy: potential role of MMP-9 in myosin-heavy chain degradation. *Eur J Heart Fail 1999; 1(4): 337-352*

163 **Schannwell CM,** Schoebel FC, Marx R, Plehn G, Leschke M, Strauer BE. Prognostische Relevanz linksventrikulärer diastolischer Funktionsparameter bei dilatativer Kardiomyopathie. *Z Kardiol 2001; 90: 269-279*

164 **Schultheiss HP**, Kühl U. Erkrankungen des Myokards. In: *Gross, Schölmerich, Gerok – Die Innere Medizin, herausgegeben von: Gerok W, Huber C, Meinertz T, Zeidler H, 10. Auflage, Schattauer, Stuttgart, New York 2000, S. 325-360*

165 **Schwartzkopff B**, Frenzel H, Breithardt G, Deckert M, Lösse B, Toyka K, Borgrefe M, Hort W. Ultrastructural findings in endomyocardial biopsy of patients with Kearns-Sayre syndrome. *J Am Coll Cardiol 1988; 12: 1555-1558*

166 **Schwartzkopff B**, Klein RM, Strauer BE. Diagnose und Therapie der Myokarditis. *Internist 1995; 36 (5): 469-83.*

167 **Schwarz F,** Mall G, Zebe H, Blickle J, et al. Quantitative morphologic findings of the myocardium in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol 1983; 51: 501-550*

168 **Schwarz F,** Mall G, Zebe H, Schmitzer E, Manthey J, Scheurlen H, Kübler W. Determinants of survival in patients with congestive cardiomyopathy: quantitative morphologic findings and left ventricular hemodynamics. *Circ. 1984; 70 (6): 923-928*

169 **Senzaki H,** Paolocci N, Gluzband YA, Lindsey ML, Janicki JS, Crow MT, Kass DA. Beta-Blockade preventes sustained metalloproteinase activation and diastolic stiffening induced by angiotensin II combined with evolving cardiac dysfunction. *Circ Res 2000; 86(7): 807*

170 **Seward JB,** Tajik AJ. Primary cardiomyopathies: classification, pathophysiology, clinical recognition and management. *Cardiovasc Clin 1980; 10: 199-230*

171 **Shioi T,** Matsumori A, Kihara Y, Inoko M, Ono K, Iwanaga Y, Yamada T, Iwasaki A, Matsushima K, Sasayama S. Increased expression of interleukin-1β and monocyte chemotactic and activating factor/monocyte chemoattractant protein-1 in the hypertrophied and failing heart with pressure overload. *Circ Res 1997; 81: 664-671*

172 **Sigmund M**, Hanrath P. Betarezeptorenblocker bei chronischer Herzinsuffizienz. *Z Kardiol 1995; 84: 820-826*

173 **Singer CF,** Marbaix E, Kokorine I, Lemoine P, Donnez J, Eeckhout Y, Courtoy PJ. The

matrix metalloproteinas-1 (MMP-1) expression in the human endometrium is inversely regulated by interleukin-1 alpha and sex steroids. *Ceska Gynekol 2000; 65(4): 211-15*

174 **Siwik DA,** Chang DLF, Colucci WS. Interleukin-1β and Tumor Necrosis Factor-α and Increase Matrix Metalloproteinase Acitivity in Cardiac Fibroblasts In Vitro. *Circ Res 2000; 86: 1259-1265*

175 **Smith WG.** Coxsackie B myopericarditis in adults. *Am Heart J 1970; 80(1): 34-46*

176 **Soumalainen A**, Paetau A, Leinonen H, Majander A, Peltonen L, Somer H. Inherited idiopathic dilated cardiomyopathy with multiple deletions of mitochondrial DNA. *Lancet 1992; 340: 1319-20*

177 **Spinale FG**, Coker ML, Bond BR, Zellner JL. Myocardial matrix degradation and metalloproteinase activation in the failing heart: a potential therapeutic target. Review. *Cardiovasc Res 2000; 46: 225-238*

178 **Spinale FG,** Coker ML, Heung LJ, Bond BR, Gunasinghe HR, Etoh T, Goldberg AT, Zellner JL, Crumbley AJ. A Matrix Metalloproteinase Induction/Activation System Exists in the Human Left Ventricular Myocardium and Is Upregulated in Heart Failure. *Circulation 2000; 102: 1944-1949*

179 **Spinale FG**, Coker ML, Krombach SR, Mukherjee R, Hallak H, Houck WV, Clair MJ, Kribbs SB, Johnson LL, Peterson JT, Zile MR. Matrix Metalloproteinase Inhibition During the Development of Congestive Heart Failure. *Circ Res 1999; 85: 364-376*

180 **Spinale FG,** Coker ML, Thomas CV, Walker JD, Mukherjee R, Hebbar L. Time-dependent changes in matrix metalloproteinase activity and expression during the progression of congestive heart failure: relation to ventricular and myocyte function. *Circ Res 1998; 82: 482-495*

181 **Spinale FG,** Tomita M, Zellner JL, Cook JC, Crawford FA, Zile MR. Collagen remodeling and changes in LV function during the development and recovery from supraventricular tachycardia. *Am J Physiol 1991; 261: H308-H318*

182 **Stetler-Stevenson WG.** Dynamics of matrix turnover during pathologic remodeling of the extracellular matrix. *Am J Pathol 1996; 148: 1345-1350*

183 **Stevenson WG,** Tillisch JH, Hamilton MA, Lau M, Chelimsky-Follick C, Moriguchi J, Walden J. Importance of hemodynamic response to therapy in predicting survival with ejection fraction ≤ 20% secondary to ischemic or nonischemic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol 1990; 66: 1348-1354*

184 **Strauer BE**, Kandolf R, Mall G, Maisch B, Mertens T, Schwartzkopff B, Schultheiß HP. Konsensus-Bericht Myokarditis-Kardiomyopathie. *Med Klin 1994; 89: 23-38 (Suppl. I)*

185 **Thaik CM,** Calderone A, Takahashi N, Colucci WS. Interleukin-1β modulates the growth and phenotype of neonatal rat cardiac myocytes. *J Clin Invest 1995; 96: 1093-1099*

186 **The Captopril-Digoxin Multicenter Research Group**. Comparative effects of therapy with captopril and digoxin in patients with mild to moderate heart failure. *JAMA 1988; 259(4): 539-544*

187 **The Consensus Trial Study Group**. Effects of enalapril on mortality in severe congestive heart failure. *N Engl J Med 1987; 316: 1429-1435*

188 **The Digitalis Investigation Group**. The effect of digitoxin on mortality and morbidity in patients with heart failure. *N Engl J Med 1997; 336: 525-533*

189 **The SOLVD Investigators**. Effect of enalapril on survival in patients with reduced left ventricular ejection fractions and congestive heart failure. *N Engl J Med 1991; 325: 293-302*

190 **The Task Force of the Working Group on Heart Failure** of the European Society of Cardiology. The treatment of heart failure. *Eur Heart J 1997; 18: 736-753*

191 **Thomas CV**, Coker ML, Zellner JL, Handy JR, Crumbley III AJ, Spinale FG. Increased Matrix Metalloproteinase Activity and Selective Upregulation in LV Myocardium From Patients With End-Stage Dilated Cardiomyopathy. *Circulation 1998; 97: 1708-1715*

192 **Tokita A,** Kelly PJ, Nguyen TV, Qi JC, Morrison NA, Risteli L, Risteli J, Sambrook PN, Eisman JA. Genetic Influences on Type I Collagen Synthesis and Degradation: Further Evidence for Genetic Regulation of Bone Turnover. *J Clin Endocrinol Metab 1994; 78:1461-1466*

193 **Tomita M,** Spinale FG, Crawford FA, Zile MR. Changes in left ventricular volume, mass and function during the development and regression of supraventricular tachycardia induced cardiomyopathy: disparity between recovery of systolic versus diastolic function. *Circulation 1991; 83: 635-644*

194 **Torre-Amione G,** Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL. 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: 1201-1206*

195 **Towbin JA**, Hejtmancik JF, Brink P, Gelb B, Zhu XM, Chamberlain JS, McCabe ERB, Swift M. X-linked dilated cardiomyopathy: molecular generic evidence of linkage to the Duchenne muscular dystrophy (dystrophin) gene at the Xp21 locus. *Circulation 1993; 87: 1854-1865*

196 **Trinchet JC,** Hartmann DJ, Paterson D, et al. Serum type I collagen and N-terminal peptide of type III procollagen in chronic hepatitis. *J Hepatol 1991; 12: 139-144*

197 **Trivedi P,** Risteli J, Risteli L, Hindmarsh PC, Brook CGD, Mowat AP. Serum concentrations of the type I and III procollagen propeptides as biochemical markers of growth velocity in infants and children and in children with growth disorders. *Pediatr Res 1991; 30: 276-280*

198 **Tyagi SC**, Campbell SE, Reddy HK, Tjahja E, Voelker DJ. Matrix metalloproteinase activity expression in infarcted, noninfarcted and dilated cardiomyopathic human hearts. *Mol Cell Biochem 1996; 155: 13-21*

199 **Tyagi SC**, Kumar S, Voelker DJ, Reddy HK, Janicki JS, Curtis JJ. Differential Gene Expression of Extracellular Matrix Components in Dilated Cardiomyopathy. *J Cell Biochem 1996; 63: 185-198*

200 **Tyagi SC**, Kumar SG, Banks J, Fortson W. Co-expression of tissue inhibitor and matrix metalloproteinase in myocardium. *J Mol Cell Cardiol 1995; 27 (10): 2177-2189*

201 **Tyagi SC,** Kumar SG, Haas SJ, Reddy HK, Voelker DJ, Hayden MR, Demmy TL, Schmaltz RA, Curtis JJ. Post-transcriptional Regulation of Extracellular Matrix Metalloproteinase in Human End-stage Failure Secondary to Ischemic Cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol 1996; 28: 1415-1428*

202 **Tyagi SC**, Lewis K, Pikes D, Marcello A, Mujumdar VS, Smiley LM, Moore CK. Stretch-induced membrane type matrix metalloproteinases and tissue plasminogen activator in cardiac fibroblast cells. *J Cell Physiol 1998; 176(2): 374-382*

203 **Waagstein F**, Bristow MR, Swedberg K, Camerini F, Fowler MB, Silver MA, Gilbert EM, Johnson MR, Goss FG, Hjalmarson A for the Metoprolol in Dilated Cardiomyopathy (MDC) Trial Study Group. Beneficial effects of metoprolol in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Lancet 1993; 342: 1441-1446*

204 **Weber KT,** Anversa P, Armstrong PW, Brilla CG, Burnett JC, Cruickshank JM, Devereux RB, Giles TD, Korsgaard N, Leier CV, Mendelsohn FAO, Motz WH, Mulvany MJ, Strauer BE. Remodeling and reparation of the cardiovascular system. *J Am Coll Cardiol 1992; 20: 3-16*

205 **Weber KT,** Brilla CG. Pathological hypertrophy and cardiac interstitium: fibrosis and renin-angiotensin-aldosterone system. *Circulation 1991; 83:1849-1865*

206 **Weber KT,** Janicki JS, Pick R, Abrahams C, Shroff SG, Bashey RI, Chen RM. Collagen in the hypertrophied, pressure-overloaded myocardium. *Circulation 1987; 75(1 Pt 2): I40-7*

207 **Weber KT**, Pick R, Janicki JS, Gododia G, Lakier JB. Inadequate collagen tethers in dilated cardiomyopathy. *Am Heart J 1988; 116 (6): 1641-1646*

208 **Weber KT**, Pick R, Silver MA, Moe GW, Janicki JS, Zucker IH, Armstrong PW. Fibrillar Collagen and Remodeling of Dilated Canine Left Ventricle. *Circulation 1990; 82: 1387-1401*

209 **Werner GS,** Schaefer C, Dirks R, Figulla HR. Clinical and prognostic implications of left ventricular filling abnormalities in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation 1992; 86: Suppl I: 446*

210 **Woessner JF Jr**.. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in connective tissue

remodeling. *FASEB J 1991; 5: 2145-2154*

211 **Woessner JF**. The Family of Matrix metalloproteinases. *Ann N Y Acad Sci 1994; 732: 11-21*

212 **Yamazaki T,** Lee JD, Shimizu H, Ueda T. Circulating Matrixmetalloproteinase in Patients with Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol 2000; 35 (2) Suppl A: 165*

213 **Yokohama T,** Nakano M, Bednarczyk JL, McIntyre BW, Entman M, Mann DL. Tumor necrosis factor-α provokes a hypertrophic growth response in adult cardiac myocytes. *Circulation 1997; 95: 1247-1252*

214 **Yokoseki O,** Yazaki Y, Imamura H, Takenaka H, Isobe M. Association of matrix metalloproteinase expression and left ventricular function in idiopathic dilated cardiomyopathy. *Jpn Circ J 2000; 64(5): 352-357*

215 **Yokoyama T,** Vaca L, Rossen RD, Durante W, Hazarika P, Mann DL. Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor-α in the adult mammalian heart. *J Clin Invest 1993; 92: 2303-2312*

216 **Yoshikane H,** Honda M, GotoY, Morioka S, Ooshima A, Moriyama K. Collagen in dilated cardiomyopathy: scanning electron microscopic and immunohistochemical observations. *Jpn Circ J 1992; 56: 899-910*

217 **Yoshizato T**, Edwards WD Alboliras ET, Hagler DJ, Driscoll DJ. Safety and Utility of Endomyocardial Biopsy in Infants, Children and Adolescents: A Review of 66 Procedures in 53 Patients. *J Am Coll Cardiol 1990; 15:436-42*

218 **Zhu GG,** Risteli J, Puistola U, Kauppila A, Risteli L. Progressive ovarian carcinoma induces synthesis of type I and type III procollagens in the tumor tissue and peritoneal cavity. *Cancer Res 1993; 53(20): 5028-32*

6 Anhang

6.1 Rohdaten (Tabellarisch)

ID	Gruppe	Alter [Jahre]	Geschlecht	ICTP	PICP	TIMP-1 ges.	TIMP-1 frei	MMP-1 ges.	MMP-1 frei
KR30	Kontrolle	63	männlich	3,896	102,765	136,600	136,600	4,250	4,250
KR35	Kontrolle	61	männlich	3,141	110,508	224,800	224,323	4,949	4,472
KR37	Kontrolle	63	männlich	3,188	66,628	157,300	157,300	3,774	3,774
KR38	Kontrolle	54	weiblich	3,468	53,415	169,100	168,797	3,387	3,084
KR40	Kontrolle	80	weiblich	6,559	68,890	138,100	138,100	0,000	0,000
KR41	Kontrolle	78	weiblich	4,252	70,682	248,600	248,380	1,602	1,382
KR47	Kontrolle	61	weiblich	4,982	63,680	181,900	181,609	2,320	2,029
KR48	Kontrolle	54	weiblich	4,246	73,296	157,500	157,500	2,493	2,493
KR50	Kontrolle	77	männlich	5,752	91,221	204,700	204,523	0,680	0,503
KR79	Kontrolle	61	weiblich	4,133	83,937	256,900	256,900	2,231	2,231
KR80	Kontrolle	65	männlich	2,967	114,343	181,200	181,200	0,829	0,829
KR82	Kontrolle	72	männlich	5,888	90,350	170,700	170,322	2,948	2,570
KR84	Kontrolle	73	weiblich	7,142	102,433	410,200	409,467	3,204	2,471
K BS	Kontrolle	41	männlich	2,900	120,000	279,770	279,535	6,260	6,025
K MM	Kontrolle	32	männlich	3,000	81,000	142,208	142,208	4,780	4,780
K HDF	Kontrolle	60	männlich	6,400	137,000	232,098	232,098	7,585	7,585
K T	Kontrolle	35	weiblich	3,000	112,000	199,980	199,980	2,595	2,595
K AS	Kontrolle	54	männlich	3,400	126,000	245,127	239,507	14,055	8,435
K ML	Kontrolle	52	männlich	6,300	72,000	249,167	249,167	3,255	3,255
K SV	Kontrolle	51	weiblich	2,858	154,667	98,197	97,965	2,062	1,830
KB04	Kontrolle	44	weiblich	2,735	106,507	184,458	184,458	0,032	0,032
KB08	Kontrolle	31	weiblich	1,559	113,673	162,401	162,304	0,749	0,652
KB09	Kontrolle	31	weiblich	2,102	84,046	177,601	177,601	3,626	3,626
KB15	Kontrolle	48	weiblich	2,439	120,508	184,181	184,069	2,338	2,226
KB18	Kontrolle	38	weiblich	1,687	114,652	139,546	138,864	0,150	0,000
KB29	Kontrolle	58	weiblich	2,416	95,492	185,000	184,859	3,049	2,908
KB33	Kontrolle	28	weiblich	4,016	59,311	153,712	153,712	0,517	0,517
KB40	Kontrolle	43	weiblich	3,196	158,443	120,656	120,656	0,007	0,007
KB44	Kontrolle	22	weiblich	4,626	112,786	77,594	77,594	0,536	0,536
K TL	Kontrolle	24	männlich	3,090	151,171	81,798	81,798	0,000	0,000
KB01	Kontrolle	45	männlich	3,593	123,120	228,159	228,042	,	,
KB02	Kontrolle	55	männlich	2,162	90,595	185,595	185,595	0,688	0,688
KB03	Kontrolle	34	männlich	2,968	227,667	159,794	159,794	2,175	2,175
KB05	Kontrolle	54	männlich	2,713	158,969	147,751	147,751	0,000	0,000
KB07	Kontrolle	29	männlich	2,335	146,076	139,721	139,721	0,870	0,870
KB14	Kontrolle	67	männlich	2,294	100,680	176,305	176,290	1,232	1,217
KB20	Kontrolle	38	männlich	2,693	175,002	153,680	153,680	3,036	3,036
KB23	Kontrolle	67	männlich	3,007	151,347	201,822	201,753	4,494	4,425
KB25	Kontrolle	58	männlich	2,462	92,031	297,795	297,795	0,686	0,686
KB30	Kontrolle	62	männlich	2,973	81,102	143,063	143,063	0,999	0,999
KB32	Kontrolle	40	männlich	2,808	136,600	195,060	194,691	4,076	3,707
KB34	Kontrolle	48	männlich	2,561	114,950	120,622	120,525	2,785	2,688
KB37	Kontrolle	39	männlich	2,686	147,714	190,934	190,364	,	,
KB38	Kontrolle	47	männlich	2,713	165,347	147,751	147,751	0,930	0,930
KB41	Kontrolle	61	männlich	1,842	96,290	215,685	215,685	0,927	0,927
KB47	Kontrolle	38	männlich	3,425	199,612	161,286	161,286	0,374	0,374

ID	MMP-1/TIMP-1-Ratio	Komplex	MMP-3	MMP-9 akt.	MMP-9 ges.
KR30	0,028	0,000	55,360	47,890	271,100
KR35	0,020	0,477	,	,	,
KR37	0,022	0,000	,	,	,
KR38	0,018	0,303	,	,	,
KR40	0,000	0,000	47,880	138,800	180,200
KR41	0,006	0,220	33,670	556,400	159,500
KR47	0,011	0,291	,	,	,
KR48	0,006	0,016	,	,	,
KR50	0,003	0,177	86,730	85,090	250,500
KR79	0,009	0,000	,	,	,
KR80	0,005	0,000	60,180	101,600	31,350
KR82	0,015	0,378	,	,	,
KR84	0,006	0,733	,	,	,
K BS	0,022	0,235	,	,	,
K MM	0,034	0,000	,	,	,
K HDF	0,033	0,000	,	,	,
K T	0,013	0,000	,	,	,
K AS	0,035	5,620	,	,	,
K ML	0,013	0,000	,	,	,
K SV	0,019	0,232	60,140	217,400	176,000
KB04	0,012	0,000	,	,	,
KB08	0,004	0,097	,	,	,
KB09	0,020	0,000	,	,	,
KB15	0,012	0,112	,	,	,
KB18	0,000	0,682	47,880	134,700	203,500
KB29	0,016	0,141	,	,	,
KB33	0,003	0,000	,	,	,
KB40	0,000	0,000	,	,	,
KB44	0,007	0,000	,	,	,
K TL	0,000	0,000	44,860	155,400	68,560
KB01	,	0,117	,	,	,
KB02	0,004	0,000	,	,	,
KB03	0,014	0,000	,	,	,
KB05	0,000	0,000	150,000	93,360	109,900
KB07	0,006	0,000	25,610	411,700	85,090
KB14	0,007	0,015	,	,	,
KB20	0,020	0,000	,	,	,
KB23	0,022	0,069	,	,	,
KB25	0,002	0,000	,	,	,
KB30	0,007	0,000	,	,	,
KB32	0,019	0,369	,	,	,
KB34	0,022	0,097	,	,	,
KB37	,	0,570	,	,	,
KB38	0,006	0,000	,	,	,
KB41	0,004	0,000	,	,	,
KB47	0,002	0,000	,	,	,

ID	EF [%]	LVEDD [mm]	LVEDD [cm/m² KOF]	PC-Druck [mm Hg]	NYHA	CI [l/min/m²]
KR30 KR35 KR37 KR38 KR40						
KR41 KR47 KR48 KR50 KR79						
KR80 KR82 KR84 K BS K MM						
K HDF K T K AS K ML K SV						
KB04 KB08 KB09 KB15 KB18						
KB29 KB33 KB40 KB44 K TL						
KB01 KB02 KB03 KB05 KB07						
KB14 KB20 KB23 KB25 KB30						
KB32 KB34 KB37 KB38 KB41						
KB47						

ID	Gruppe	Alter [Jahre]	Geschlecht	ICTP	PICP	TIMP-1 ges.	TIMP-1 frei	MMP-1 ges.	MMP-1 frei
KB48	Kontrolle	37	männlich	3,158	97,635	122,395	122,395	1,957	1,957
HK	Patient	56	männlich	2,886	142,510	176,500	176,147	2,993	2,640
SN	Patient	64	männlich	5,739	103,322	150,400	150,144	1,874	1,618
NÖ	Patient	49	weiblich	3,413	51,328	166,100	163,844	8,877	6,621
KZ	Patient	61	männlich	14,100	177,000	300,788	297,898	8,520	5,630
HP	Patient	56	männlich	6,644	139,214	259,400	257,309	15,280	13,189
WH	Patient	60	männlich	3,220	87,348	70,970	70,970	0,000	0,000
WM	Patient	81	männlich	4,482	154,284	239,500	237,437	12,450	10,387
VS	Patient	60	männlich	3,900	158,000	207,700	207,700	1,651	1,651
HH	Patient	83	männlich	9,283	158,475	248,000	245,468	17,470	14,938
FK	Patient	59	männlich	10,900	238,000	342,400	341,918	4,827	4,345
PG	Patient	56	männlich	48,090	354,708	347,400	346,054	7,358	6,012
MB	Patient	51	männlich	10,257	240,651	237,300	236,289	17,960	16,949
FRR	Patient	53	männlich	3,543	96,876	270,500	269,769	15,700	14,969
GSCH	Patient	56	männlich	6,634	114,654	112,900	112,900	0,368	0,368
HJL	Patient	43	männlich	6,401	70,929	160,900	160,900	0,878	0,878
EJ	Patient	54	männlich	2,948	160,718	205,200	204,809	2,069	1,678
MW	Patient	32	männlich	4,183	78,035	180,600	180,600	0,260	0,260
GB	Patient	64	männlich	6,800	89,000	180,200	179,876	9,492	9,168
WVH	Patient	55	männlich	2,621	73,546	65,220	65,220	0,167	0,167
JW	Patient	59	männlich	6,294	108,027	170,600	170,274	0,073	0,000
FSCH	Patient	31	männlich	5,169	96,653	105,900	105,900	0,337	0,337
DL	Patient	56	männlich	5,237	164,026	262,600	262,279	4,831	4,510
KH	Patient	60	männlich	3,916	138,291	184,300	183,464	5,976	5,140
KHH	Patient	60	männlich	4,346	82,021	93,690	93,690	5,976	5,976
KK	Patient	34	weiblich	9,408	83,391	247,600	247,274	0,728	0,402
CC	Patient	56	männlich	2,013	94,884	0,000	0,000	0,615	0,615
JM	Patient	57	männlich	18,200	198,000	374,900	371,972	26,830	23,902
KM	Patient	48	männlich	4,210	97,908	233,600	233,018	5,904	5,322
MF	Patient	37	männlich	6,700	150,000	382,700	381,336	5,832	4,468
GP	Patient	60	männlich	2,349	182,607	195,900	195,403	1,295	0,798
FB	Patient	31	weiblich	27,919	100,671	156,800	156,468	0,000	0,000
WG	Patient	66	männlich	6,162	92,666	326,800	325,909	5,383	4,492
ME	Patient	62	weiblich	4,250	137,166	303,300	302,909	6,446	6,055
KG	Patient	65	männlich	7,200	153,000	315,700	315,700	2,193	2,193
RO	Patient	61	männlich	5,700	85,000	230,900	230,374	12,080	11,554
DSCH	Patient	57	männlich	5,630	110,891	218,000	217,400	4,770	4,170
GD	Patient	68	männlich	5,247	80,642	189,800	189,490	7,916	7,606
HN	Patient	70	männlich	4,510	83,289	227,900	226,297	11,340	9,737
CT	Patient	51	männlich	2,372	98,884	104,600	104,600	0,198	0,198
EG	Patient	68	männlich	13,282	106,519	250,900	250,375	6,749	6,224
WM	Patient	39	männlich	5,806	76,024	216,400	216,041	3,902	3,543
RB	Patient	44	männlich	11,600	203,000	160,100	158,969	3,038	1,907
CHB	Patient	65	weiblich	4,134	90,323	240,600	239,969	7,574	6,943

ID	MMP-1/TIMP-1-Ratio	Komplex	MMP-3	MMP-9 akt.	MMP-9 ges.
KB48	0,016	0,000	,	,	,
HK	0,015	0,353	,	,	,
SN	0,011	0,256	,	,	,
NÖ	0,040	2,256	,	,	,
KZ	0,019	2,890	,	,	,
HP	0,051	2,091	,	,	,
WH	0,000	0,000	,	,	,
WM	0,044	2,063	123,900	27,220	213,200
VS	0,008	0,000	75,840	97,490	126,400
HH	0,061	2,532	117,600	221,500	448,900
FK	0,013	0,482	,	,	,
PG	0,177	1,346	,	,	,
MB	0,072	1,011	,	,	,
FRR	0,055	0,731	141,100	43,750	378,500
GSCH	0,003	0,000	,	,	,
HJL	0,005	0,000	,	,	,
EJ	0,008	0,391	,	,	,
MW	0,013	0,000	,	,	,
GB	0,050	0,324	,	,	,
WVH	0,003	0,000	,	,	,
JW	0,000	0,326	,	,	,
FSCH	0,003	0,000	,	,	,
DL	0,017	0,321	,	,	,
KH	0,028	0,836	,	,	,
KHH	0,064	0,000	,	,	,
KK	0,002	0,326	,	,	,
CC	,	0,000	,	,	,
JM	0,064	2,928	,	,	,
KM	0,023	0,582	,	,	,
MF	0,009	1,364	,	,	,
GP	0,004	0,497	,	,	,
FB	0,000	0,332	,	,	,
WG	0,014	0,891	34,830	138,800	242,200
ME	0,020	0,391	,	,	,
KG	0,007	0,000	,	,	,
RO	0,050	0,526	,	,	,
DSCH	0,019	0,600	,	,	,
GD	0,040	0,310	27,870	171,900	659,700
HN	0,043	1,603	52,130	539,800	176,000
CT	0,002	0,000	51,550	72,690	258,700
EG	0,025	0,525	,	,	,
WM	0,016	0,359	41,280	14,810	209,100
RB	0,101	1,131	,	,	,
CHB	0,029	0,631	80,950	167,800	167,800

ID	EF [%]	LVEDD [mm]	LVEDD [cm/m² KOF]	PC-Druck [mm Hg]	NYHA	CI [l/min/m²]
KB48						
HK	25,00	57	2,923	,	3,00	1,10
SN	,	63	2,972	,	3,00	,
NÖ	,	56	3,060	,	3,00	,
KZ	43,49	68	3,223	,	,	,
HP	,	60	3,243	,	2,00	,
WH	44,60	70	3,333	,	1,00	,
WM	,	70	3,590	,	2,00	,
VS	29,45	75	3,886	,	3,00	,
HH	,	80	3,922	,	3,00	,
FK	27,75	81	4,112	20,00	,	4,00
PG	45,00	75	4,120	,	2,00	,
MB	,	80	4,324	,	4,00	,
FRR	44,80	62	2,995	10,00	2,00	4,00
GSCH	24,00	60	3,261	5,50	3,00	2,30
HJL	22,40	76	3,333	7,00	3,00	2,20
EJ	,	60	3,020	11,00	1,00	3,40
MW	34,10	84	3,621	12,00	3,00	3,60
GB	26,05	82	3,868	5,00	,	1,27
WVH	,	62	2,900	38,00	4,00	1,90
JW	34,86	61	2,905	16,00	,	4,25
FSCH	34,30	58	2,944	24,00	2,00	3,90
DL	33,04	60	2,985	43,00	,	3,79
KH	31,00	65	3,023	16,00	,	2,20
KHH	31,00	65	3,023	16,00	,	2,20
KK	30,00	59	3,122	32,00	3,00	,
CC	45,00	60	3,158	36,00	2,00	2,70
JM	23,42	68	3,163	28,00	3,00	2,60
KM	,	80	3,187	40,00	3,00	1,90
MF	35,43	70	3,196	26,00	2,00	2,00
GP	15,36	65	3,250	28,00	,	1,92
FB	44,90	55	3,416	13,00	2,00	3,70
WG	42,00	60	2,913	24,00	3,00	2,30
ME	43,10	60	3,509	24,00	,	2,50
KG	23,00	65	3,591	27,00	2,00	3,70
RO	43,92	64	3,596	13,00	,	1,90
DSCH	28,00	74	3,610	22,00	2,00	2,10
GD	29,90	68	3,820	20,00	3,00	,
HN	27,00	66	3,905	46,00	2,00	1,40
CT	11,80	90	3,965	45,00	2,00	2,20
EG	39,02	72	4,091	24,00	3,00	1,90
WM	19,60	84	4,118	42,00	4,00	,
RB	21,45	75	4,121	14,00	,	2,20
CHB	15,39	80	4,624	36,00	,	1,50

6.2 Rohdaten der Follow-up-Untersuchung (Tabellarisch)

ID	Alter [Jahre]	Geschlecht	ICTP	PICP	TIMP-1 ges.	TIMP-1 frei	MMP-1 ges.	MMP-1 frei
NÖ	49	weiblich	3,413	51,328	166,100	163,844	8,877	6,621
HP	56	männlich	6,644	139,214	259,400	257,309	15,280	13,189
FSCH	31	männlich	5,169	96,653	105,900	105,900	0,337	0,337
GSCH	56	männlich	6,634	114,654	112,900	112,900	0,368	0,368
JW	59	männlich	6,294	108,027	170,600	170,274	0,073	0,000
GD	68	männlich	5,247	80,642	189,800	189,490	7,916	7,606
ME	62	weiblich	4,250	137,166	303,300	302,909	6,446	6,055
WG	66	männlich	6,162	92,666	326,800	325,909	5,383	4,492
DL	56	männlich	5,237	164,026	262,600	262,279	4,831	4,510
SN	64	männlich	5,739	103,322	150,400	150,144	1,874	1,618
FRR	53	männlich	3,543	96,876	270,500	269,769	15,700	14,969
DSCH	57	männlich	5,630	110,891	218,000	217,400	4,770	4,170
CT	51	männlich	2,372	98,884	104,600	104,600	0,198	0,198
WVH	55	männlich	2,621	73,546	65,220	65,220	0,167	0,167
FB	31	weiblich	27,919	100,671	156,800	156,468	0,000	0,000
RB	44	männlich	11,600	203,000	160,100	158,969	3,038	1,907
WH	60	männlich	3,220	87,348	70,970	70,970	0,000	0,000
EJ	54	männlich	2,948	160,718	205,200	204,809	2,069	1,678
KK	34	weiblich	9,408	83,391	247,600	247,274	0,728	0,402
HJL	43	männlich	6,401	70,929	160,900	160,900	0,878	0,878
WM	81	männlich	4,482	154,284	239,500	237,437	12,450	10,387
HN	70	männlich	4,510	83,289	227,900	226,297	11,340	9,737
WM	39	männlich	5,806	76,024	216,400	216,041	3,902	3,543
EG	68	männlich	13,282	106,519	250,900	250,375	6,749	6,224
CHB	65	weiblich	4,134	90,323	240,600	239,969	7,574	6,943
KM	48	männlich	4,210	97,908	233,600	233,018	5,904	5,322
MF	37	männlich	6,700	150,000	382,700	381,336	5,832	4,468
KG	65	männlich	7,200	153,000	315,700	315,700	2,693	2,693
HH	83	männlich	9,283	158,475	248,000	245,468	17,470	14,938
FK	59	männlich	10,900	238,000	342,400	341,918	4,827	4,345
PG	56	männlich	48,090	354,708	347,400	346,054	7,358	6,012
HK	56	männlich	2,886	142,510	176,500	176,147	2,993	2,640
GP	60	männlich	2,349	182,607	195,900	195,403	1,295	0,798
JM	57	männlich	18,200	198,000	374,900	371,972	26,830	23,902
RO	61	männlich	5,700	85,000	230,900	230,374	12,080	11,554
VS	60	männlich	3,900	158,000	207,700	207,700	1,651	1,651
KZ	61	männlich	14,100	177,000	300,788	297,898	8,520	5,630
CC	56	männlich	2,013	94,884	0,000	0,000	0,615	0,615
KH	60	männlich	3,916	138,291	184,300	183,464	5,976	5,140

ID	MMP-1/ TIMP-1-Ratio	Komplex	EF [%]	LVEDD [mm]	LVEDD [cm/m² KOF]
NÖ	0,040	2,256	.	56	3,060
HP	0,051	2,091	.	60	3,243
FSCH	0,003	0,000	34,30	58	2,944
GSCH	0,003	0,000	24,00	60	3,261
JW	0,000	0,326	34,86	61	2,905
GD	0,040	0,310	29,90	68	3,820
ME	0,020	0,391	43,10	60	3,509
WG	0,014	0,891	42,00	60	2,913
DL	0,017	0,321	33,04	60	2,985
SN	0,011	0,256	.	63	2,972
FRR	0,055	0,731	44,80	62	2,995
DSCH	0,019	0,600	28,00	74	3,610
CT	0,002	0,000	11,80	90	3,965
WVH	0,003	0,000	.	62	2,900
FB	0,000	0,332	44,90	55	3,416
RB	0,101	1,131	21,45	75	4,121
WH	0,000	0,000	44,60	70	3,333
EJ	0,008	0,391	.	60	3,020
KK	0,002	0,326	30,00	59	3,122
HJL	0,005	0,000	22,40	76	3,333
WM	0,044	2,063	.	70	3,590
HN	0,043	1,603	27,00	66	3,905
WM	0,016	0,359	19,60	84	4,118
EG	0,025	0,525	39,02	72	4,091
CHB	0,029	0,631	15,39	80	4,624
KM	0,023	0,582	.	80	3,187
MF	0,012	1,364	35,43	70	3,196
KG	0,008	0,000	23,00	65	3,591
HH	0,061	2,532	.	80	3,922
FK	0,013	0,482	27,75	81	4,112
PG	0,177	1,346	45,00	75	4,120
HK	0,015	0,353	25,00	57	2,923
GP	0,004	0,497	15,36	65	3,250
JM	0,064	2,928	23,42	68	3,163
RO	0,050	0,526	43,92	64	3,596
VS	0,008	0,000	29,45	75	3,886
KZ	0,019	2,890	43,49	68	3,223
CC	.	0,000	45,00	60	3,158
KH	0,028	0,836	31,00	65	3,023

ID	PC-Druck [mm Hg]	NYHA t_0	NYHA t_1	CI [l/min/m²]	Gruppe	Ereignis
NÖ	.	2,0	2,0	.	A	
HP	.	2,0	2,0	.	A	
FSCH	24,00	2,0	2,0	3,9	A	
GSCH	5,50	3,0	2,0	2,3	A	
JW	16,00	.	.	4,25	A	
GD	20,00	3,0	2,5	.	A	
ME	24,00	2,0	2,0	2,5	A	
WG	24,00	3,0	3,0	2,3	A	
DL	43,00	2,0	2,0	3,79	A	
SN	.	2,5	3,0	.	A	
FRR	10,00	2,0	1,0	4	A	
DSCH	22,00	2,0	3,0	2,1	A	
CT	45,00	2,0	2,0	2,2	A	
WVH	38,00	4,0	3,0	1,9	A	
FB	13,00	2,0	2,0	3,7	A	
RB	14,00	.	1,0	2,2	A	
WH	.	1,0	1,0	.	A	
EJ	11,00	1,0	1,0	3,4	A	
KK	32,00	3,0	3,0	.	A	
HJL	7,00	3,0	2,0	2,2	A	
WM	.	2,0	1,0	.	A	
HN	46,00	2,0	2,0	1,4	A	
WM	42,00	4,0	.	.	B	HTX
EG	24,00	3,0	.	1,9	B	HTX
CHB	36,00	3,0	3,5	1,5	B	HTX
KM	40,00	3,0	.	1,9	B	Tod
MF	26,00	2,0	.	2	B	Tod
KG	27,00	2,0	.	3,7	B	Tod
HH	.	3,0	.	.	B	Tod
FK	20,00	.	.	4	B	Tod
PG	.	2,0	2,0	.	B	verschlechtert
HK	.	3,0	3,0	1,1	B	verschlechtert
GP	28,00	2,0	3,0	1,92	B	verschlechtert
JM	28,00	3,0	3,5	2,6	B	verschlechtert
RO	13,00	3,0	4,0	1,9	B	verschlechtert
VS	.	2,0	3,0	.	B	verschlechtert
KZ	.	1,0	2,0	.	B	verschlechtert
CC	36,00	2,0	2,0	2,7	B	verschlechtert
KH	16,00	3,0	3,5	2,2	B	verschlechtert

Danksagung

Herrn Professor Dr. med. Bodo Schwartzkopff danke ich für die Überlassung des Themas. Des weiteren danke ich ihm für seine fachlich wie menschlich stets hervorragende Betreuung bei der Durchführung und Ausarbeitung dieser Arbeit. Seinen außergewöhnlichen persönlichen Einsatz und die vielen wertvollen Anregungen und Ratschläge, die er mir während aller Phasen dieser Arbeit gewährt hat, habe ich während der gesamten Zeit ebenso sehr zu schätzen gelernt, wie seine ständige Bereitschaft, auf neue Erkenntnisse einzugehen und sie ausführlich zu diskutieren.

Weiterhin danke ich Frau Dipl.-Biol. B. Pelzer MA und Frau S. Vohmann, die mich bei der Durchführung der ELISAs und RIAs unterstützt haben.

Lebenslauf

Name: Michael Faßbach

Geburtsdatum: 08. März 1975
Geburtsort: Solingen
Konfession: evangelisch
Wohnung: Wildbahn 25, 42651 Solingen
Familienstand: ledig
Nationalität: deutsch

Schulausbildung

1981 – 1985	Grundschule Stöcken in Solingen
1985 – 1994	Gymnasium Schwertstraße in Solingen

Schulabschluß

Allgemeine Hochschulreife (Note: 1,3)

Zivildienst

August 1994 – Oktober 1995	Städtisches Krankenhaus Solingen

Studium

Oktober 1995	Erstimmatrikulation für das Fach Humanmedizin an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
Seit Juni 1998	Doktorarbeit zum Thema: Serologische Marker für einen erhöhten kollagenolytischen Stoffwechsel bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (Betreuer: Prof. Dr. med. B. Schwartzkopff, Medizinische Klinik und Poliklinik B, Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf)
April 2001 – März 2002	Praktisches Jahr, Klinikum Krefeld (Wahlfach: Gynäkologie und Geburtshilfe)

Prüfungen:

September 1997	Ärztliche Vorprüfung (Note: befriedigend - 2,66 -)
September 1998	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: gut)
April 2001	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: gut -1,66-)
Juni 2002	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note: gut)

Auslandsaufenthalte:

Juli – August 1999	Herz-/Thoraxchirurgie The University of Queensland, The Prince Charles Hospital Department of Cardiac Surgery Brisbane, Australien

Beruflicher Werdegang:

seit 10. Juli 2002	Arzt im Praktikum in der Abteilung für Kardiologie, Angiologie und Pulmologie der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. B. E. Strauer

Kongresse:

April 2000	66. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim „Erhöhter Kollagenstoffwechsel bei der dilatativen Kardiomyopathie“ (Vortrag)
November 2000	American Heart Association, 73rd Scientific Sessions New Orleans, USA „Abnormal Collagen Metabolism in Patients with Dilated Cardiomyopathy“ (Poster)
April 2001	67. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim „Erhöhte MMP/TIMP-Ratio bei der dilatativen Kardiomyopathie: Ein möglicher Indikator für die LV-Dilatation“ (Poster)
April 2003	American College of Cardiology, 52nd Annual Scientific Session Chicago, USA „Correlation of Increased Release of Cardiac MMP-1 in Patients With Dilated Cardiomyopathy With Left Ventricular-Diameter“
April 2003	69. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung, Mannheim „Reduzierte Kollagenolyse bei Patienten mit hypertropher Kardiomyopathie“

Publikationen

Abstracts

Faßbach M., Mundhenke M., Pelzer B., Rosenberg B., Schwartzkopff B.. Erhöhter Kollagenumsatz bei der dilatativen Kardiomyopathie. [abstract]. Z. Kardiol 2000; 89 (Suppl 5): 123

Fassbach M., Mundhenke M., Pelzer B., Strauer B. E., Schlieck A., Schwartzkopff B.. Abnormal Collagen Metabolism in Patients with Dilated Cardiomyopathy. [abstract]. Circulation 2000; 102(18) (Suppl): II-127

Faßbach M., Mundhenke M., Pelzer B., Schlieck A., Schwarztkopff B.. Erhöhte MMP/TIMP-Ratio bei der dilatativen Kardiomyopathie: Ein möglicher Indikator für die LV-Dilatation. [abstract]. Z Kardiol 2001; 90 (Suppl 2): II/147

Fassbach M., Picard F., Strauer B. E., Schwartzkopff B.. Correlation of Increased Release of Cardiac MMP-1 in Patients With Dilated Cardiomyopathy With Left Ventricular-Diameter. [abstract]. J Am Coll Cardiol 2003; 41 (6 Suppl A): 202A

Faßbach M., Rieleit M., Pelzer B., Strauer B. E., Schwartzkopff B.. Reduzierte Kollagenolyse bei Patienten mit hypertropher Kardiomyopathie. [abstract]. Z Kardiol 2003; 92 (Suppl 1): I/87

Schwartzkopff B., Poll L., Faßbach M., Zeriouh M., Nowak L., Brehm M., Kandolf R. Magnetresonanztomographie, Endomyokardbiopsie und Virusstatus bei klinischem Verdacht auf akute Myokarditis [abstract]. Z Kardiol 2003; 92 (Suppl 1): I/263

Originalarbeiten

Schwartzkopff B., Fassbach M., Pelzer B., Brehm M., Strauer B. E.. Elevated serum markers of collagen degradation in patients with mild to moderate dilated cardiomyopathy. Eur J Heart Fail 2002; 4: 439-444

Abstract:

Hintergrund und Ziel:

Die linksventrikuläre (LV) Dilatation und das myokardiale Remodeling sind charakteristische Merkmale für eine Herzinsuffizienz auf der Grundlage einer dilatativen Kardiomyopathie (DCM). Das interstitielle Kollagen ist für die LV-Integrität und die Funktion essentiell. Es wird hingegen vermutet, daß eine Kollagendegradation durch Kollagenase (z. B. Matrixmetalloproteinasen (MMP)) zur Ventrikeldilatation beiträgt. In der vorliegenden Arbeit wurden Serummarker des Kollagenmetabolismus untersucht, mit klinischen Parametern korreliert und auf ihre prognostische Wertigkeit hin untersucht.

Methoden und Ergebnisse:

Bei 43 Patienten mit DCM und 47 altersentsprechenden Kontrollpersonen wurden zum Zeitpunkt t_0 die Serumspiegel von MMP-1, -3 und -9, dem Inhibitor TIMP-1 sowie der Marker für die Kollagendegradation (ICTP) und die –synthese (PICP) mittels ELISA beziehungsweise RIA bestimmt. Die DCM-Gruppe wurde nach 25 Monaten (t_1) nach der subjektiven Veränderung des Allgemeinzustandes befragt und in Gruppe A (gebessert/konstant) und B (schwerwiegendes kardiales Ereignis) eingeteilt.
Die DCM-Gruppe wies im Vergleich zum Kontrollkollektiv signifikant höhere Serumkonzentrationen für MMP-1, Gesamt-MMP-9, TIMP-1, den MMP-1-/TIMP-1-Komplex sowie die $MMP\text{-}1_{frei}$/$TIMP\text{-}1_{frei}$-Ratio auf. Ferner war der Abbaumarker ICTP signifikant erhöht. Die Ratio zeigte eine Korrelation mit dem linksventrikulären enddiastolischen Durchmesser [cm/m² Körperoberfläche] ($r = 0{,}337$; $p = 0{,}01$) und dem Herzindex (CI) ($r = -0{,}322$; $p = 0{,}04$).
Gruppe B (44%) wies zum Zeitpunkt t_0 signifikant höhere TIMP-1- und PICP-Serumspiegel auf. MMP-1 war in Gruppe B um 55% erhöht, unterschied sich jedoch nicht signifikant.

Schlußfolgerung:

Serummarker der Kollagendegradation sind bei Patienten mit DCM erhöht und könnten wertvolle Marker für die Progression der LV-Dilatation sein.
Serummarker des Kollagenstoffwechsels unterscheiden sich bei DCM-Patienten in Abhängigkeit von deren Prognose. Bei der DCM liegt ein veränderter Kollagenumsatz und ein pathologisches Remodeling vor. TIMP-1 könnte ein prognostischer Parameter sein.