

Aus dem Deutschen Herzzentrums Berlin
Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie
und Arbeitsbereich Herzpathologie

DISSERTATION

Die Auswirkung des angeborenen Immunsystems am Beispiel
von Makrophagenpopulationen auf das potentiell reversible
kardiale Remodeling als prädiktiver Marker für das Weaning von
mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Jeremias Schmidt

aus Frankfurt/Main

Datum der Promotion: 03.03.2023

Inhaltsverzeichnis

I	Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	4
II	Abkürzungsverzeichnis.....	6
1.	Abstract/Zusammenfassung.....	9
2.	Einleitung und Fragestellung.....	13
2.1	Gesundheitsökonomie und Problematik des Organspendermangels	13
2.2	Ventricular Assist Devices	17
2.2.1	Dauerhafte implantierbare mechanische Kreislaufunterstützung – eine Alternative zur Herztransplantation	17
2.2.2	Mechanische Kreislaufunterstützungssysteme	20
2.2.3	Therapieformen.....	20
2.2.4	Patientenselektion und Indikation	22
2.3	Cardiac Remodeling, Reverse Remodeling, Weaning von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen und Einsparpotential an Spenderorganen ..	23
2.3.1	Cardiac Remodeling und Reverse Remodeling	23
2.3.2	Weaning.....	27
2.3.3	Einsparpotential an Spenderorganen.....	33
2.4	Markersuche: Makrophagensubpopulationen, Fibrosegrad und Kollagen Typ I und III als mögliche pathologische Marker für Weaning-Patienten	34
2.4.1	Klinische Biomarker für eine nachhaltige Myokarderholung	34
2.4.2	Makrophagensubpopulationen.....	35
2.4.3	Extrazelluläre Matrix, Kollagen Typ I und II und Fibrosegrad.....	43
2.5	Fragestellung	46

3.	Patienten und Methodik	48
3.1	Patientengruppen, Therapieparameter, mechanische Kreislaufunterstützungssysteme, Vergleichsgruppe	48
3.1.1	Patienten.....	48
3.1.2	Therapieparameter und Assist-Systeme.....	49
3.1.3	Patientenauswahl.....	50
3.1.4	Vergleichsgruppe	51
3.2	Methodik	52
3.2.1	Vergleich der Parameter von Herzmuskelexzisaten während Implantation und nach Explantation von mechanischen Kreislaufunterstützungs-systemen.....	52
3.2.2	Spezialfärbung der Exzisate: histochemische Anfärbung der Kollagenfasern: Siriusrot, Kollagen Typ I und III und immunhistochemische Analyse der Makrophagenmarker CD163, CD14, CD168 und Stabilin-1.....	54
3.2.3	Mikroskop und digitale Bildanalyse	55
3.2.4	Fehleranalyse	59
4.	Ergebnisse	62
4.1	Klinische Ergebnisse.....	62
4.2	Statistische Ergebnisse.....	62
5.	Diskussion.....	66
6.	Literaturverzeichnis.....	70
7.	Eidesstattliche Versicherung.....	81
8.	Lebenslauf.....	Fehler! Textmarke nicht definiert.
9.	Danksagung	82

I Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabellen

Tabelle 1 Übersicht Therapieparameter bei dem untersuchten Kollektiv

Grafiken/Abbildungen

Grafik 1 Anzahl an verstorbenen Spendern, deren Herzen für eine Transplantation verwendet wurden (2001–2019, nach Spenderland)
Auszug aus Quelle: Annual Report 2019. Eurotransplant, Leiden, Niederlande

Grafik 2 Aktive Warteliste für eine Herztransplantation bei Eurotransplant nach Ländern 2001–2019,
Auszug aus Quelle: Annual Report 2019. Eurotransplant, Leiden, Niederlande

Grafik 3 Quelle: Aus der Leistungsstatistik der DGHTG 2019: Anzahl der Herztransplantationen in Deutschland von 2009 bis 2019.

Grafik 4 Quelle: German Heart Surgery Report 2019. Beckmann et al.: Anzahl der Implantationen von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen in Deutschland von 2010-2019

Graphik 5 Darstellung der Transmigration von Blut im Gewebe und Stimulation der Makrophagensubpopulationen M1 und M2. Glezeva N et al. Role of inflammation in the pathogenesis of heart failure with preserved ejection fraction and its potential as a therapeutic target. Heart Fail Rev 2014;19(5):681-94.

Grafik 6 Einfluss von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen auf Makrophagen und fibröses kardiales Remodeling

Grafik 7 Studiendesign und Methodik der Untersuchung

- Grafik 8** Box-Whisker-Plots: Differenz der Anzahl an markierten Makrophagen und interstitieller Fibrose vor und nach Implantation von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen
- Grafik 9** Statistik dot-plot: Differenz der interstitiellen Fibrose in Korrelation zu Tagen an mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen
- Abbildung 1** Darstellung histologischer Schnittbilder und Messfelder für Stabilin-1, CD14, CD16, CD68 aktivierte Makrophagen und interstitielle Fibrose

II Abkürzungsverzeichnis

AHA	American Heart Association
ANP	Atriales Natriuretisches Peptid
BNP	Brain-type Natriuretisches Peptid/Brain Natriuretisches Peptid
BTC	Bridge to Candidacy = Überbrückungstherapie bis zur Transplantationslisteaufnahme.
BTD	Bridge to Decision = Überbrückungstherapie zur Überbrückung einer akut lebensbedrohlichen Situation
BTR	Bridge to Recovery = Überbrückungstherapie bis zur Erholung des Myokards
BTT	Bridge to Transplantation = Überbrückungstherapie bis zur Transplantation
BVAD	Biventricular Assist Device
CMS	Center for Medicare and Medicaid Services
DGTHG	Deutsche Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie
DHZB	Deutsches Herzzentrum Berlin
DT	Destination Therapy = Herzkreislaufunterstützungssystem als Dauertherapielösung
ECM	Extrazelluläre Matrix
FDA	Food and Drug Administration
FFR	Force Frequency Relationship = Kraft-Frequenz-Beziehung
HDL	High Density Lipoprotein
HTx	Herztransplantation

HU	High Urgency - Hohe Dringlichkeit
ICD	Implantierbarer Kardioverter-Defibrillator
IDKMP/IDCMP	Idiopathische dilatative Kardiomyopathie
IF	Interstitielle Fibrose
INTERMACS	Interagency Registry for Mechanically Assisted Circulatory Support
LDL	Low Density Lipoprotein
LVAD	Left Ventricular Assist Device = Linksventrikuläre HerzKreislaufunterstützungssysteme
LVEDD	Left Ventricular End-Diastolic Diameter = Linksventrikulärer, enddiastolischer Durchmesser
LVEF	Left Ventricular Ejection Fraction = Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MCS	Mechanical Circulatory Support = Mechanische Kreislaufunterstützungssysteme
MMP	Matrix-Metallo-Proteinasen
NHLBI	National Heart, Lung and Blood Institute
NYHA	New York Heart Association
pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
proBNP	Brain natriuretic Peptide
QoL	Quality of Life = Lebensqualität
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RV	Rechtsventrikulär
RVAD	Right Ventricular Assist Device

RVEDD	Right Ventricular End-Diastolic Diameter = Rechtsventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
TAG	Triacylglycerole
TAH	Total Artificial Heart
TIMP	Tissue Inhibitors of Metalloproteinases = Gewebeinhibitoren der Metalloproteinasen
VAD	Ventricular Assist Device = Ventrikuläre Herzkreislaufunterstützungssysteme

1. Abstract/Zusammenfassung

Abstract

Influence of activated macrophages on level of fibrosis and potential weaning of Ventricular Assist Device

Objectives

Left Ventricular Assist Device (LVAD) therapy is used as a bridge to transplantation. But due to the lack of donor hearts, LVADs are increasingly used as destination therapy. Elevated levels of interstitial fibrosis (IF) often correspond with decrease of left ventricular function. The development of IF is induced by the innate immune system through stimulation of alternatively activated macrophages (M2).

Ventricular unloading promotes a myocardial recovery in up to 8% of patients, although the pathophysiology is still not known. Reliable clinical biomarkers for the prediction of myocardial recovery have not been identified yet.

Investigated were the effects of LVAD therapy on a subset of macrophages in correlation to gender and age of the individuals, time on assist and outcome (weaning, death or heart transplantation (HTx)).

Material and Methods

Formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections from the site of LVAD implantation at the left ventricular apex of 12 terminal heart failure patients (5 females, age range 1-60 years) with dilated cardiomyopathy (DCM) between 01/2010 and 10/2013 were examined. Patients were separated into two groups with regard to their outcome on LVAD therapy. Domino Heart transplantation was carried out in 10 patients (3 female, age 1-60 years, 7 male, age 2-61), a 1-year-old female patient was successfully weaned from the device and another female patient (32 years) deceased during the follow-up period. Investigated was the level of IF on Sirius red stained formalin-fixed paraffin-embedded tissue sections using a digital software. The level of interstitial macrophages, as assessed on immunohistochemistry (CD68, CD163, CD14, stabilin-1) using eyeballing, and the level of IF in the apical myocardium were compared to those

in left ventricular myocardium from the explanted heart at time of transplantation or autopsy, or myocardial tissue harvested during weaning from the device.

Results

Univariate analysis (Wilcoxon rank test) demonstrates that the level of macrophages decreases consistently following mechanical unloading of the left ventricle. This was coherent for the macrophage type supporting chronic (ongoing) inflammation (stabilin-1) and the immunohistochemical phenotype of freshly infiltrating macrophages (CD14, CD163), although statistical significance was closely missed. The opposite finding was detected for the pure IF, which showed unvarying increased levels ($p=0.07$).

Conclusion

Interstitial macrophages emerge to promote cardiac remodeling, although mechanical unloading seems to reduce their amount.

The current study failed to identify a specific macrophage subtype appropriate to predict the outcome and the weaning of LVAD.

Zusammenfassung

Die Auswirkung des angeborenen Immunsystems am Beispiel von Makrophagenpopulationen auf das potentiell reversible kardiaale Remodeling als prädiktiver Marker für das Weaning von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen.

Einleitung

Linksventrikuläre mechanische Kreislaufunterstützungssysteme (LVAD) werden mit dem Therapieziel der Überbrückung bis zur Herztransplantation (HTx) eingesetzt. Aufgrund des Spenderherzenmangels und bei Patienten, die keine HTx-Kandidaten sind, werden LVAD zunehmend als „Destination Therapy“ implantiert.

Erhöhte Niveaus an interstitieller Fibrose (IF) gehen mit einer Verschlechterung der Linksherzfunktion einher. Die Bildung von IF wird durch die Stimulation von alternativ aktivierten Makrophagen (M2) gefördert. Bei ca. 8 % der Patienten tritt durch die mechanische Entlastung eine myokardiale Erholung mit potentieller Entwöhnung (Weaning) vom LVAD ein.

Die Pathophysiologie der Myokarderholung ist nicht abschließend verstanden und verlässliche klinische Weaning-Biomarker fehlen.

In dieser Arbeit wurden die Auswirkungen der LVAD-Therapie auf verschiedene Makrophagenpopulationen und Fibroseniveaus untersucht. Die Messungen wurden in Korrelation zu Geschlecht, Alter, Therapiedauer und Ergebnis der LVAD-Therapie (Weaning, Tod, Transplantation) gesetzt.

Methoden

Untersucht wurden formalinfixierte und paraffineingebettete Präparate vom linksventrikulären Apex von 12 Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz (5 Frauen, Altersspanne 1–60 Jahre, 7 Männer, Altersspanne 2-61 Jahre) bei dilatativer Kardiomyopathie zwischen 01/2010 und 10/2013. Je nach Ausgang der LVAD-Therapie wurden die Patienten in zwei Kollektive eingeteilt. Bei 10 Patienten (3 Frauen, Altersspanne 1–60 Jahre, 7 Männer, Altersspanne 2-61 Jahre) wurde eine Domino-

Herztransplantation durchgeführt, eine einjährige, weibliche Patientin konnte vom LVAD entwöhnt werden und eine 32-jährige Patientin verstarb innerhalb des Untersuchungszeitraums. Mit Hilfe einer digitalen Analysesoftware für das Mikroskop wurde das Niveau der IF an Sirius rot gefärbten Schnittpräparaten sowie die Anzahl an immunhistochemisch markierten interstitiellen Makrophagen (CD68, CD163, CD14, Stabilin-1) untersucht. Die Schnittpräparate vom linksventrikulären Herzapex wurden mit denen verglichen, die vom linken Herzventrikel zum Zeitpunkt von Transplantation, Tod oder Weaning vom LVAD gewonnen wurden.

Ergebnisse

Die univariate Analyse (Wilcoxon Rank Test) zeigt, dass unter mechanischer Entlastung des linken Ventrikels die Anzahl an Makrophagen kontinuierlich abnimmt.

Das trifft auf den Makrophagentyp zu, der die chronische Entzündungsreaktion (Stabilin-1) unterstützt, wie auch auf die Subtypen der frisch infiltrierenden Makrophagen der Akutreaktion (CD14, CD163), obwohl die statistische Signifikanz nur knapp verfehlt wurde. Das entgegengesetzte Ergebnis fand sich für das Niveau der reinen IF, die unter LVAD-Therapie zunahm ($p = 0,07$).

Schlussfolgerung

Interstitielle Makrophagen scheinen die herzspezifischen Umbauprozesse (Cardiac Remodeling) zu unterstützen, obwohl unter LVAD-Therapie die Anzahl der aktivierten interstitiellen Makrophagen abnahm.

Der vorliegenden Untersuchung ist es nicht gelungen, einen spezifischen Makrophagensubtyp als Weaning-Marker zu identifizieren.

2. Einleitung und Fragestellung

2.1 Gesundheitsökonomie und Problematik des Organspendermangels

Gesundheitsökonomisch ist die Herzinsuffizienz eine bedeutende Erkrankung oder vielmehr ein komplexes klinisches Syndrom mit steigender Prävalenz und hohen Hospitalisierungs- und Mortalitätsraten, denen nur begrenzte therapeutische Möglichkeiten gegenüberstehen.

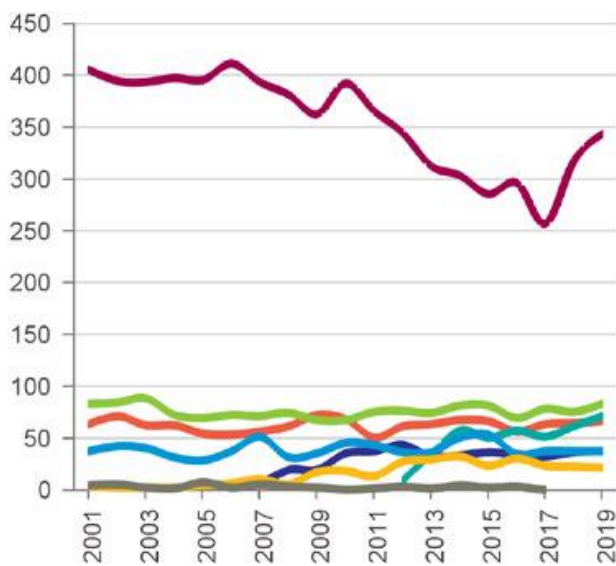
Allein im Jahr 2006 wurden rund 317 000 Patienten in Deutschland mit der Diagnose einer Herzinsuffizienz stationär im Krankenhaus behandelt, damit ist sie noch vor der koronaren Herzerkrankung die häufigste zu einem Krankenhausaufenthalt führende Diagnose. Mit 48 954 Verstorbenen (5,7 % aller Todesfälle) war sie im Jahr 2009 die dritthäufigste Todesursache in Deutschland, noch vor den Tumorerkrankungen. Insgesamt ist die terminale Herzinsuffizienz die häufigste Todesursache in den entwickelten Industrieländern [1].

Die Einjahresletalität beträgt bei der Herzinsuffizienz NYHA Klasse III-IV 25–50 % und die Fünfjahresletalität ca. 70 % [2].

Sind die konservativen Therapieoptionen wie ACE-Hemmer, Betablocker, Diuretika und kardiale Resynchronisationstherapie ausgeschöpft, bleibt die Herztransplantation weiterhin der Goldstandard für Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz, da sie bessere Ergebnisse in den Ein- und Zweijahresüberlebensraten als die VAD-Therapie (Ventricular Assist Device) aufweist [2]. Allerdings besteht, nicht nur in Deutschland, eine zunehmende Diskrepanz zwischen Patienten, die auf der Warteliste stehen, und der Anzahl an zur Verfügung stehenden Spenderherzen. Der Jahresbericht 2019 von Eurotransplant in Leiden verdeutlicht das Dilemma in Bezug auf Verfügbarkeit und Nachfrage an Spenderorganen, in dem sich die Herztransplantationschirurgie befindet [3]. Für Deutschland belegt die Verlaufsstatistik, verglichen in den Jahren 2010–2017, einen allgemeinen Rückgang von Herzorganspenderzahlen mit einem signifikanten Tiefpunkt im Jahr 2017. Erfreulicherweise werden in den Jahren 2018 und 2019 steigende Organspenderzahlen in Deutschland beobachtet.

Trotz dieses positiven Trends gibt es nach wie vor einen Organspendermangel, wie an den Zahlen von 2019 von Eurotransplant Leiden abzulesen ist, wo ein allgemeiner

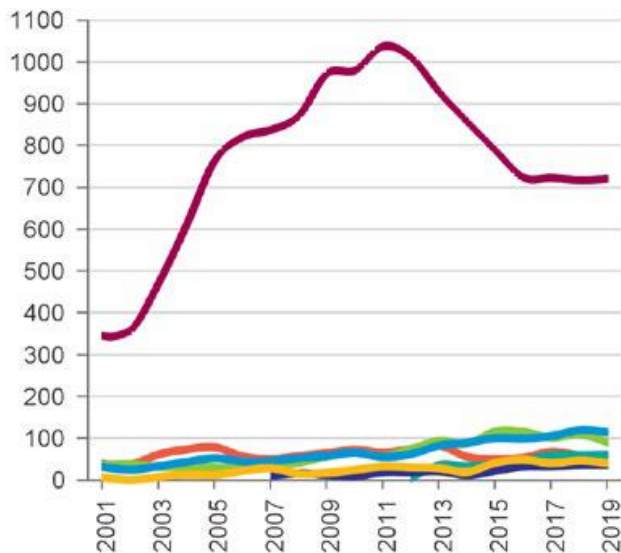
Rückgang der transplantierten Herzen von 2001 bis 2017 in Deutschland auffällig ist (Grafik 1) [3].



Grafik 1. Anzahl an verstorbenen Spendern, deren Herzen für eine Transplantation verwendet wurden (2001–2019, nach Spenderland, violett-Deutschland, grün-Belgien, orange-Österreich, hellblau-Niederlande, dunkelblau-Ungarn, gelb-Slowenien, grau- sonstige EU-Staaten)

Auszug aus Quelle: Annual Report 2019. Eurotransplant, Leiden, Niederlande, chapter 2.1.6, p12

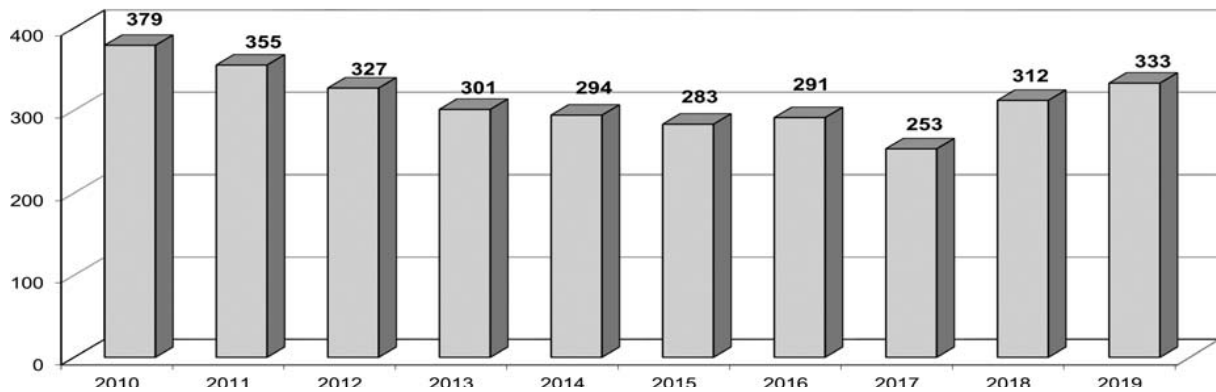
Gleichzeitig nahm die Anzahl der Patienten in Deutschland, die von 2001 bis 2019 auf der aktiven Warteliste für eine Herztransplantation bei Eurotransplant in Leiden gelistet waren, von 2001 bis 2011 kontinuierlich zu (Grafik 2).



Grafik 2. Aktive Warteliste für eine Herztransplantation bei Eurotransplant nach Ländern 2001–2019, (violett-Deutschland, grün-Belgien, orange-Österreich, hellblau-Niederlande, dunkelblau-Ungarn, gelb-Slowenien)

Auszug aus Quelle: Annual Report 2019. Eurotransplant, Leiden, Niederlande, chapter 2.9.5, p25

Aus der aktuellen Leistungsstatistik 2019 der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie (DGTHG) ist zu entnehmen, dass im Jahr 2017 mit nur 257 transplantierten Spenderherzen eine nochmalige Abnahme der durchgeführten Transplantationen zu verzeichnen ist und damit ein weiterer Tiefstand an durchgeführten Transplantationen der letzten 25 Jahre erreicht ist (Grafik 3). Für das Jahr 2019 findet sich zwar ein erfreulicher Anstieg auf 333 transplantierte Herzen, dennoch besteht nach wie vor eine hohe Diskrepanz zwischen Bedarf und zur Verfügung stehenden Spenderherzen [4]. Dies ist zum einen auf den Rückgang an Spenderherzen zurückzuführen und zum anderen auf den innovativen Einsatz von VAD [5].



Grafik 3. Quelle: Aus der Leistungsstatistik der DGHTG 2019: Anzahl der Herztransplantationen in Deutschland von 2009–2019.

Gleichzeitig ist die Einjahressterblichkeit der Patienten, die auf der Eurotransplant-Warteliste für eine Herztransplantation mit dem Status High Urgency (HU) stehen, mit 13 % im Jahr 2019 sehr hoch [3].

Dies ist bedingt durch die lange Wartezeit der Patienten, die selbst im HU-Status abhängig von der Blutgruppe mehrere Monate meist auf der Intensivstation mit zum Teil hochdosierter Katecholamintherapie warten müssen, verbunden mit rezidivierenden Dekompensationen und schweren Endorganschäden.

Verschärft wird das Problem der hohen Sterblichkeit auf der Herztransplantationswarteliste durch den Umstand, dass die Anzahl der neu gelisteten Patienten in den letzten Jahren zugenommen hat. So standen im Jahr 2019 in Deutschland 722 Patienten auf der aktiven Warteliste bei 559 jährlichen Neuregistrierungen und nur 333 durchgeführten Herztransplantationen in Deutschland [3]. Im Jahr 2013 standen im Vergleich dazu 568 Patienten auf der aktiven Warteliste bei 570 durchgeführten Transplantationen und zu dieser Zeit war das Angebot-Nachfrage-Verhältnis gedeckt [6].

Festzuhalten ist, dass die Inzidenz- und Prävalenzrate der terminalen Herzinsuffizienz in den letzten Jahren kontinuierlich zugenommen hat, einer zurückgehenden Spenderbereitschaft für Herzen aber gegenübersteht. Gründe hierfür sind eine steigende Lebenserwartung, einhergehend mit einem immer älter werdenden Patientenkontext, das komplexere Krankheitsbilder mit sich bringt [1].

So beträgt die Prävalenz der chronischen Herzinsuffizienz etwa 10 % bei den über 70-jährigen Patienten. An vielen Transplantationszentren gilt dieses Alter jedoch als Cut-off-Wert für die Evaluation zur Herztransplantation [7].

Spenderherzen sind rar und praktikable Lösungen sind gefragt. Folge des Mangels ist, dass „marginale“ Spenderorgane notgedrungen akzeptiert werden müssen, so dass mittlerweile eine Verschlechterung der Kurz- und Langzeitergebnisse bei Patienten nach einer Herztransplantation auszumachen ist [8].

Die Langzeitergebnisse der Herztransplantation sind bei guter Lebensqualität und Leistungsfähigkeit mit einer Fünfjahresüberlebensrate von ca. 75 % zufriedenstellend, dennoch stehen nach wie vor zu wenig Spenderorgane zur Verfügung [9].

Auswertungen der American Heart Association (AHA) belegen, dass in den Vereinigten Staaten von Amerika rund 5 Millionen Menschen an einer Herzinsuffizienz leiden, mit einer jährlichen Steigerung von 550 000 neu diagnostizierten Fällen. An einer terminalen Herzinsuffizienz leiden in den USA schätzungsweise 500 000 und weltweit 2,2 Millionen Menschen, mit einer Einjahresüberlebensrate von 50 %.

In den Vereinigten Staaten von Amerika werden 2400 Herztransplantationen jährlich durchgeführt bei 4 000 Patienten, die auf der aktiven Warteliste stehen [10, 11].

Global betrachtet bekommt der Mangel an Spenderorganen noch einmal eine andere Dimension: so stehen weltweit rund 30 000 jährlich zur Herztransplantation gelistete Patienten nur 3 500 durchgeführte Herztransplantationen gegenüber [12].

2.2 Ventricular Assist Devices

2.2.1 Dauerhafte implantierbare mechanische Kreislaufunterstützung – eine Alternative zur Herztransplantation

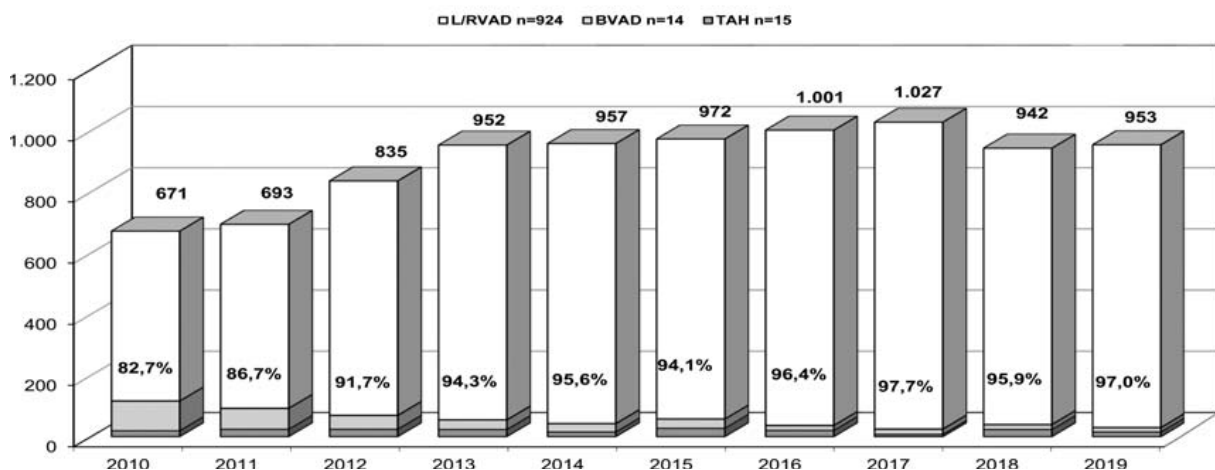
Der Mangel an Spenderorganen ist ein Stimulus für die Entwicklung von alternativen Verfahren zur Herztransplantation und für die intensive Beschäftigung mit Kreislaufunterstützungssystemen.

Durch die technischen Verbesserungen, die rasante Weiterentwicklung der Geräte vor allem im Bereich der langfristigen permanenten mechanischen Kreislaufunterstützung

und den nachgewiesenen Erfolg der Linksherzunterstützungssysteme (LVAD) mit Einjahresüberlebensraten von bis zu 86 % stellen die implantierbaren dauerhaften Kreislaufunterstützungssysteme eine adäquate Alternative zur Herztransplantation in der Therapie der terminalen Herzinsuffizienz dar, wenn die klinische Verschlechterung der Herzfunktion das Leben des Patienten bedroht [10, 13].

Auf der Suche nach Lösungen erlebten die voll implantierbaren, wartungsarmen und mit verringerten Thrombogenitätseigenschaften versehenen LVAD mit kontinuierlichem Fluss eine steigende Verwendung in der Therapie von Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz.

So wurden im Jahr 2019 in Deutschland 953 mechanische Kreislaufunterstützungssysteme implantiert und überschritten damit weit die Anzahl an im gleichen Jahr durchgeführten Herztransplantationen von 333 (Grafik 4) [4].



Grafik 4. Quelle: German Heart Surgery Report 2019. Beckmann et al: Anzahl der Implantationen von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen in Deutschland von 2010–2019

Auch in den jährlichen Statistiken der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie (DGTHG) ist der Trend hin zu implantierten Kreislaufunterstützungssystemen deutlich erkennbar. So ist kontinuierlich bis zum Jahr 2017 ein jährlicher Anstieg von implantierten Kreislaufunterstützungssystemen auszumachen. Dabei machen mit 97 % im Jahr 2019 mehrheitlich die links- und rechtsventrikulären Unterstützungssysteme den Hauptanteil aus [4].

Eine ähnliche Entwicklung findet auch in den Vereinigten Staaten von Amerika statt, wo die Interagency Registry for Mechanically Assisted Circulatory Support (INTERMACS), ein nationaler Zusammenschluss unter anderem der U.S. Food and Drug Administration (FDA), des National Heart, Lung and Blood Institute (NHLBI) und des Center for Medicare and Medicaid Services (CMS), die Entwicklungen und Ergebnisse, die im Zusammenhang mit den mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen stehen, aufzeichnen und vierteljährlich veröffentlichen. Beispielhaft findet sich in der Veröffentlichung von 2014 ein rapider Anstieg an Implantationen von nicht pulsatilen und voll implantierbaren linksventrikulären Unterstützungssystemen und eine deutliche Zunahme der Therapieoption Destination Therapy (Dauerlösung) [10].

Seit dem Pilotversuch für den Heartmate II LVAD (Abbott) im November 2003 und der Zulassung des Heart Mate II, einem Linksherzunterstützungssystem mit kontinuierlichem Fluss, durch die FDA wurden nach dem achten jährlichen INTERMACS Report von 2017 in den USA zwischen 2006 und 2016 mehr als 22 866 Kreislaufunterstützungssysteme implantiert und wie in Europa damit die Anzahl an durchgeführten Herztransplantationen bei weitem übertroffen [14].

Neben dem Fehlen von Spenderorganen liegen die Gründe hierfür unter anderem darin, dass in zahlreichen Studien die Überlegenheit der LVAD-Therapie gegenüber einer optimalen medikamentösen Therapie gezeigt werden konnte bei einer verbesserten Lebensqualität und bei einer LVAD-Langzeitanwendung [15-20].

Aufgrund der Miniaturisierung der Geräte, ihrer leichteren Implantierbarkeit, der geringen Komplikationsraten sowie den zahlreichen Untersuchungen, die belegen, dass ein unphysiologischer kontinuierlicher Blutfluss keine wesentlichen Nachteile für den Organismus hat, sind die LVAD der zweiten und dritten Generation mittlerweile die Therapie der ersten Wahl, wenn eine Überbrückung bis zur Herztransplantation erforderlich ist oder eine Kontraindikation für eine Herztransplantation vorliegt [21-25].

Daher werden mechanische Kreislaufunterstützungssysteme heutzutage sehr erfolgreich auch längerfristig eingesetzt und Patienten, die nicht mehr für eine Herztransplantation gelistet werden können, dauerhaft mit einem VAD versorgt [26-28].

Diese Patienten werden wiederum nicht auf die Warteliste für ein Spenderherz gesetzt, was sinkende Zahlen von Neuanmeldungen für die Spenderwarteliste in den letzten Jahren zur Folge hatte.

2.2.2 Mechanische Kreislaufunterstützungssysteme

Die ersten VAD-Systeme waren nicht für die Langzeitanwendung konzipiert. Sie hatten einen pulsatilen Blutfluss, waren groß und wiesen nicht unerhebliche technische Mängel auf. Der fortbestehende Mangel an Organspendern beschleunigte die technische Verbesserung der Systeme. Heute sind die Geräte miniaturisiert, voll implantierbar, weniger thrombogen und weisen eine längere Haltbarkeit auf [8]. Aktuelle Forschungen widmen sich dem Problem der Drive-Line-Infektionen (Antriebsleitung) sowie der Entwicklung einer transdermalen Stromversorgung.

Unterschieden wird heute zwischen der vollständigen Herzunterstützung (Total Artificial Heart, TAH) und der uni- oder biventrikulären Unterstützung, für die linksventrikuläre (LVAD), rechtsventrikuläre (RVAD) und biventrikuläre (BVAD) Unterstützungssysteme zur Verfügung stehen.

Ferner unterscheidet man zwischen extrakorporalen mit pulsatilem Blutfluss und voll implantierbaren Systemen mit kontinuierlichem Blutfluss.

Obwohl die Herzinsuffizienz meist beide Ventrikel betrifft, ist bei den meisten Patienten eine Unterstützung des linken Ventrikels ausreichend, die mit einer niedrigeren Infektionsrate bei einer besseren Lebensqualität verbunden ist [29, 30].

Der Auswahl der Unterstützungssysteme liegen verschiedene Therapiekonzepte zugrunde, so lässt sich beispielsweise bei einem biventrikulären Versagen ein linksventrikuläres Assist Device durch ein temporäres RVAD ergänzen, bis sich die rechtsventrikuläre Funktion (RV-Funktion) erholt hat und das RVAD wieder entfernt werden kann [8].

2.2.3 Therapieformen

Bei der Therapie mit mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen unterscheidet man fünf verschiedene Therapiekonzepte:

BTT	Bridge to Transplantation – Überbrückungstherapie bis zur Transplantation
DT	Destination Therapy – Herzkreislaufunterstützungssystem als Dauertherapielösung
BTR	Bridge to Recovery – Überbrückungstherapie bis zur Erholung des Myokards
BTC	Bridge to Candidacy – Überbrückungstherapie bis zur Transplantationslisteaufnahme
BTD	Bridge to Decision – Überbrückungstherapie zur Überbrückung einer akut lebensbedrohlichen Situation

Bridge to Decision betrifft Patienten, die sich in einer Notfallsituation befinden, in der man durch die Stabilisierung der Kreislaufsituation mit einem VAD Zeit gewinnt, um sich dann für oder gegen weitere Therapieoptionen zu entscheiden.

So können Patienten mit Kontraindikation zur Herztransplantation mit einem VAD unterstützt werden, bis die Transplantationskriterien erfüllt sind (zum Beispiel Ausschluss einer malignen Erkrankung) und dann mit dem Ziel Bridge to Candidacy therapiert werden [31].

Mit einem VAD kann auch das Myokard des linken Ventrikels der Patienten mechanisch entlastet werden, die wegen einer pulmonalen arteriellen Hypertonie mit einem fixierten erhöhten pulmonalarteriellen Widerstand, einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit, einer Adipositas per magna oder eines zu hohen Lebensalters nicht zur Herztransplantation gelistet werden, da es im Gegensatz zur Herztransplantation kein Alterslimit für VAD-Implantationen gibt [13].

Dabei bleibt der Grundgedanke der mechanischen Kreislaufunterstützung des Herzens die kurzfristige Überbrückung der Wartezeit bis zur Herztransplantation (Bridge to Transplantation) und ist nach wie vor das Ziel für die meisten Patienten, da die HTx die beste Langzeitprognose aufweist. Zu bemerken ist, dass durch lange Wartezeiten für eine HTx die Grenzen zwischen Bridge to Transplantation und Destination Therapy zunehmend verschwinden und der Trend deutlich in Richtung Destination Therapy geht, bei der der Patient dauerhaft mit einem mechanischen Kreislaufunterstützungssystem versorgt wird, ohne dass eine nachfolgende Transplantation angestrebt wird [11].

Nach den Daten des INTERMACS-Registers erhalten bis zu 60 % der Patienten, denen eine mechanische Kreislaufunterstützung implantiert wird, das LVAD als Destination Therapy [11, 14].

Der Grund hierfür ist der anhaltende Mangel an Spenderorganen und dementsprechend eine steigende Tendenz einer langfristigen LVAD-Versorgung.

Die Komplikationen einer Langzeittherapie teilen sich im Wesentlichen auf in antikoagulationsassoziierte (Blutung oder Thrombose) und infektionsbedingte, hier vor allem Drive-Line-assoziierte Komplikationen.

Eine besondere Form der Therapie mit VAD ist das Bridge to Recovery, bei der nach einer Erholung des Myokards und der Wiederherstellung einer suffizienten Kreislaufsituation die mechanische Kreislaufunterstützung explantiert werden kann [8].

Hierin liegt ein besonderes Potential und der Therapieansatz sieht in der mechanischen Kreislaufunterstützung eine passagere Intervention, um das Reverse Remodeling, das heißt die Rückbildung von feingeweblichen Veränderungen, welche die Kontraktilität des Herzmuskelgewebes einschränken, zu fördern.

Die terminale Herzinsuffizienz wird also nicht als eine irreversible Erkrankung im Endstadium, sondern als eine therapierbare verstanden, bei der nach Therapieabschluss das Device entfernt werden kann [7].

2.2.4 Patientenselektion und Indikation

Für den Erfolg der LVAD-Therapie sind die Selektion der Patienten sowie der frühzeitige Zeitpunkt der LVAD-Implantation maßgeblich.

Für die Implantation von LVAD empfiehlt die European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) in dem von Potapov und Kollegen 2019 erstellten Expertenkonsens zur mechanischen Kreislaufunterstützung als Einschlusskriterien eine NYHA-Klassifikation von IIIB/IV, eine linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) ≤ 25 % und eine peak VO₂ von ≤ 14 mL/Kg/min. Die meisten der Patienten erhalten vor der LVAD-Implantation bereits eine inotrope Therapie und die Patientenselektion von Patienten, die keine signifikanten renalen, pulmonalen oder hepatischen Dysfunktionen oder

Infektionen vor dem Eingriff haben, ist entscheidend für den Erfolg der Therapie [26, 32].

Gelingt die medikamentöse Rekompensationstherapie nicht, steht kurzfristig kein Spenderorgan zur Verfügung oder liegen Kontraindikationen zur HTx vor, ist eine frühzeitige VAD-Implantation indiziert, um den Patienten zu stabilisieren und später bei guter Endorganfunktion mit geringerem Risiko eine Transplantation durchführen zu können. Ziel ist es daher, Patienten in einem noch stabilen Zustand unter optimalen Bedingungen zu operieren, bevor die terminale Herzinsuffizienz in ein Multiorganversagen übergeht.

Gemäß Expertenkonsens der EACTS sollten alle Patienten mit einer nicht ischämischen Kardiomyopathie als Bridge-to-Recovery-Kandidaten angesehen werden und zum Zeitpunkt der Device-Implantation sollte ein standardisiertes Weaning-Protokoll auf eine mögliche Myokarderholung vorbereiten [26]. Begleitend sollte eine histologische Myokarduntersuchung behandelbare Formen der Myokarditis detektieren und eine regelmäßige echokardiographische Verlaufskontrolle stattfinden. Liegt ein Sinusrhythmus vor und der enddiastolische Durchmesser beträgt 45 % (vollständiges ventrikuläre Remodeling), sollte bei reduzierter Pumpgeschwindigkeit durch Echokardiographie eine Weaning-Möglichkeit ermittelt und ggfs. durch invasive Rechtsherzkatheteruntersuchungen bestätigt werden [26].

2.3 Cardiac Remodeling, Reverse Remodeling, Weaning von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen und Einsparpotential an Spenderorganen

2.3.1 Cardiac Remodeling und Reverse Remodeling

Das Krankheitsbild Herzinsuffizienz ist ein komplexes Syndrom, dessen Ursprung primär in einer Diskrepanz von angebotenen und nachgefragtem Blutvolumen liegt. Dieses Ungleichgewicht führt zu einem erhöhten Füllungsdruck und Wandspannung, einhergehend mit einer Dysfunktion des Herzens [7].

Dies führt wiederum zu einem erniedrigten arteriellen Blutdruck und einer erniedrigten LVEF, die wiederum das autonome Nervensystem aktivieren, was mit einer vermehrten Ausschüttung und Zirkulation von neuronalen Hormonen im Blut verbunden ist.

Gleichzeitig sinkt durch einen erniedrigten arteriellen Blutdruck und einer Minderperfusion der Niere der Level von Aldosteron, Renin und Angiotensin I und führt zu einer vermehrten Angiotensin-II-Produktion.

Das Herz besteht im Wesentlichen aus Kardiomyozyten und den Zellen und Strukturen des Interstitiums, namentlich Fibroblasten, Endothelzellen, vaskulären Muskelzellen sowie aus Immunzellen.

Auf kardialen Stress (mechanischer Stress, Hypoxie, vermehrte neurohormonale Stimulation, Ausschüttung inflammatorischer Zytokine) können diese Zellen über direkte Zell-Zell-Kontakte oder über parakrine Faktoren miteinander interagieren und entweder Adaptions- und Kompensationsmechanismen initiieren oder aber bei langanhaltendem Stress pathologische Remodeling-Prozesse in Gang setzen [7].

Auf zellulärer Ebene kommt es zu einer Größenzunahme der Kardiomyozyten mit daraus resultierender Organvergrößerung sowie einer progredienten interstitiellen Fibrose mit reduzierter Kontraktilität [33].

So kann man die kardiale Hypertrophie sowie die Fibrosebildung als eine protektive und adaptive Reaktion auf den hypertensiven Stress verstehen, und Dekompensation und Nachlassen der Adaptionsmechanismen sind mit einer schlechten Prognose verbunden.

Wie Burkhoff und Kollegen 2005 zeigen konnten, ist die Struktur des linken Ventrikels durch die Muskelmasse und das enddiastolische Druck-Volumen-Verhältnis im linken Ventrikel gekennzeichnet [34].

Bei der terminalen Herzinsuffizienz ist dieses Verhältnis in Richtung Volumen verschoben. Die strukturellen Veränderungen des Herzens werden bei chronischer Herzinsuffizienz vor allem durch Veränderungen in der Zellweite und -länge der Kardiomyozyten und dem krankhaften Ab- und Umbau der extrazellulären Matrix ausgelöst und durch eine veränderte neurohormonale Stimulation mediiert [34].

Diese Adaptions- und Kompensationsprozesse erlauben es, zu Beginn der Erkrankung normale hämodynamische Kreislaufverhältnisse aufrechtzuerhalten.

Bei einer länger anhaltenden neurohormonalen Aktivierung und dauerhaftem erhöhten mechanischen Stress auf die Ventrikel führt dies zu maladaptiven Prozessen wie Hypertrophie und Elongation der Kardiomyozyten, Initiation des fetalen Genprogramms, Apoptose, myokardialer Fibrose, systemischer Inflammation mit vermehrter Ausschüttung von Zytokinen gefolgt von einer Ventrikelvergrößerung und -dysfunktion [7].

Dieser Prozess wird Cardiac Remodeling genannt. Die Folgen sind unkoordinierte Myokardkontraktionen, ventrikuläre Arrhythmien und Mitralklappen-Regurgitationen.

Lange Zeit nahm man an, dass das Remodeling unidirektional und irreversibel sei und die Veränderungen durch keine Therapie rückgängig zu machen seien.

Durch die mechanische Kreislaufunterstützung kommt es aber zu einer profunden Druck- und Volumenentlastung der Ventrikel, was bei einem Teil der Patienten zu einer deutlichen Abnahme der Herzhypertrophie und -dilatation, einem normalisierten enddiastolischen Druck-Volumen-Verhältnis sowie zu einer verbesserten kardialen Pumpfunktion führt [7, 35-40].

Dieser Prozess wird als Reverse Cardiac Remodeling bezeichnet und ist durch die Abnahme von Größe, Länge und Weite der Kardiomyozyten, einer Zunahme der Kontraktilität des Myokards sowie der reversiblen Regulation zahlreicher molekularer Systeme des Myokards gekennzeichnet [7, 41].

Dabei korreliert die Höhe der Abnahme der Zellgröße der Myozyten direkt mit der Dauer der LAVD-Therapie [42].

Ferner kommt es durch die LVAD-Therapie bei einem Teil der Patienten zu einer radiologisch signifikanten Größenabnahme des Herzens, einer Abnahme der Cardiothoracic-Ratio, zu einer Abnahme des Ventrikeldurchmessers und der Ventrikelwanddicke, zu einer Normalisierung des enddiastolischen Druck-Volumen-Verhältnisses und zu einer erhöhten Ejektionsfraktion mit einer verbesserten hämodynamischen Funktion [43-45].

Wie schon beschrieben ist die Herzinsuffizienz ein komplexes Syndrom, und zahlreiche Systeme des Myokards (subzelluläre, zelluläre und makroskopische Strukturen) werden durch den Krankheitsprozess gestört.

Die meisten dieser multifaktoriellen Prozesse zeigen dann aber unter mechanischer ventrikulärer Entlastung sowie begleitender medikamentöser Therapie Veränderungen, die in Ihrer Gesamtheit als Reverse Cardiac Remodeling bezeichnet werden [46-50].

Das wesentliche Funktionsprinzip aller LVAD ist, dass Blut aus dem linken Ventrikel oder (sehr selten) dem Atrium entzogen wird und parallel in das arterielle System gepumpt wird. Neben der oben beschriebenen tiefen Druck- und Volumenentlastung des linken Ventrikels wird außerdem der pulmonale arterielle und venöse Druck reduziert, und ein erhöhtes Gesamtschlagvolumen, das sich aus dem Schlagvolumen des LVAD und dem nativen Herz zusammensetzt, führt zu einer verbesserten Perfusion aller Endorgane, die verbunden ist mit einer Normalisierung des neurohormonalen und Zytomilieus [51].

So kommt es neben lokalen Verbesserungen von Herzmorphologie und -funktion zu einer systemischen Normalisierung des Milieus und der Organperfusion [48, 52].

Es hat sich gezeigt, dass nicht alle myokardialen oder ventrikulären Systeme von einer VAD-Unterstützung profitieren, z. B. ein abnormaler extrazellulärer Matrix-Metabolismus, ein verminderter Gewebsangiotensinlevel und die myokardiale Steifigkeit [51].

Noch nicht verstanden ist die molekulare Verbindung zwischen dem mechanischen Stress, wie er bei der Herzinsuffizienz auftritt, und der Regulation der Zellgröße der Kardiomyozyten, was ein interessanter Ansatz für eine pharmakologische Therapie sein könnte.

Das Reverse Remodeling ist vor allem in der Volumen- und Druckentlastung des Ventrikels begründet und wird weniger durch ein normalisiertes neurohormonales Milieu verursacht (z. B. Aldosteron, Norepinephrin, Endothelin, Vasopressin, Cytokine, beta-adrenerge Rezeptordichte, Calcium Uptake und Calcium-Bindungsrate, atriales und brain-type BNP) [45, 51, 53, 54].

Das neurohormonale und das Zytokin-Milieu werden vor allem über die Perfusion des Myokards reguliert, dies betrifft den rechten wie linken Ventrikel des Herzens.

Die Tatsache, dass sich die hämodynamischen Verbesserungen unter LVAD-Therapie vor allem auf den linken Ventrikel beziehen und in geringeren Maßen auf den rechten Ventrikel, erlaubt es Untersuchungen und Vergleiche zwischen Myokard des linken und rechten Ventrikels im Hinblick auf eine myokardiale Erholung anzustellen und univentrikuläre Effekte der mechanischen Kreislaufunterstützung abzugrenzen.

2.3.2 Weaning

Die Volumen- und Druckentlastung des linken Ventrikels durch die LVAD-Therapie kann zu einem strukturellen, morphologischen und funktionellen Reverse Remodeling des Herzmuskelgewebes mit einer nachhaltigen Wiederherstellung der Herzfunktionen führen.

Je nach Studie können ca. 4–24 % der Patienten, die wegen terminaler Herzinsuffizienz bei idiopathischer dilatativen Kardiomyopathie eine dauerhafte mechanische Kreislaufunterstützung erhalten, nach einer funktionellen Erholung des Myokards und einer Verbesserung der kardialen Pumpfunktion durch die Druck- und Volumenentlastung vom System entwöhnt werden, so dass das VAD explantiert werden kann [49, 50, 55]. Am Deutschen Herzzentrum Berlin (DHZB) konnten mit dem Weaning-Protokoll von Knierim und Kollegen 7,8 % der LVAD-Patienten für ein elektives Weaning vom LVAD eingeschlossen werden, was den Ergebnissen anderer retrospektiver Arbeiten entspricht [56-59]. Andere prospektive Studien wie die RESTAGE-HF-Studie zeigten wiederum ein deutlich höheres Weaning-Potential unter den eingeschlossenen Patienten bei einem insgesamt jüngeren Patientenkollektiv [16, 18].

Diese Patienten können mittel- oder langfristig ohne Kreislaufunterstützung und ohne Herztransplantation leben. Diese Therapieform wird als Bridge to Recovery und die geplante und schrittweise Entwöhnung von dauerhafter LVAD-Unterstützung als Weaning bezeichnet [60, 61].

Wichtige klinische Variablen, die sich auf den Weaning-Erfolg auswirken, sind Ätiologie (v.a. dilatative Kardiomyopathie nicht ischämischer Genese, akute Myokarditis), Dauer

der Erkrankung, Dauer und optimales Timing der mechanischen Kreislaufunterstützung, begleitende pharmakologische Therapie, verschiedenartige Weaning-Protokolle, Patientenselektion und Alter des Patienten [31, 62]. Junge Patienten mit einem akuten Krankheitsbild und kurzer Erkrankungsdauer wie bei einer akuten Myokarditis oder einem Postkardiotomie-Syndrom haben die besten Chancen auf eine VAD-Explantation [63], sind allerdings in der Minderheit. Die Mehrheit der Patienten, die eine LVAD-Therapie erhalten, leiden unter einer ischämischen oder idiopathischen dilatativen Kardiomyopathie.

Patienten, die am wahrscheinlichsten von einer mechanischen Entladung des Ventrikels profitieren könnten, sind vor allem Patienten mit einer hypertensiven Kardiomyopathie, einer Aortenklappenstenose, mit Klappenregurgitationen, einer post-partum-Kardiomyopathie, einer Myokarditis, einer idiopathischen DCMP oder sind Überlebende eines Myokardinfarkts, dessen nicht vom Infarkt betroffenes Myokard markant von Remodeling-Prozessen verändert ist [56, 63].

Infarkt Narben oder ein der Erkrankung zu Grunde liegender Gendefekt lassen sich durch ein VAD nicht therapieren.

Bezüglich der Anzahl der Patienten mit idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie (IDCMP), die erfolgreich vom Assist entwöhnt werden können, liegen Studien mit großen Unterschieden in den Ergebnissen vor. Beispielsweise beschreibt die INTERMACS-Studie mit nur 1,2 % erfolgreich entwöhnten Patienten von 6 500 Patienten und die Heart Mate II BTT- und DT-Studie mit nur 1,8 % bei 1 108 Patienten im Vergleich mit anderen Studien nur geringe Erfolge [10] .

Drakos und Kollegen sehen die Gründe für den niedrigen Weaning-Anteil vor allem darin, dass nicht aktiv nach Hinweisen für ein mögliches und erfolgreiches Weaning gesucht würde [64]. Nur wenn man sich über die Therapieoption LVAD-Explantation nach Myokarderholung bewusst sei und mögliche Weaning-Patienten prospektiv mit dem Ziel Bridge to Recovery evaluiert würden, würden mehr LVAD-Explantationen durchgeführt werden, so die Hypothese [64].

Die Atrophie des Myokards unter LVAD-Therapie wird als einer der Hauptgründe für die niedrige Erholungsrate unter alleiniger MCS-Therapie diskutiert [48].

Die Ergebnisse, die an ein strenges Studienprotokoll geknüpft waren (Harefield Protokoll: beta-Blocker, ACE-Hemmer, Aldosteron-Inhibitor, Clenbuterol), waren von anderen Gruppen nicht reproduzierbar, aber man kann festhalten, dass die Weaning-Rate durch eine intensive medikamentöse Therapie gesteigert werden könnte [65]. Daher erhalten Patienten, die in ein Weaning-Protokoll eingeschlossen werden, in der Regel eine optimale medikamentöse Therapie, die sich an den Leitlinien der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie orientiert [17].

Weiterhin gibt es Studien und Untersuchungen, die versuchen, das Reverse Cardiac Remodeling neben einem strengen adjuvanten pharmakologischen Regime durch Zelltherapie oder neurohormonale Blockaden positiv zu beeinflussen [65, 66].

Umstritten ist in der Forschung nach wie vor die Frage, ob pulsatile oder kontinuierliche Blutfluss-Geräte eine Erholung der Herzfunktion mehr oder weniger begünstigen.

Einen positiven Einfluss auf den Weaning-Erfolg hat die engmaschige Überwachung von Herzgeometrie und -funktion in der Echokardiographie, wie am DHZB untersucht wurde. Dabei sind Veränderungen unter der Herzkreislaufunterstützungstherapie besser erkennbar, mögliche Recovery-Patienten lassen sich einfacher identifizieren und der Weaning-Erfolg mit explantierten Unterstützungssystem ist deutlich höher [31].

Am DHZB konnten von 1987 bis 2010 8,8 % der Patienten mit idiopathischer dilatativer Kardiomyopathie langfristig und erfolgreich von einer mechanischen Kreislaufunterstützung entwöhnt werden [67].

Ziel muss es daher sein, potentielle Weaning-Patienten a priori auszuwählen, während der LVAD-Therapie Recovery-Erfolge engmaschig zu überwachen und zu erkennen, eine adjuvante pharmakologischen Therapie einzuleiten und durch standardisierte Weaning-Protokolle die Anzahl an erfolgreichen Assist-Explantation zu erhöhen.

Bis heute gibt es keine einheitlichen Weaning-Richtlinien, und die Strategien variieren zwischen den Herzzentren, wie z. B. kardiopulmonale Stresstests oder echokardiographische Kontrollen [68].

Als Ergänzung zu den chirurgischen Eingriffen, die ein Funktionieren des Herzens nach Pumpenentfernung überhaupt erst möglich machen (z. B. Aortenklappenersatz nach sekundärer Fusion der Klappensegel nach LVAD-Therapie), besteht daher Bedarf an

übereinstimmenden Parametern zur eindeutigen Definition eines Weaning-Erfolgs sowie an standardisierten Follow-Ups, um Weaning-Erfolge langfristig zu überwachen.

Drakos und Kollegen untersuchten in der Harefield-Recovery-Protokoll-Studie (HARPS), die 2003 gegründet wurde, ob bei Patienten mit fortgeschrittener Herzinsuffizienz, bei deren Behandlung eine VAD-Unterstützung erforderlich ist, eine ausreichende myokardiale Funktion wiederhergestellt und so das VAD entfernt werden kann. Ferner wurde die optimale Dauer der LVAD-Therapie in Bezug auf die Verbesserung der linksventrikulären Funktion untersucht [62]. Durch echokardiographische und hämodynamische Untersuchungen zeigte sich schon früh nach LVAD-Implantation eine funktionelle und morphologische Verbesserung des linken Ventrikels mit einem Peak nach 4 Wochen [48]. Seitdem haben viele Zentren Ihre Erfahrungen und Protokolle für eine erfolgreiche LVAD-Explantation veröffentlicht [36, 50, 53, 69, 70].

Am DHZB konnte eine Optimierung von Größe und Funktion des linken Ventrikels nach 90 Tagen LVAD-Unterstützung ausgemacht werden [60]. Knierim und Kollegen präsentierten 2018 ein auf Echokardiographie und Herzkatheteruntersuchung basiertes, standardisiertes und aus drei Stufen bestehendes Protokoll, bei dem von 424 eingeschlossenen Patienten 14 erfolgreich und sicher bei einer nachhaltigen Myokarderholung für eine LVAD-Explantation ausgewählt werden konnten [56]. Das Protokoll sieht ein Screening vor, bei dem unter anderem die Herzkreislaufunterstützung durch LAVD mindestens 6 Monate bestehen muss und der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVEDD) ≤ 55 mm und die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) ≥ 45 % betragen muss. Erst dann wird eine Echokardiographie unter verschiedenen LVAD-Einstellungen wie optimaler Pumpengeschwindigkeit, reduzierter Pumpengeschwindigkeit und Pumpenstopp durchgeführt, die eine einfache und sichere Untersuchungsmethode ist und Teil der meisten Weaning-Protokolle ist [50, 58, 71]. Im dritten Schritt des Protokolls erfolgt die Evaluation zur LVAD-Explantation mittels Rechtsherzkatheteruntersuchung bei Ballonokklusion des Grafts und Pumpenstopp. Mittlerweile ist die invasive hämodynamische Messuntersuchung Teil vieler Weaning-Protokolle [16, 58, 72].

Durch die Verwendung der modernen LVAD mit kontinuierlichem Fluss kommt es beim Pumpenstopp zu einem retrograden Blutfluss vom LVAD in die Aorta und den linken

Ventrikel [73-76]. Dieser kann mit 2 L/min nicht unerheblich sein und einen zusätzlichen unphysiologischen, myokardialen Stress bedeuten [73]. Daher gestaltet sich die Simulation eines Post-Explantationsszenarios schwierig und die Evaluation unter Pumpenstopp-Bedingungen könnte mögliche Weaning-Patienten ausschließen.

Um bessere physiologische Untersuchungsbedingungen zu ermöglichen, evaluieren daher viele Zentren unter Reduzierung der Pumpengeschwindigkeit („Null-Netto-Fluss“) [74, 76, 77]. Um das Problem des Rückflusses zu beheben wurde von Potapov und Kollegen eine perkutane Ballonokklusion durch einen Titanium-Verschluss beschrieben [78].

Das Protokoll von Knierim und Kollegen aus dem DHZB beinhaltet neben einem Screening und einer Echokardiographie unter Pumpenstopp und reduziertem Pumpenfluss eine Kathetertechnik mit temporärer Ballonokklusion zur Verhinderung der Blutrückflusses unter Pumpenstopp aus dem LVAD [56]. So konnte bei 14 Patienten das LVAD sicher explantiert und 13 Patienten über 9,7 Monate Follow-up nachhaltig von der mechanischen Kreislaufunterstützung entwöhnt werden [56].

Wichtig ist es zu unterscheiden zwischen einer funktionellen Erholung des Myokards mit einer nachfolgenden Explantation des LVAD (Recovery) und den Veränderungen, die auf zellulärer und molekularer Ebene durch LVAD-Unterstützung stattfinden, aber keine funktionellen Verbesserungen mit sich bringen (Reverse Remodeling) [50].

So ist in einigen Fällen eine Entfernung des LVAD möglich, ohne dass eine vollständige Erholung des Myokards und eine Remission der Herzinsuffizienz stattgefunden haben. Dabei besteht allerdings die Gefahr, die Anzahl der Patienten, die potentiell ohne LVAD überleben könnten, zu unterschätzen [61].

Auf der anderen Seite gibt es auch Patienten, bei denen sich unter Kreislaufunterstützung zwar die molekularen, zellulären und geometrischen Veränderungen des linken Ventrikels zurückgebildet haben, bei denen aber nach VAD-Explantation keine hämodynamisch stabile Kreislafsituation besteht und das Assist in der Folge nicht explantiert werden kann. In diesen Fällen kann das native Herz nach Entfernung des LVAD und Reexposition der hämodynamischen Last einen stabilen Kreislauf nicht aufrechterhalten [61].

Die pathophysiologischen Mechanismen, die hinter dem Reverse Cardiac Remodeling stehen, sind noch nicht vollständig verstanden und derzeit Gegenstand der Forschung, aber die terminale Herzinsuffizienz und vor allem die dilatative Kardiomyopathie nicht ischämischer Genese ist durch die VAD-induzierten Reverse-Remodeling-Prozesse zu einem potentiell behandelbaren Krankheitsbild geworden [31].

Bedarf besteht außerdem an Parametern für eine klare Abgrenzung zu einer kurzfristigen, aber nicht substantiellen Myokarderholung.

In einer großen Bridge-to-Recovery-Studie am DHZB wurden ein off-pump LVEDD > 55 mm und eine off-pump LVEF < 45 % vor VAD-Entfernung sowie ein länger als 5 Jahre andauernder Krankheitsverlauf der Herzinsuffizienz als mögliche Risikofaktoren für einen nicht langfristig anhaltenden Weaning-Erfolg ausgemacht [79].

Dabei betrug die 5-Jahres-Überlebensrate nach Assist-Entfernung 78,3 % und das Wiederauftreten der Herzinsuffizienz nach Pumpenentfernung nach 2 Jahren 32 %, und die off-pump-gewonnenen echokardiographischen Werte erwiesen sich als zuverlässige Indikatoren für eine linksventrikuläre Erholung sowie als Prädiktoren für eine nachhaltig stabile kardiale Funktion nach Assist-Entfernung [50].

Eine weitere interessante und aktuell diskutierte Frage ist, ob eine verbesserte linksventrikuläre Funktion zu einem besseren Outcome der DT oder der BTT-Therapie führen würde, selbst wenn nach einer myokardialen Erholung das Kreislaufunterstützungssystem nicht explantiert werden könnte [79].

Unklar bleibt auch weiterhin, ob die Geschwindigkeitseinstellungen der LVAD und ein langsames graduelles Weaning vom LVAD positive Einflüsse auf den Behandlungserfolg haben.

Außerdem besteht Klärungsbedarf darüber, warum es so viele positive Fälle des Reverse Remodeling unter LAVD-Therapie gibt, die klinischen Realität aber eine nur geringe Rate an erfolgreichem Weaning und LVAD-Explantationen aufweist.

Zusammengefasst sind die Kernfragen bezüglich der myokardialen Erholung unter LVAD-Therapie bei Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz folgende:

1. Ist eine langfristige und nachhaltige kardiale Erholung möglich?

2. Welche ist die ideale Behandlungsdauer, das optimale Timing und der geeignete VAD-Typ?
3. Welche sind die Kriterien, die eine vollständige myokardiale Erholung während der Behandlung anzeigen?
4. Gibt es prospektive prognostische Faktoren, die einen potentiellen Weaning-Kandidaten vor der LVAD-Implantation identifizieren könnten?
5. Kann man eine zuverlässige Aussage über einen langfristigen Weaning-Erfolg treffen bei einer myokardialen Erholung eines BTT-Patienten?
6. Welche adjuvanten Therapien unterstützen eine myokardiale Erholung?

Zusammenfassend kann aber gesagt werden, dass für ausgewählte Patienten mit IDCMP aufgrund eines potentiellen Weaning-Erfolgs > 9 Jahren, einer sehr geringen Mortalität und des seltenen Falles einer erforderlichen Device-Reimplantation eine Entwöhnung vom Assist ein sicheres Verfahren ist, das auch bei einer unvollständigen kardialen Erholung berücksichtigt werden sollte [50].

2.3.3 Einsparpotential an Spenderorganen

Allein in Deutschland wurden im Jahr 2019 924 R/LVADs implantiert [4].

Würden durch intensives Monitoring, medikamentöse Begleittherapie und standardisierte Protokolle rund 10 % der Patienten langfristig von Kreislaufunterstützungssystemen entwöhnt werden, könnten diese 10 % der Patienten von der Warteliste gestrichen und damit deutschlandweit rund 90 Organe pro Jahr mehr zur Verfügung stehen.

In Anbetracht der Knappheit an Spenderorganen und dem hohen Bedarf an Spenderherzen handelt es sich hier um ein nicht zu unterschätzendes Einsparpotential.

Ein weiteres Argument für ein intensiveres Auseinandersetzen mit den Möglichkeiten der Entwöhnung vom LVAD sind die hohen Behandlungskosten, die durch die VAD-Therapien entstehen und die beispielsweise in den USA mit rund 86 000 Dollar pro Patient, pro Behandlungsjahr eingeschätzt werden [80].

Unter Ausschöpfung der Entwöhnungsmöglichkeiten vom LVAD könnten Behandlungskosten gesenkt werden. Denn jeder erfolgreich entwöhnte Patient benötigt weder ein Spenderorgan, noch ist für ihn eine Langzeitunterstützung mit VAD im Sinne einer Destination Therapy erforderlich.

2.4 Markersuche: Makrophagensubpopulationen, Fibrosegrad und Kollagen Typ I und III als mögliche pathologische Marker für Weaning-Patienten

2.4.1 Klinische Biomarker für eine nachhaltige Myokarderholung

Problematisch für den Kliniker ist, dass es keine geeigneten Biomarker für das klinische Monitoring des Reverse Cardiac Remodeling gibt, an denen man abschätzen kann, ob ein Patient für ein Weaning geeignet ist.

Linksventrikuläre Größe, Volumen, Geometrie und Ejektionsfraktion in der Echokardiographie bei reduziertem Pumpenfluss oder Pumpenstopp und Stresstests sowie ein stabiler Sinusrhythmus und der Ausschluss einer pulmonalen Hypertonie scheinen die besten Prädiktoren für das Reverse Remodeling zu sein, aber zuverlässige prognostische Biomarker für die Erholung des Myokards und das Weaning fehlen nach wie vor [79, 81].

Daher gibt es einen besonderen Bedarf, einen biochemischen Marker für eine nachhaltige, langfristige Myokarderholung (Patientenselektion) zu finden, der es auch während der VAD-Therapie erlaubt, eine Aussage darüber zu treffen, ob ein Weaning möglich ist (LVAD-Explantation).

Mit solchen Markern könnte sich das Weaning als sicheres und standardisiertes Verfahren etablieren und die Anzahl an entwöhnten Patienten und infolgedessen an eingesparten Spenderorganen erhöht werden.

Dabei wäre zu evaluieren, wie nachhaltig die Verbesserungen unter LVAD-Therapie sind und ob ein langfristiges Leben ohne erforderliche LVAD-Reimplantation möglich ist.

In ersten Studienansätzen wurde versucht, Marker für eine substantielle Erholung unter LVAD-Therapie im Plasma auszumachen (z. B. ANP und BNP (Atriales und Brain-type Natriuretisches Peptid)), was aber bisher nicht gelungen ist [82].

Dafür könnten immunhistologisch markierte Makrophagen im Zusammenhang mit dem interstitiellen Fibrosegrad sowie dem Kollagengehalt des Subtyp I und III und deren Veränderungen unter mechanischer Kreislaufunterstützung bei Patienten mit terminaler Herzinsuffizienz interessante und potentielle funktionelle Biomarker für eine nachhaltige Myokarderholung sein und sind Gegenstand der Untersuchung dieser Arbeit [82-84].

2.4.2 Makrophagensubpopulationen

Monozyten stellen die größte Population an zirkulierenden weißen Blutzellen dar. Morphologisch sind Monozyten größer als Lymphozyten und besitzen im Gegensatz zu Granulozyten einen nierenförmigen Zellkern.

Ihre Funktion ist u. a. die Phagozytose, und sie können sich in vivo und in vitro zu Makrophagen oder dendritische Zellen entwickeln.

Makrophagen und Monozyten sind die zentralen Bestandteile des innaten (nicht spezifischen) Immunsystems.

Makrophagen sind im Gewebe beheimatet, von wo aus sie schnell mobilisiert werden können. Sie sind plastische Zellen, eine heterogene Zellgruppe mit unterschiedlichen Subpopulationen, die unterschiedliche Funktionen übernehmen [85].

So können Makrophagen über den klassischen oder alternativen Weg aktiviert werden. Die klassisch aktivierten Makrophagen, die so genannten M1-Makrophagen, sind verantwortlich für das Initiieren der akuten inflammatorischen Reaktion. Die alternativ aktivierten Makrophagen (M2) hingegen steuern den Entzündungsprozess, dessen Auflösung und die Heilungsprozesse, die mit einer Fibrosebildung und damit dem Reverse Remodeling des Gewebes verbunden sind.

Die Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe lassen die Annahme zu, dass vor allem aktivierte M2-Makrophagen in die chronischen Entzündungsprozesse involviert und mitverantwortlich für die Bildung der interstitiellen Fibrose sind [86].

Neben den oben beschriebenen Eigenschaften der Steuerung und der Initiierung der akuten inflammatorischen Entzündungsantwort besitzen die M2-Makrophagen auch die Fähigkeit, vom Zustand der Entzündungsreaktion auf den Zustand der Heilungsphase

des Gewebes umzuschalten, der mit der Ausschüttung anti-inflammatorischer Zytokine wie IL-10 sowie Angiogenese und Fibrose verbunden ist [84].

Unsere Arbeitsgruppe konnte in einer Studie mit Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (DKMP) und VAD-Therapie, bei der immunhistochemisch markierte Makrophagen in Myokardschnitten quantitativ ausgezählt wurden, zeigen, dass alternativ aktivierte M2-Makrophagen wesentlich in den Remodeling-Prozess des Myokards involviert sind und Areale mit einer hohen Expression von Stabilin-1/CD68 mit einer verstärkten aktiven chronischen Entzündungsreaktion sowie einer vermehrten Fibrose- und Narbenbildung assoziiert sind [87]. CD68 stellt hierbei einen immunhistologischen Panmakrophagen-Marker dar.

Daher sind für diese Arbeit vor allem die aktivierten M2-Makrophagen von Interesse, da diese für den Heilungsprozess verantwortlich sind, der mit Narben- und Fibrosebildung und damit dem Remodeling des Myokardiums einhergeht [88].

Das Herz besteht aus verschiedenen Zelltypen, unter anderem aus Kardiomyozyten, Kardiomyoblasten, Immunzellen und vaskulären Zellen (Endothel, glatte Muskelzellen), die eine enge Zellkommunikation untereinander haben und die in ihrer Gesamtheit ein immunomodulatorisches Netzwerk bilden. Verschiedene Studien belegen eine Expression von beta-adrenergen Rezeptoren und Angiotensin-Rezeptoren von myokardialen Fibroblasten unter kardialen Stress und vermuten, dass myokardiale Fibroblasten eine entscheidende Rolle beim Cardiac Remodeling spielen [89].

Auch die vaskulären Endothelzellen, die für die Expression von Zelladhäsionsmolekülen, Selektinen und Integrinen und damit für die Myozytenmigration aus dem Blutgefäß verantwortlich sind, haben einen wesentlichen Stellenwert bei der Pathogenese [90].

Insgesamt gibt es nur ein begrenztes Wissen über die immunpathologischen Mechanismen, die bei den Umbauprozessen des Ventrikels und des Myokards bei der dilatativen Kardiomyopathie ablaufen.

Sicher ist, dass die Entzündungsreaktion eine zentrale Rolle bei der Pathogenese von kardiovaskulären Erkrankungen spielt, bei der Monozyten und von Monozyten abstammende Makrophagen eine Schlüsselrolle einnehmen [91]. Die chronische,

mechanische Druck- und Volumenbelastung der Ventrikel sowie Hypoxie und Ischämie führen im Herzmuskelgewebe zu einer inflammatorischen Reaktion mit einer systemischen Entzündungsreaktion mit erhöhter Serumkonzentration zahlreicher inflammatorischer Zytokine.

So sind die der Herzinsuffizienz zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen vor allem die Fibrosebildung und eine reduzierte ventrikuläre Compliance, ausgelöst durch eine chronische arterielle Hypertension [92].

Die Entzündungsreaktion ist dabei eine der frühesten Reaktionen auf die Druck- und Volumenüberbelastung der Ventrikel und primärer Auslöser für das ventrikuläre Remodeling [93, 94].

Verschiedene Studien belegen, dass der anfängliche Nachweis einer geringgradigen vaskulären Entzündung sowie der Nachweis proinflammatorischer Mediatoren mit einer späteren ventrikulären Dysfunktion in Verbindung stehen [93].

Durch einen systemischen Anstieg der inflammatorischen Mediatoren wie Zytokine und Chemokine (v. a. MCP1, TNFalpha, TGFbeta, IL6, IL8, Selektine, Transmigrine) werden Monozyten aktiviert, binden sich aktivierte inflammatorische Zellen an das Endothel und transmigrieren in das kardiovaskuläre Gewebe [94].

Die Rekrutierung von zirkulierenden Entzündungszellen und die Transmigration durch das Endothel, vermittelt durch Adhäsine, Transmigrine und den Chemokin-Gradienten und die Monozytenakkumulation, stellt den Beginn der vaskulären Entzündung dar [94].

Einmal in das kardiovaskuläre Gewebe infiltriert differenzieren sich Monozyten in Makrophagen und steuern Prozesse wie Entzündung, Gewebsverletzung, Wundheilung sowie Fibrosebildung, Neoangiogenese und Synthese der extrazellulären Matrix.

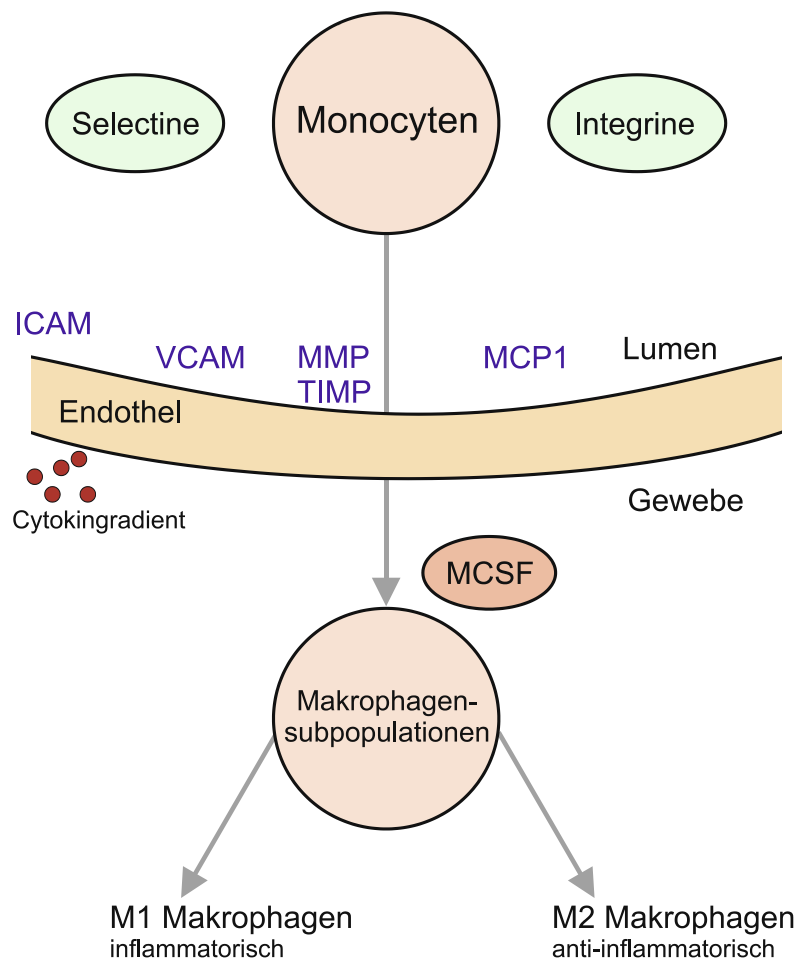
Die Aktivierung von Makrophagen und deren Funktionen wird durch komplexe Zell-Zell-Interaktionen sowie durch das Milieu von ausgeschütteten pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen, profibrotischen Mediatoren, Chemokinen und Wachstumsfaktoren gesteuert [95].

Diese komplexen Wechselwirkungen im erkrankten Gewebe steuern die Spezifität der Makrophagenaktivierung und den Phänotyp der Makrophagen: auf der einen Seite den

pro-inflammatorischen Typ 1 (M1) oder auf der anderen den antiinflammatorischen, pro-Remodelling Typ 2 (M2) [83].

So können vom Knochenmark abstammende mesenchymale Stromazellen nach einem Herzinfarkt in das Herzgewebe infiltrieren und durch die Ausschüttung von IL-10 die Umschaltung von inflammatorischen Makrophagen in eine antiinflammatorische Zellfunktion initiieren [96].

Durch die Plastizität der Makrophagen, bei der eine Reprogrammierung stattfindet, ist es im chronisch erkrankten Gewebe möglich, ortsansässige myokardiale Makrophagen zu M2-Makrophagen zu aktivieren [95, 97, 98].



Graphik 5. Darstellung der Transmigration von Blut im Gewebe und Stimulation der Makrophagen-subpopulationen M1 und M2. Auszug aus Quelle: Glezeva N, Baugh JA. Role of inflammation in the pathogenesis of heart failure with preserved ejection fraction and its potential as a therapeutic target. Heart Fail Rev. 2014 Sep;19(5):681-94.

In einer physiologischen Wundheilungssituation wandern die Makrophagen in das betroffene Gewebe ein, prozessieren die Verletzung, leiten die Heilung des Gewebes ein und verlassen anschließend das betroffene Gewebe wieder oder gehen durch Apoptose selbst zugrunde.

Hier haben die Immunzellen eine protektive Funktion, indem sie den kardialen Stress kompensieren und bewältigen.

Im Krankheitsfall, zum Beispiel bei einer anhaltenden Hypertension, kommt es zu einer übermäßigen Verletzung des Gewebes und einem dauerhaften Vorhandensein von aktivierten Makrophagen, die mit einer unkontrollierten, exzessiven

Entzündungsreaktion, einer Gewebsschädigung sowie einem fehlgesteuerten Gewebe-Remodeling einhergehen [95, 99].

Daher könnten spezifische Monozyten- und Makrophagensubklassen hochinteressante diagnostische Marker für kardiovaskuläre Erkrankungen sein [83].

Eine chronische Volumen- und Drucküberbelastung des Ventrikels führt zu persistierenden Mikrotraumen mit einem anhaltend hohem Level an proinflammatorischen Mediatoren (z. B. MCP1, TNF-alpha) und aktivierten Makrophagen, was wiederum in einer unkontrollierten Entzündungsreaktion und einem ventrikulärem Remodeling mündet [33].

Der Anfang von Entzündungsreaktion und Fibrosebildung im hypertensiven Herzen kann aber neben der Drucküberbelastung auch durch oxidativen Stress, durch die Aktivierung des Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), der Überstimulation des beta-adrenergen Systems oder von Immunzellen ausgeschüttete inflammatorische Zytokine ausgelöst werden [85, 100].

Diese Prozesse führen zu einer linksventrikulären Hypertrophie, zu myokardialer Fibrose, Ischämie, Myozytenschädigung, endothelialer Dysfunktion und erhöhter myokardialer Steifigkeit [7].

Verschiedene Studien belegen eine klare Verbindung zwischen Entzündungsprozess und Fibroseentstehung, wobei die Entzündungsreaktion das anfängliche Ereignis darstellt, das den Beginn der Fibroseentstehung im perivaskulären Bindegewebe auslöst, die sich dann nach und nach in das Interstitium ausbreitet [100-102].

Vor allem TGF-beta induziert die Kollagenproduktion und stimuliert die Differenzierung von Fibroblasten in Myofibroblasten, was zu einer veränderten ECM-Homöostase führt [82, 102].

Außerdem gibt es analog einen Zusammenhang zwischen dem Nachlassen der linksventrikulären Funktion und einem erhöhten Level an interstitieller Fibrose [103].

So werden verschiedene kardiovaskuläre Erkrankungen meistens von einer versteckten geringgradigen Entzündung (Low Grade Inflammation) begleitet und die heterogene Gruppe von Monozyten mit ihren Subtypen reagiert schnell und direkt auf pathologische

Veränderungen im Organismus [99]. Daher könnten Makrophagen ein idealer Biomarker für kardiovaskuläre Erkrankungen sein.

Interessant ist, dass auch typische Nebenerkrankungen der terminalen Herzinsuffizienz wie die Hypercholesterinämie, arterielle Hypertonie, Koronararteriosklerose, Übergewicht und Diabetes mit einer niedriggradigen systemischen Entzündung einhergehen (erhöhter Level an IL6 und TNFalpha) [82] und es einen klaren Zusammenhang zwischen Übergewicht, Inflammation und kardiovaskulärer Erkrankung gibt. Daher werden in dieser Arbeit die Nebenerkrankungen in Hinblick auf Anzahl aktivierter Makrophagen, Fibroseentstehung und Outcome gesondert untersucht und ausgewertet.

Bis in die späten 1980er Jahre nahm man an, dass die Monozyten eine homogene Zellgruppe darstellen, bis die Existenz von verschiedenen Untergruppen nachgewiesen wurde [104].

Bei der weiteren Suche nach geeigneten klinischen Biomarkern für kardiovaskuläre Erkrankungen stieß man auf verschiedene Subtypen von Makrophagen und es zeigte sich eine große Heterogenität der Monozytenpopulation [95].

Der bekannteste, dafür aber wenig spezifische Marker, dessen Expression sich auf den Monozyten während einer Entzündung verändert, ist CD16.

Generell werden beim Menschen die Makrophagensubtypen nach dem Level an CD14- oder CD16-Zelloberflächenexpression subklassifiziert und man unterscheidet in classical CD14⁺⁺CD16, intermediate CD14⁺⁺CD16⁺ und non classical CD14⁺CD16⁺⁺ [105].

Es gibt verschiedene Ansätze zur Detektion der zirkulierenden aktivierten Monozyten, die mit kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert sind, so zum Beispiel die quantitative Analyse durch Auszählung der Makrophagen im histologischen Schnitt. Durch immunhistochemische Untersuchungen lassen sich die verschiedenen Makrophagensubpopulationen unterscheiden und durch Zuhilfenahme von Immunofluoreszenz-Untersuchung können diese wiederum subklassifiziert werden.

Bei der Durchflusszytometrie basiert die Monozytensubklassifizierung auf der quantitativen Auswertung der Oberflächenexpression von CD16 und CD14, wobei für

die korrekte Identifikation der Monozyten und dessen Auswertung ein dritter Pan-Monozyten-Marker benötigt wird.

Die Gruppe um Kzyshkowska aus Heidelberg/ Mannheim konnte Stabilin-1 als einen neuen monozytenexprimierten Biomarker für eine niedriggradige Typ-2-Entzündung in Patienten mit Hypercholesterinämie sowie Atherosklerose ausmachen [84].

Stabilin-1 ist dabei ein spezifischer Marker für alternativ aktivierte Makrophagen, die die chronisch anhaltende Entzündung unterstützen und die Fibrosebildung im Rahmen des Heilungsprozesses induzieren [86].

Die in dieser Arbeit verwendeten Marker CD68, CD163, CD14 und Stabilin-1 stammen alle aus der Gruppe der phagozytären Typ-2-Makrophagen.

So lassen sich anhand von CD-Markierungen verschiedene Makrophagensubtypen nach ihrer Funktion und Lokalisation klassifizieren. Im Allgemeinen unterscheidet man je nach Lokalisation der Makrophagen oder Monozyten ortsständige und frisch infiltrierende Zellen sowie Pan-Makrophagen-Marker, die alle aktivierten Zellen anzeigen. Andere Studienansätze teilen die Makrophagenpopulation je nach Funktion in „resident“, „patrolling“, „inflammatory“ oder „reparative“ ein [95, 98].

Die CD14-markierten Zellen stehen für die Gruppe der frisch infiltrierten Monozyten, der also gerade aus dem Blut eingewanderten. CD163 ist ein Haptoglobin-Rezeptor, der stärker an Monozyten als an Makrophagen bindet. CD68 ist ein Pan-Makrophagen-Marker, der alle aktivierten Zellen abbildet und Stabilin-1 ist ein spezifischer profibrotischer Marker.

Es ist bekannt, dass die Konzentrationen der proinflammatorischen Zytokine wie Interleukin-6 und Interleukin-8 sowie die myokardiale Expression des Tumornekrosefaktors alpha, eines proinflammatorischen Zytokins, das charakteristischerweise bei der terminalen Herzinsuffizienz vermehrt gebildet wird, unter VAD-Therapie signifikant abnehmen [94, 106, 107].

Daher ist der proinflammatorische Zustand des Myokards bei der terminalen Herzinsuffizienz durch Entlastung des Ventrikels unter VAD-Therapie reversibel und Subklassen von aktivierten Makrophagen könnten interessante Marker für das Monitoring des Entzündungsstatus sein [83].

Wie die Gruppe um Wassilew aus Berlin zeigen konnte, spielt bei der Ausprägung des Cardiac Remodeling und damit verbunden die Möglichkeit der myokardialen Erholung unter VAD-Therapie, vor allem der Phänotyp der infiltrierten Makrophagen und hier im Besonderen das Vorhandensein von M2 –Makrophagen, eine entscheidende Rolle [87]. So kommt es im Gewebe mit einer hohen Expression an Stabilin-1-positiven Makrophagen zu größeren chronischen Entzündungsinfiltraten und in der Konsequenz zu größeren fibrotischen Arealen und Narbengewebeanteilen. In dieser Arbeit wurde Stabilin-1 als ein spezifischer Marker für alternativ aktivierte Makrophagen identifiziert [86].

Stabilin-1 könnte so ein potentieller funktioneller Biomarker für die profibrotische alternative Makrophagenaktivierung sein und vor allem bei DKMP-Patienten, die eine VAD-Therapie erhalten, als Marker für einen Weaning-Erfolg dienen, der vom Stadium der Erkrankung und damit von der Größe der Fibrose- und Narbenareale im Herzmuskelgewebe abhängig ist [84].

2.4.3 Extrazelluläre Matrix, Kollagen Typ I und II und Fibrosegrad

Die extrazelluläre Matrix besteht aus dem extrazellulären Volumen, auch das Interstitium genannt, das sich aus den Gefäßen, Nerven, Lymphgefäßen und kollagenen Fasern zusammensetzt.

Die extrazelluläre Matrix des Herzens ist für die Übertragung der kontraktiven Aktivität der Kardiomyozyten verantwortlich und gewährleistet die korrekte Anordnung der Myozyten im Myokard und der Myofibrillen innerhalb der Myozyten [108].

Das Remodeling der extrazellulären Matrix und im Besonderen die Veränderungen des Kollagengehalts der Subtypen I und III sowie dessen Quervernetzung sind zentraler Bestandteil der Umbauprozesse bei der chronischen Herzinsuffizienz, die zu einer Ventrikeldysfunktion führen [109].

Durch die Herzinsuffizienz ist der Turnover-Prozess der extrazellulären Matrix, der durch die Metalloproteinasen gesteuert wird, massiv gestört.

Im Krankheitsverlauf kommt es zur Hochregulierung der Matrix-Metalloproteinasen durch Dehnung der Kardiomyozyten, während ihre Antagonisten, die tissue inhibitors of

matrix metalloproteinases, herunterreguliert werden. Dadurch kommt es zu verstärktem Abbau des bindegewebigen Gerüsts des Herzens mit progredienter Ventrikeldilatation [110].

Durch die weitere Hochregulierung der proinflammatorischen Mediatoren (MCP1 und ICAM1) im chronischen Stadium werden vermehrt fibrilläres Kollagen abgelagert und aus kardialen Fibroblasten Myofibroblasten gebildet und es findet ein gesteigertes Kollagen-Crosslinking mit Fibrosebildung statt, was in der Konsequenz zu einer Erweiterung des normalen kardialen Interstitiums zu Lasten des Myokards führt mit den bekannten Folgen wie Steifheit der Ventrikel, verringerte Kontraktilität der Kardiomyozyten, verzögerte Ventrikelfüllung sowie Ventrikeldilatation [109].

Nach LVAD-Therapie beobachtet man eine Umkehr dieses Prozesses mit einem verminderten Turnover, wofür die Abnahme der Wandspannung durch MCS verantwortlich gemacht wird [111].

Ein besonders hoher Kollagengehalt des Herzmuskelgewebes ist verbunden mit einer abnormalen Steifheit des Ventrikels, wohingegen die Abnahme des Kollagengehalts mit einer verbesserten myokardialen Funktion verbunden ist [42].

Kollagen I ist der Hauptkollagenanteil, der für die Myozyten-Kollagen-Matrix-Verbindung verantwortlich ist, und Veränderungen seines Anteils und seiner vermehrten Ablagerung führt vor allem zu Veränderungen der linksventrikulären Größe sowie zu Steifigkeit [108]. Kollagen III hingegen ist vor allem für die Elastizität des Myokards verantwortlich.

Bei der dilatativen Kardiomyopathie kommt es zu einer Abnahme des Kollagen Typ I, einer Abnahme der Typ-I-/Typ-III-Ratio und des Crosslinking sowie zu einer Zunahme der Fibrose, die zu Steifigkeit der Ventrikel und einem krankhaft veränderten Kontraktions-Relaxations-Ablauf des Ventrikels führt [112]. Frisch gebildetes Kollagen III dagegen wird für die Dilatation der Ventrikel verantwortlich gemacht.

Durch LVAD kommt es zu einer Abnahme der Gesamtmenge an Kollagen Typ I und III sowie zu einer Abnahme des Kollagen-Crosslinking, das mit einer reduzierten myokardialen Steifigkeit einhergeht [40].

Allerdings besteht nach wie vor eine kontroverse Diskussion darüber, wie die LVAD-Therapie den Kollagengehalt des Herzmuskels beeinflusst. Während die meisten

Studien einen Abfall des Kollagengehalts unter mechanischer Kreislaufunterstützung ausmachen konnten, zeigten andere Studien eine Zunahme des Gesamtkollagengehalts im Herzen [103, 113]. Gründe für diese widersprüchlichen Ergebnisse könnten in der unterschiedlichen begleitenden pharmakologischen Therapie, der verschiedenartigen Analyse des Kollagengehalts zum einen histochemisch mit Siriusrot und zum anderen mit biochemischen Assays und zuletzt, wie Bruggink und Kollegen vorschlugen, in den möglichen biphasischen Veränderungen des extrazellulären Matrixumbaus liegen [113]. In dieser Studie nahm das extrazelluläre Matrixvolumen in den ersten 200 Tagen nach LVAD-Therapie zu und zwischen 200 und 400 Tagen nach MCS wieder ab [113].

Fraglich ist auch, ob allein die Menge des Gesamtkollagengehalts ein Prädiktor für einen Weaning-Erfolg ist oder ob nicht die Infrastruktur der extrazellulären Matrix und dessen Umbau mit zu berücksichtigen sind.

Zwei Studien konnten zeigen, dass Patienten, die erfolgreich vom Assist Device entwöhnt wurden, eine signifikante Veränderung des Kollagengehalts in Korrelation zum klinischen Ergebnis aufwiesen [42, 81].

In der ersten Studie nahm der Fibrosegrad, verglichen prä- und post- Assist, bei allen Patienten unter MCS-Therapie ab und bei den erfolgreich entwöhnten Patienten war der Fibrosegrad geringer als bei den Patienten, bei denen das Device nicht entfernt werden konnte [58].

In der zweiten Studie konnten Müller und Kollegen bei Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie nicht ischämischer Genese eine massive Abnahme des Fibrosegrades hin zu fast normalen Werten unter LVAD zeigen, die zu einer funktionellen Myokarderholung führte [53].

Auch Burkhoff und Kollegen beschreiben unter VAD-Therapie eine normalisierte MMP-1/TIMP-1-Ratio, einen gesteigerten Angiotensin-I- und II-Level (Regulatoren der Kollagensynthese), einen Shift der Kollagen I- und Kollagen-III-Ratio in Richtung steiferes Typ-I-Kollagen sowie einen gesteigerten Gesamtkollagengehalt [34, 39].

In einer weiteren Untersuchung konnte bei ACE-Hemmer-Gabe unter VAD-Therapie ein verminderter Spiegel an Angiotensin II, sowie eine Verminderung von myokardialer Steifigkeit und Gesamtkollagengehalt nachgewiesen werden [66].

Der Serumspiegel von pro-BNP wird im klinischen Alltag als diagnostischer Marker für die Volumenüberlastung des Herzens und zum Monitoring der Behandlung der Herzinsuffizienz verwendet [114]. Tierexperimentelle Studien mit Gene-Knock-Out-Mäusen für BNP-Rezeptoren legen nahe, dass pro-BNP protektive Effekte auf die kardiale Fibrosebildung hat, daher wird in dieser Arbeit der Laborparameter pro-BNP in Bezug auf das Ausmaß an interstitieller Fibrose ausgewertet.

Es wird angenommen, dass eine Verschlechterung der linksventrikulären Funktion häufig mit einem erhöhten Fibroselevel einhergeht. Die Bildung der interstitiellen Fibrose wiederum wird vor allem durch das angeborene Immunsystem und im Besonderen durch die alternativ aktivierten Makrophagen mediiert. Die immunpathologischen Mechanismen, die hinter dem Cardiac Remodeling bei Patienten mit IDCMP stehen, sind bisher wenig verstanden. Der Grad an interstitieller Fibrose sowie der Gesamtkollagenanteil vom Subtyp I und III in Verbindung mit aktivierten Makrophagensubpopulationen bei Patienten, die wegen terminaler Herzinsuffizienz eine LVAD-Therapie erhalten, könnten interessante Rückschlüsse auf das Reverse Cardiac Remodeling erlauben und als mögliche Weaning-Marker dienen.

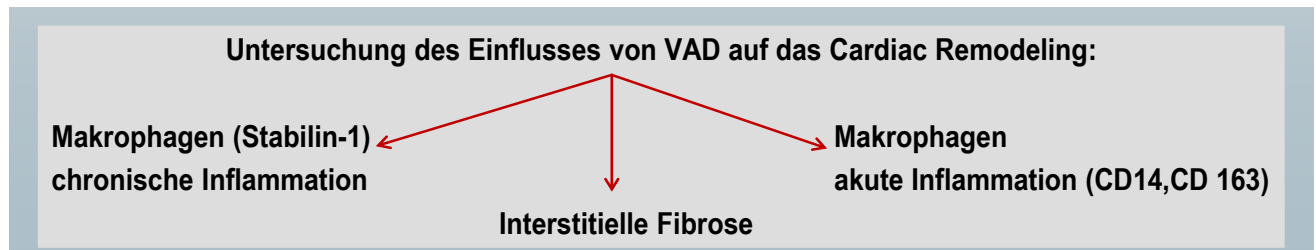
2.5 Fragestellung

Das Nachlassen der linksventrikulären Funktion korreliert mit einem erhöhten Level an interstitieller Fibrose. Für die Bildung der interstitiellen Fibrose sind vor allem alternativ aktivierte Makrophagen (M2) verantwortlich.

In der vorliegenden Arbeit wurden Exzisate vom linken Ventrikel, die zum Zeitpunkt der LVAD-Implantation gewonnen wurden, mit Herzmuskelexzisaten, die zum Zeitpunkt der Transplantation, während des Weanings oder Autopsie gewonnen wurden, miteinander verglichen.

Die quantitative Analyse des Levels an Makrophagen, die für eine chronisch anhaltende Entzündung stehen (Stabilin-1) sowie das Niveau an frisch infiltrierenden Makrophagen (CD14 und CD163), des Levels an interstitieller Fibrose und dem Gehalt an Kollagen I

und III und diese im Vergleich im Herzmuskelgewebe vor und nach LVAD-Therapie könnten wichtige Erkenntnisse darüber liefern, welchen Einfluss die mechanische Kreislaufunterstützung auf das Reverse Remodeling hat (Grafik 6).



Grafik 6. Einfluss von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen auf Makrophagen und fibröses kardiales Remodeling

Bei dieser Arbeit stellen sich folgende Fragen:

1. Welchen Einfluss haben Kreislaufunterstützungssysteme auf das Herzmuskelgewebe und im Besonderen auf den Level an verschiedenen Subtypen von aktivierten Makrophagen (CD163, CD68, CD14, Stabilin-1), auf den Level an interstitieller Fibrose sowie auf den Kollagen-I- und -III-Gehalt?
2. Haben Kreislaufunterstützungssysteme einen positiven Einfluss auf das Reverse Cardiac Remodeling und gibt es einen Zusammenhang zwischen dem Level an verschiedenen Subtypen von positiv markierten Makrophagen, dem interstitiellen Fibroselevel, dem Kollagen-I- und III-Gehalt sowie deren Einfluss auf das Outcome (Weaning vs. Non-weaning)?
3. Könnten Subtypen von positiv markierten Makrophagen mögliche Biomarker für ein erfolgreiches Weaning vor Therapiebeginn sein oder während der Behandlung zum Monitoring eines Weaning-Erfolgs dienen?
4. Haben demographische und klinische Faktoren wie Patientenalter, Geschlecht, Dauer der Erkrankung, Dauer der LVAD-Therapie, links-, bi- oder rechtsventrikuläre Systeme, Nebenerkrankungen, Serumlevel von pro-BNP und begleitende medikamentöse Therapie einen Einfluss auf die oben beschriebenen Fragestellungen?

Dabei ist die Hypothese, dass, verglichen mit dem Level vor Therapiebeginn, unter LVAD-Therapie durch Druck- und Volumenentlastung des linken Ventrikels die Entzündungsprozesse im Myokard rückläufig sind und nach der Kreislaufunterstützung ein geringerer Level an aktivierten Makrophagen vorliegt.

Bezüglich des Levels an interstitieller Fibrose und des Gehalts an Kollagen I und III erwarten wir abhängig von der Dauer der LVAD-Therapie und dem Zeitpunkt der Probenentnahme erhöhte Niveaus.

3. Patienten und Methodik

3.1 Patientengruppen, Therapieparameter, mechanische Kreislaufunterstützungssysteme, Vergleichsgruppe

3.1.1 Patienten

Untersucht wurden 12 Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie, die von 2010 bis 2013 am DHZB mit einem VAD behandelt wurden.

In der untersuchten Gruppe waren 7 Männer im Alter von 2 bis 60 Jahren und 5 Frauen im Alter von 1 bis 60 Jahren.

Die Patienten waren zwischen 6 und 544 Tagen an Assist-Systemen angeschlossen. Implantiert wurden RVAD-, BVAD- und LVAD-Systeme, die in Tabelle 1 aufgeschlüsselt werden.

Bei keinem der Patienten gab es den angiographischen Nachweis einer Koronarstenose, keine Exzisate zum Zeitpunkt der VAD-Implantation zeigten einen histologischen Hinweis einer akuten Myokarditis, bei allen Patienten war der PCR-Nachweis für Zytomegalievirus, Enterovirus und Adenoviren negativ, ebenso die in-situ-Hybridisation für diese Viren wie auch für Coxsackie-Viren, Epstein-Barr-Viren und Herpes-Viren. Bei einem Patienten konnte die kardiale Manifestation einer Sarkoidose histologisch nachgewiesen werden.

Alle untersuchten Patienten waren zum Zeitpunkt der VAD-Implantation an einer terminalen Herzinsuffizienz erkrankt und erhielten eine positiv inotrope Medikation ohne die Möglichkeit einer Entwöhnung von den Katecholaminen.

Gemäß den Standards am DHZB wurden während der LVAD-Therapie alle Patienten mit beta-Blockern, Angiotensin-Converting-Enzyme-Inhibitoren, niedrig dosierten Schleifendiuretika und Digitalis behandelt.

Die medikamentöse Therapie wurde individuell auf jeden Patienten angepasst, um die kardiale Arbeit möglichst weit zu optimieren mit einer HF von 55/min und einem niedrigen arteriellen Blutdruck bei guter renaler Funktion und Ausscheidung sowie ausgeglichenem Elektrolythaushalt.

Die LVAD-Implantations- und Explantationsverfahren sind am DHZB standardisierte Prozeduren, um bei einem potentiell erhaltenen Herzen das Unterstützungssystem möglichst schonend zu entfernen [23].

3.1.2 Therapieparameter und Assist-Systeme

Patient	Geschlecht	Alter in Jahren bei Implantation	Tage am Assist-System	Assist-System	Outcome
1	f	1	411	1	HTx Herz-Domino
2	m	58	21	2	HTx Herz-Domino
3	m	2	28	3	HTx Herz-Domino
4	m	8	34	2	HTx Herz-Domino
5	m	43	106	2	HTx Herz-Domino

6	m	51	19 + 544	4 + 2	HTx Herz-Domino
7	f	60	113	2	HTx Herz-Domino
8	m	61	215	2	HTx Herz-Domino
9	f	17	76 + 1	2 + 4	HTx Herz-Domino
10	m	45	227 + 28	2 + 4	HTx Herz-Domino
11	f	1	90 + 90	2 + 5	Erfolgreich Entwöhnt
12	f	32	6	2	Verstorben
1= Berlin Heart BVAD					
2 = Heart Ware LVAD					
3 = Berlin Heart LVAD					
4 = Levitronix RVAD					
5 = Berlin Heart RVAD					

Tabelle 1. Übersicht der Therapieparameter bei dem untersuchten Kollektiv

Die oben abgebildete Tabelle gibt einen Überblick über Alter, Tage am Assist-System, Geschlecht, verwendete Assist-Systeme und das Ergebnis nach der Assist-Explantation. Diese Daten wurden neben den klinischen Parametern gegenüber den histologischen Auszählungen und Messungen statistisch ausgewertet.

3.1.3 Patientenauswahl

Für diese Arbeit wurden bis auf einen Patienten ausschließlich Patienten mit einer idiopathischen dilatativen Kardiomyopathie ausgewählt, da in dieser Gruppe die Möglichkeit für eine myokardiale Erholung und damit die Möglichkeit einer VAD-Entfernung in rund 8 % der Fälle besteht [56].

Diese Arbeit stützt sich auf die Definition und Klassifikation der Kardiomyopathien nach AHA (2006) und Mestroni und Kollegen, nach der die Kardiomyopathien eine heterogene Gruppe von Erkrankungen des Myokards mit mechanischer und/oder elektrophysiologischer Dysfunktion sind, die ihren Ausgang in der Regel in einer Ventrikelhypertrophie oder -dilatation findet und eine Reihe unterschiedlicher meist genetischer Ätiopathogenesen hat [115].

3.1.4 Vergleichsgruppe

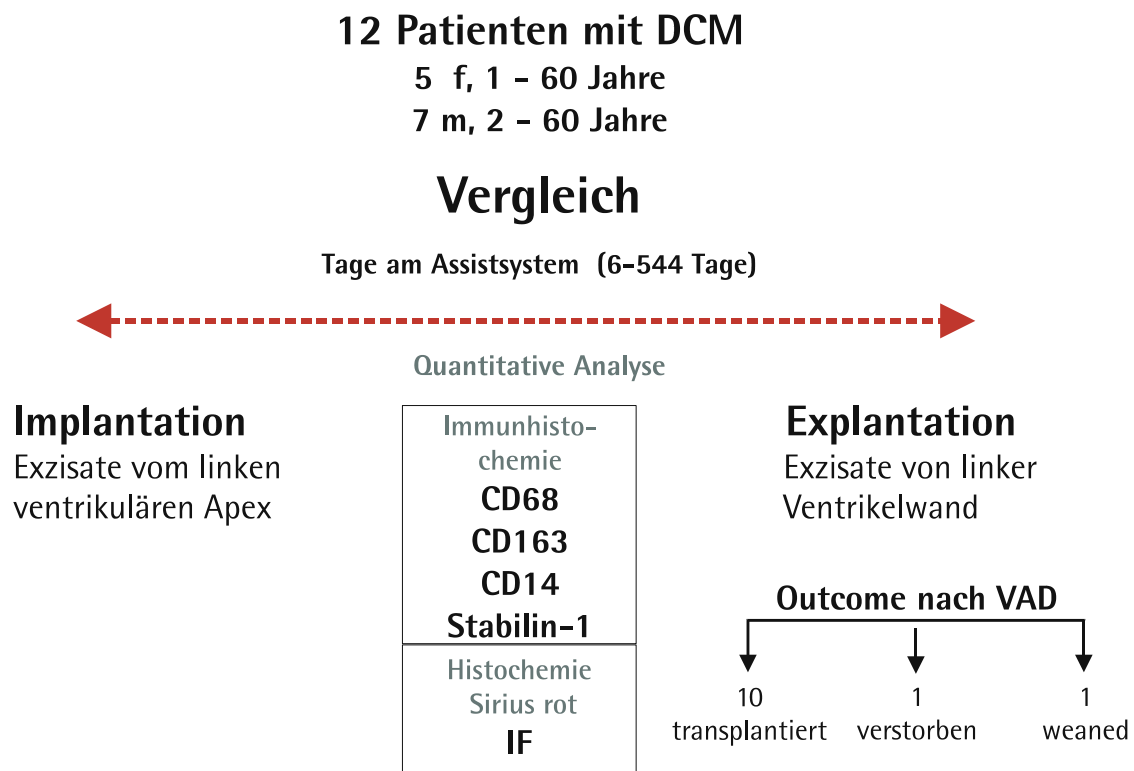
Die Vergleichsgruppe bestand aus den Empfängern von 10 Spenderherzen (Homograftherzen), die am DHZB im Zeitraum von 2011 bis 2013 transplantiert wurden und bei denen vorab eine Biopsie aus dem Apex des linken Ventrikels entnommen wurde.

3.2 Methodik

3.2.1 Vergleich der Parameter von Herzmuskelexzisaten während Implantation und nach Explantation von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen

Bei allen Patienten wurden Exzisate vom linken ventrikulären Apex zum Zeitpunkt der Implantation des Kreislaufunterstützungssystems gewonnen (prä-Assist). Die Exzisate repräsentieren das Gewebe der ausgestanzten Implantationsstelle. Zum Zeitpunkt der Explantation (post-Assist) wurden Exzisate aus der linken Ventrikelwand in der unmittelbaren Umgebung der Implantationsstelle des LVAD entnommen, welche jedoch einen geringen Abstand zum an das Assist-System angrenzende Narbengewebe aufweisen. Als post-Assist-Gewebeproben dienten die explantierten nativen Herzen von 10 Patienten, das post mortem untersuchte Herz einer im Therapieverlauf verstorbenen Patientin sowie ein Exzisat des linksventrikulären Apex, welches während des erfolgreichen Weanings vom Assist-System einer Patientin gewonnen werden konnte.

Die gewonnenen Exzisate wurden in Formalin fixiert. Die Paraffinschnitte wurden konventionell histologisch und mittels Spezialfärbungen (Kongorot, PAS, PAS-Diastase, Berliner Blau) zum Ausschluss einer Amyloidose, einer Stoffwechselerkrankung, insbesondere einer Hämosiderose sowie Veränderungen, welche auf ischämische Veränderungen hinweisen würden, untersucht. Ferner wurde der Fibrosegehalt histochemisch mit Siriusrot hervorgehoben. Die Makrophagenpopulationen wurden immunhistochemisch mit C 68, CD163, CD14 und Stabilin-1 aufgearbeitet.



Grafik 7. Studiendesign und Methodik der Untersuchung

Mit Hilfe des Mikroskops und einer speziellen für die Auswertung entworfenen Software (nähere Erläuterungen hierzu siehe 3.2.2) wurden positiv markierte Makrophagen ausgezählt und Fibrose- und Kollagenareale im Verhältnis zum Gesamtvolumen ausgemessen.

Zwölf randomisiert ausgewählte Messfelder im Mikroskop entsprechen der quantitativen Auswertung von 1 mm².

Bei der Analyse der Auszählung der positiv markierten Makrophagen wurden aus den Ergebnissen der 12 Felder Mittelwerte gebildet und statistisch ausgewertet.

Für die Flächenauswertung der interstitiellen Fibrose und des Kollagengehalts wurden Flächenanteile in Prozentwerten nach 12 Messungen ermittelt.

Die Messergebnisse aus Herzmuskelpräparaten, die von der Implantation des VAD gewonnen wurden, wurden mit denen verglichen, die bei der Explantation des VAD gewonnen wurden.

3.2.2 Spezialfärbung der Exzisate: histochemische Anfärbung der Kollagenfasern: Siriusrot, Kollagen Typ I und III und immunhistochemische Analyse der Makrophagenmarker CD163, CD14, CD168 und Stabilin-1

Im Rahmen der Implantation und der Explantation der VAD wurden Exzisate aus dem linken ventrikulären Apex und der linken Ventrikelwand gewonnen.

Das so gewonnene Untersuchungsmaterial wurde sofort in 4%-ig gepuffertem Formalin nach Lillie fixiert, um so ablaufende autolytische Prozesse so gering wie möglich zu halten. Bei der Einbettung des Gewebes wurde den Proben Wasser entzogen und der dabei auftretende Schrumpfungprozess führte zu einer Verdichtung und Härtung des Gewebes. Zur Entwässerung wurden Alkohole in aufsteigenden Konzentrationen verwendet, als Einbettungsmedium wurde Paraffin verwendet, das sich nicht in Alkohol löst. Als Intermedium wurde Xylol verwendet, das den Alkohol aus dem Gewebe verdrängt und sich dem Einbettungsmedium Paraffin vermischt.

Im Anschluss wurde das Gewebe mit Hilfe einer Paraffin-Ausgießstation aufgedockt und durch eine Kühlplatte abgekühlt.

Die gekühlten Blöcke wurden in 3 µm dicke Schnitte aufbereitet. Anschließend wurden diese in einem Wasserbad gestreckt, auf einen Objektträger gezogen und getrocknet.

Aus den getrockneten Schnitten wurde das Intermedium Xylol aus dem Paraffin herausgelöst. Um in den Schnitten die Aufnahme von wässrigen Farbstofflösungen zu ermöglichen wurden sie zur Rehydrierung in absteigenden Alkoholreihen überführt und in destilliertem Wasser gespült.

Im Anschluss wurde die jeweilige Färbung mit Siriusrot beziehungsweise die immunhistochemische Behandlung mit CD163,14,168 durchgeführt.

In der Siriusrot-Bindegewebsfärbung grenzt sich das sonnengelbe Zytoplasma der Herzmuskelzellen deutlich von der rot dargestellten Fibrose und den rot dargestellten Narben ab. Die Kernstrukturen stellen sich durch das Eisenhämatoxylin blau-schwarz dar.

In den immunhistochemisch bearbeiteten Präparaten stellen sich die Zellkerne von aktivierten Makrophagen mit einer deutlichen Rotfärbung dar.

Die immunhistochemische Analyse und Auswertung der Stabilin-1-markierten Makrophagen mit Doppel-Immunofluoreszenz- und Konfokalmikroskopie wurde von unseren Kollegen der Forschungsgruppe Kzhyshkowska in Heidelberg-Mannheim durchgeführt.

3.2.3 Mikroskop und digitale Bildanalyse

Mit Hilfe des Mikroskops (Nikon Eclipse Ni einem Kameraufsatz DS-Fi2) und einer speziell für die Auswertung von aktivierten Makrophagen, interstitieller Fibrose, Kollagen Typ I und III entworfenen Software (Nikon NIS Elements 4.10) wurden die histologischen Präparate ausgewertet.

Bei der Arbeit mit dem Mikroskop wurde das Präparat zunächst ohne Zuhilfenahme des Mikroskops betrachtet und auf Defekte des Objektträgers, Luftblaseneinschlüsse und Größe des Exzissats geachtet.

Gearbeitet wurde mit einer Vergrößerung von 1:400. Beim Scharfstellen des Mikroskops wurden im Makrophagenmessprogramm die Zellkerne primär fokussiert und im Fibrose- sowie Kollagenmessprogramm die Fibrose bzw. die Narben primär fokussiert. Zu Beginn der Messung wurde die erste Einstellung zufällig und in der Mitte des Myokards gewählt unter Ausschluss des Fettgewebes.

Im Anschluss wurde die Messung fortgesetzt, in dem das Präparat, im Myokardgewebe unter Vernachlässigung von Granulationsgewebe, Gefäßen, Nerven, und subendokardialen Myokardgewebe abgefahren wurde. Um nicht an gleichen Stellen noch einmal zu messen wurden markante Strukturen als „Wegweiser“ festgehalten. Bei 12 Feldern und bei einer Vergrößerung von 1:400 wurden für jedes Präparat 1 mm² randomisiert ausgewertet.

Die immunhistochemisch aufgearbeiteten und angefärbten Schnittpräparate der Exzissate wurden mit Hilfe einer speziell für die Bildanalyse entworfenen Software quantitativ analysiert (Nikon NIS Elements 4.10). Aufgrund der sehr dünnen Schnitte lassen sich die quantitativen Ergebnisse mit den semiquantitativen Ergebnissen der

Elektronenmikroskopie vergleichen, da die dritte Dimension von unterschiedlichen Zelltypen nahezu vernachlässigt werden kann.

Prinzipiell gibt es zwei verschiedene Methoden der Bildanalyse. Zum einen ein Zählprogramm für die Auswertung der aktivierten Makrophagen und zum anderen ein Flächenmessprogramm für die Bestimmung des Fibrose- und Kollagengehalts.

Bei der Makrophagenauszählung wird dabei zunächst das von der Kamera übertragene Bild abgespeichert und ein Schwellenwert geladen. Die CD- und Stabilin-1-markierten Makrophagenzellkerne setzen sich durch Ihre intensive Rotfärbung deutlich von den Kardiomyozytenzellkernen und anderen intra- und extrazellulären Strukturen ab.

Die Schwellenwertfunktion unterteilt das Bild in die Farbtöne Rot, Grün und Blau (RGB-Bild), und für alle Pixel des Bildes werden diese entsprechend markiert. Der Schwellenwert setzt nun Grenzen für jeden Farbton bezüglich des Intensitäts- oder Helligkeitswerts jedes Pixels und im Ergebnis entstehen geometrische Formen, die aufgrund Ihrer Farbmarkierung aktivierte Makrophagen darstellen könnten.

Das Laden des Schwellenwerts ist eine automatisierte Anwendung, die Schwellenwertgrenzen müssen manuell nachkorrigiert werden und so knapp gewählt werden, dass ausschließlich die Objekte von Interesse markiert werden.

Bei dieser Bildanalyse entsteht ein Binärbild nach dem On-Off-Prinzip, bei dem Pixel innerhalb der angegebenen Schwellenwertgrenze markiert werden und diejenigen, die herausfallen, unmarkiert bleiben. So werden neben Artefakten vor allem aktivierte Makrophagen, die CD oder Stabilin-1-markiert sind, dargestellt.

Die so entstandenen geometrischen Formen werden im Anschluss einer zweiten Selektion unterworfen.

Über ein Ausmessen der maximalen und der minimalen Längsausdehnung der markierten Zellkerne (max und min Feret) und das Setzen einer Grenze von 5 bis 20 Mikrometer kann das Ergebnis noch einmal spezifisch nach der Größe von Makrophagenzellkernen gefiltert werden.

Durch diese zweifache Selektion nach Farbintensität und Größe der abgebildeten Strukturen lassen sich treffsicher aktivierte Makrophagenzellkerne darstellen und

automatisiert auszählen. Jeder dieser Schritte bedarf aber der manuellen Nachbearbeitung, um Artefakte auszuschließen.

Die Ausmessung des interstitiellen Fibrose-, Narben- und Kollagenanteils beruht auf einer Flächenmessung mit dem Bildanalyseprogramm.

Zunächst wird auch hier ein Schwellenwert geladen und das zu analysierende Bild in ein RGB-Bild umgesetzt. Die rot angefärbten Fibrose-, Narben- und Kollagenanteile setzten sich deutlich im Binärbild ab. Im Anschluss werden mit den entsprechenden Tools die Narbenflächen herausgeschnitten, entsprechend andersartig farbig markiert und damit aus der Flächenberechnung ausgeschlossen. Die Software gibt nun den Flächenanteil der unterschiedlichen Binärbilder am Gesamtbild für die reine interstitielle Fibrose, den puren Narbenanteil und die gesamte Fibrosefläche an. So lassen sich über die Flächenanteile die Prozentzahlen der zu bestimmenden Größen ermitteln. Um festlegen zu können, welche Anteile zum Narbengewebe gehören, wurden markierte Flächen, die besonders kompakt und intensiv in ihrer Farbgebung waren sowie eine Dicke von drei übereinander gelagerten Kardiomyozytenzellkernen überschritten, als Narbengewebe identifiziert. Ferner wurden zur Beurteilung die umgebenden Strukturen wie Blutgefäße und Interstitium sowie die Textur der Farbfläche (aufgelockert-/faserartig vs. kompakt) hinzugezogen. Auch wenn diese Bildanalyse automatisiert erfolgt ist eine manuelle Anpassung in jedem Arbeitsschritt notwendig, um korrekte Ergebnisse zu ermitteln.

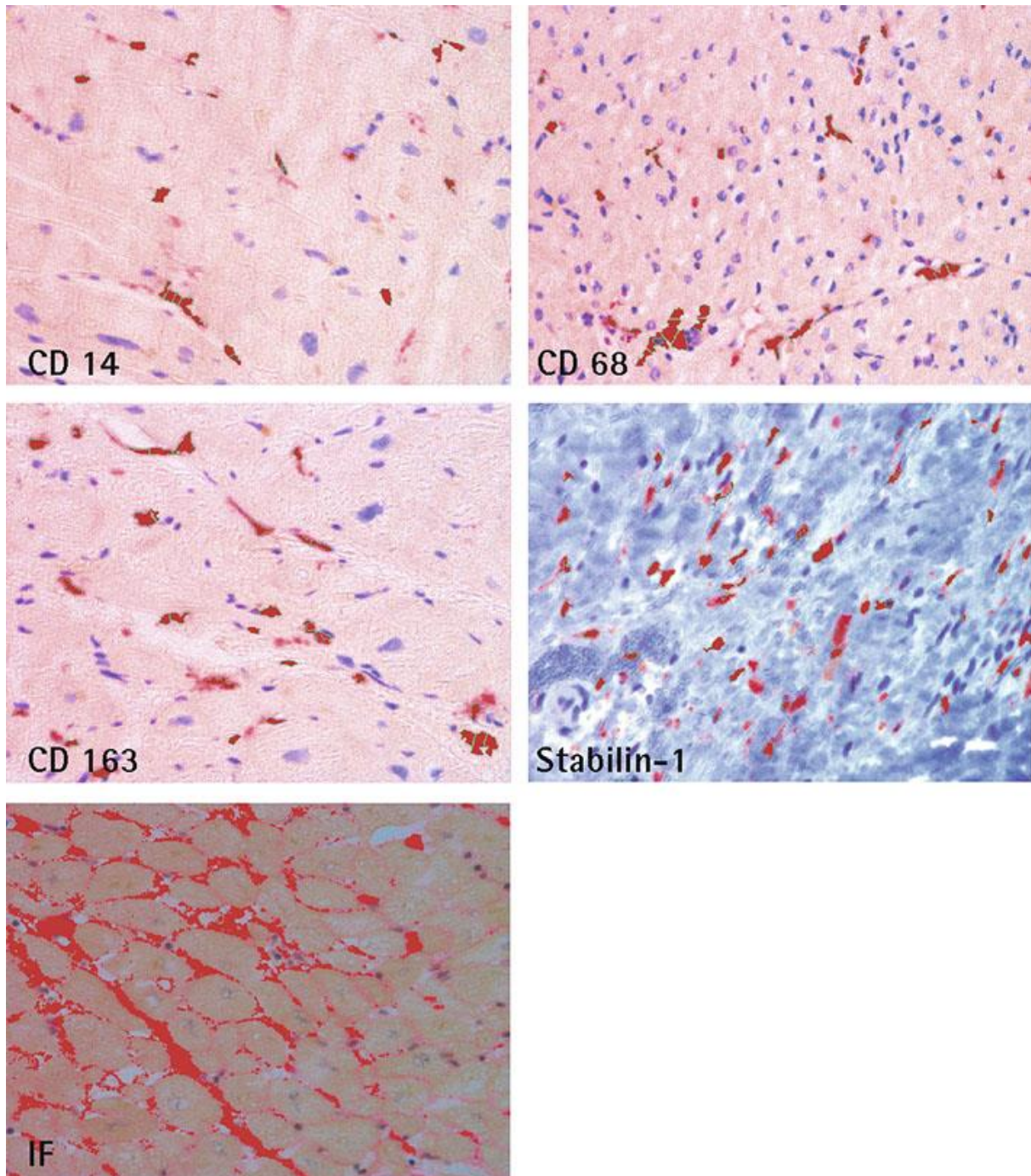


Abbildung 1. Darstellung histologischer Schnittbilder und Messfelder für Stabilin-1, CD14, CD16, CD68 aktivierte Makrophagen und interstitielle Fibrose

Legende: die Analyse der Stabilin-1-markierten Makrophagen wurde mit Hilfe der Triple Immunofluoreszenz und konfokalen Mikroskopie durchgeführt.

CD68-positive Makrophagen werden grün dargestellt, Stabilin-1-positive Makrophagen in rot und Zellkerne in blau. IF stellt die histochemisch mittels Siriusrot angefärbten kollagenen Fasern im Interstitium dar.

3.2.4 Fehleranalyse

Mit der Software Nikon NIS ist ein automatisiertes Arbeiten und Auswerten der Schnitte in vielen Fällen nicht möglich und jedes auszuwertende Feld bedarf der manuellen Nachbearbeitung unter Sichtkontrolle.

Im Folgenden werden kurz die Situationen beschrieben, bei denen eine automatisierte Auswertung zu falsch positiven oder negativen Ergebnissen geführt hätte und so manuell nachkorrigiert werden musste.

So werden beispielsweise bei der Ausmessung der positiv markierten Makrophagen bei der Programmfunktion „Schwellwert laden“ die roten Farbmarkierungen in einigen Fällen fehlerhaft angezeigt. So werden eng aneinander liegende Zellen mit einer gemeinsamen Farbfläche angezeigt. Eng zusammenliegende positiv markierte Makrophagen zeigt die Software im Ergebnis nur mit einer roten Farbfläche an und wird daher fehlerhaft als nur ein aktivierter Makrophage gezählt.

Hier ist mit der Korrekturfunktion die gesamte Farbfläche wegzunehmen und manuell unter Beurteilung der Zellkerne die Farbmarkierung so aufzuteilen, dass es der Anzahl der positiv markierten Zellkerne entspricht. Nur so kann eine korrekte Anzahl der positiv markierten Makrophagen ermittelt werden.

Ebenfalls fehlerhaft wird die Makrophagenanzahl registriert, wenn der Schwellenwert geladen wird und Lipofuszin oder rote Artefakte markiert werden und so falsch positive Ergebnisse entstehen. In diesen Fällen wurde auf das automatisierte Vorgehen verzichtet und unter visueller Kontrolle wurden die entsprechenden Farbfelder manuell markiert, die sich um die Zellkerne befinden.

Weiterhin haben im Zählprogramm für Makrophagen in einigen Feldern die roten Markierungen eine so starke Farbintensität, dass man nicht erkennen kann, ob sich unter der roten Färbung ein Zellkern befindet. In den meisten Fällen schimmert der Zellkern des Makrophagen durch die rote Markierung hindurch, dann kann die Zelle klar zur Zählung hinzugefügt werden. In einigen wenigen Fällen ist aber eine Zuordnung nicht ganz sicher. Hier wurde anhand von Größe und Form der roten Fläche jeweils individuell entschieden, ob es sich um einen aktivierten Makrophagen, einen

Färbeartefakt oder um ein Blutgefäß handelt und durch Ausradieren der Markierung kontrolliert, ob es sich um einen aktivierten Makrophagen handelt.

Eine Besonderheit des NIS-Programms ist, dass es über eine sogenannte „Randfunktion“ verfügt. Dabei werden farblich markierte Objekte, die sich zum Teil außerhalb des Bildfeldes befinden, gelb umrandet und nicht mitgezählt. Gerade bei großen Farbflächen, hinter denen sich mehrere Zellkerne befinden, würde dies zu falsch negativen Ergebnissen führen. Auch hier sind wieder unter Sichtkontrolle die ausgeschlossenen Farbflächen zu entfernen und manuell zu markieren.

In den mit CD163 markierten Präparaten sind die Färbungen oft sehr blass und nach einem Weißabgleich, der den Kontrast zwischen Zytoplasma und markierten Zellkernen verstärkt, blassen die Bilder oft noch weiter nach.

Als Lösung wird dann ein weiterer Weißabgleich an einer weiteren und dunkleren Stelle vorgenommen, so dass sich die Kontraste wieder verstärken und die rote Farbmarkierung deutlicher wird. In diesen Fällen ist die manuelle Markierung von aktivierten Makrophagen genauer, da viele markierte Makrophagen unter den Schwellwert fallen und nicht erfasst werden. Alternativ hätte man die Farbschwelle heruntersetzen können, was wiederum zu falsch positiven Ergebnissen führen würde, die manuell herausgeschnitten werden müssten.

Eine weitere Tücke des Programms verbirgt sich hinter der automatischen Schwelle für die Farbmarkierung. Wenn diese zu niedrig eingestellt ist, werden oft kleinste Farbsprenkel und Artefakte als Zellkern erkannt und markiert. Ferner werden durch die Schwellenwertangaben die Zellkerne häufig zusammengefasst und als ein Zellkern gezählt und infolgedessen zu wenige aktivierte Makrophagen erfasst.

Daher muss bei jeder einzelnen blau umrandeten Farbmarkierung händisch kontrolliert werden, ob sich dahinter nicht eventuell ein Makrophag oder mehrere positive markierte Makrophagenzellkerne befinden.

Bei der Einstellung des korrekten Schwellenwertes für die Kollagenmessung wird mit dem Cursor der entsprechende Schwellwert für den roten Binärlayer gewählt. Hier macht nur ein Punkt im Zahlenwert der Schwelle die Grenze zwischen Mitanfärbung von Zytoplasma oder einer ausschließlichen Anfärbung von Kollagen aus. Manuell

wurde diese Schwelle für jede Messung korrekt angepasst, so dass sich kein Zytoplasma mitangefärbt hat und so zu falsch positiven Ergebnissen geführt hätte.

Bei der Grenzeinstellung für alle Messungen, Fibrose- wie auch Kollagenmessung, ist der farbige Binärlayer so zu wählen, dass die auszuwertenden Strukturen deutlich markiert sind und gerade nicht das Zytoplasma miterfasst wird. Diese Anpassungen erfolgen manuell unter Sichtkontrolle.

Das Präparat 9(2)-12-2309 zeigt im Gegensatz zu den anderen CD163-Färbungen, die sich rot anfärben, eine deutliche Braunfärbung.

Hier ist fraglich, ob es sich um Hämosiderin oder eine Anfärbung von markierten Makrophagen handelt. Der Schnitt wurde erneut angefärbt und nach dieser Maßnahme zeigte sich neben der Braunfärbung eine deutliche Rotfärbung von markierten Makrophagen.

Hier ist es besonders aufwendig, diese von aktivierten Makrophagen zu unterscheiden, daher wird die Methode der Messung für diese Fälle verändert.

Eine randomisierte Auswahl der Messfelder ist hier nicht mehr möglich, daher werden bewusst Einstellungen des Interstitiums, von perivaskulären Strukturen und von interstitiellem Endokard gewählt, in denen sich vermehrt aktivierte Makrophagen auffinden. Für die statistische Auswertung und den Vergleich von prä- und post-Assist-bestimmten aktivierten Makrophagen wurde für diese Arbeit auf die in Heidelberg-Mannheim gemessenen Werte für Stabilin-1 der Konfokalmikroskopie zurückgegriffen, da diese sich im Vergleich zu den lichtmikroskopischen Werten als sensitiver herausgestellt hat.

Bei der Fibrosemessung wurde besonders darauf geachtet, perivaskuläre Räume sowie das Endokard auszusparen, da diese zu falsch positiven Ergebnissen führen würde. Felder mit einem Anteil von weniger als 30 % Myokard wurden ausgelassen.

Bei sehr kleinen Schnitten von 1-2 mm² ist es aber nicht ausgeschlossen, dass perivaskuläre Areale mitgemessen wurden. Dieser Fehler würde zu falsch hohen positiven Werten für die interstitielle Fibrose führen.

4. Ergebnisse

4.1 Klinische Ergebnisse

Untersucht wurden 12 Patienten, die an einer nicht ischämischen dilatativen Kardiomyopathie erkrankt waren und eine Kontrollgruppe, die aus 10 Spenderherzen bestand. In der untersuchten Gruppe waren 7 Männer im Alter von 2 bis 60 Jahren und 5 Frauen im Alter von 1 bis 60 Jahren.

Die Patienten waren zwischen 6 und 544 Tagen am Assist-System angeschlossen. Als Systeme wurden temporärer RVAD (Levitronix, Abbot, USA), BVAD (BerlinHeart, BerlinHeart, Deutschland) und LVAD (Heartware HVAD, Medtronic, USA) verwendet.

Acht Patienten wurden primär mit einem LVAD (Heartware HVAD) sowie 1 Patient mit einem LVAD (Berlin Heart) versorgt, ein Patient primär mit einem BVAD (BerlinHeart), bei 1 Patienten wurde im Verlauf von einem RVAD (Levitronix) auf ein LVAD und bei weiteren 3 Patienten aufgrund eines Rechtsherzversagens von einem LVAD auf ein BVAD-Therapiekonzept umgestellt bzw. ein zusätzliches temporäres RVAD implantiert.

Bei 2 Patienten war vor der Assist-Implantation ein ICD implantiert und bei 1 Patienten war eine Resynchronisationstherapie durchgeführt worden.

Nach Explantation des VAD wurden 10 Patienten transplantiert, 1 Patientin verstarb im weiteren Verlauf und 1 Patientin konnte erfolgreich vom Assist-System entwöhnt werden.

4.2 Statistische Ergebnisse

In der statistischen Auswertung wurden in einer univariaten Analyse, den Pearson-Korrelationen (ab $< 0,6$), dem Wilcoxon Signed Ranks Test, und dem Mann-Whitney U, Asymp.Sig und Exact Sign (signifikant bei $< 0,07$) folgende Untersuchungsparameter ausgewertet: Patientenalter in Tagen, Tage am Assist-System, Geschlecht, verwendetes Assist-System, aus den Messungen am Mikroskop die Mittelwerte jeweils vor und nach VAD-Therapie von CD14, CD68, CD163, Kollagen 1, Kollagen 3, Fibrose gesamt (interstitielle Fibrose + Narbe), Fibrose pur (nur interstitielle Fibrose), Narbe (ausschließlich Narbengewebe ohne die interstitielle Fibrose), Stabilin-1 sowie die

gleichen Werte für die Kontrollgruppe bestehend aus 10 Spenderherzen, die am DHZB transplantiert wurden. Ferner wurden die Ergebnisse in Korrelation mit den klinischen Parametern wie Gewicht, peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK), Niereninsuffizienz, Diabetes Mellitus, Arterielle Hypertonie, Arteriosklerose sowie Laborparameter: proBNP, TAG, LDL, HDL, Cholesterin, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure sowie den echokardiographischen Parametern LVEF, LIVDd, LIVIDs, RVEDD und die medikamentöse Therapie gesetzt.

Die Tabelle mit den klinischen Daten, die erhoben wurden, befindet sich aufgrund des Umfangs auf einer externen Festplatte.

In dieser Arbeit bestand keine statistische Signifikanz zwischen dem Alter und den prä- oder post-Assist-gemessenen Mittelwerten sowie für die Differenz aus prä- und post-Assist-Werten gegenüber dem Alter für die oben beschriebenen gemessenen Parameter für aktivierte Makrophagen, Fibrose und Kollagen.

Auch gegenüber dem Geschlecht der Patienten sowie den analysierten Makrophagen- und Fibrosewerten konnte kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden.

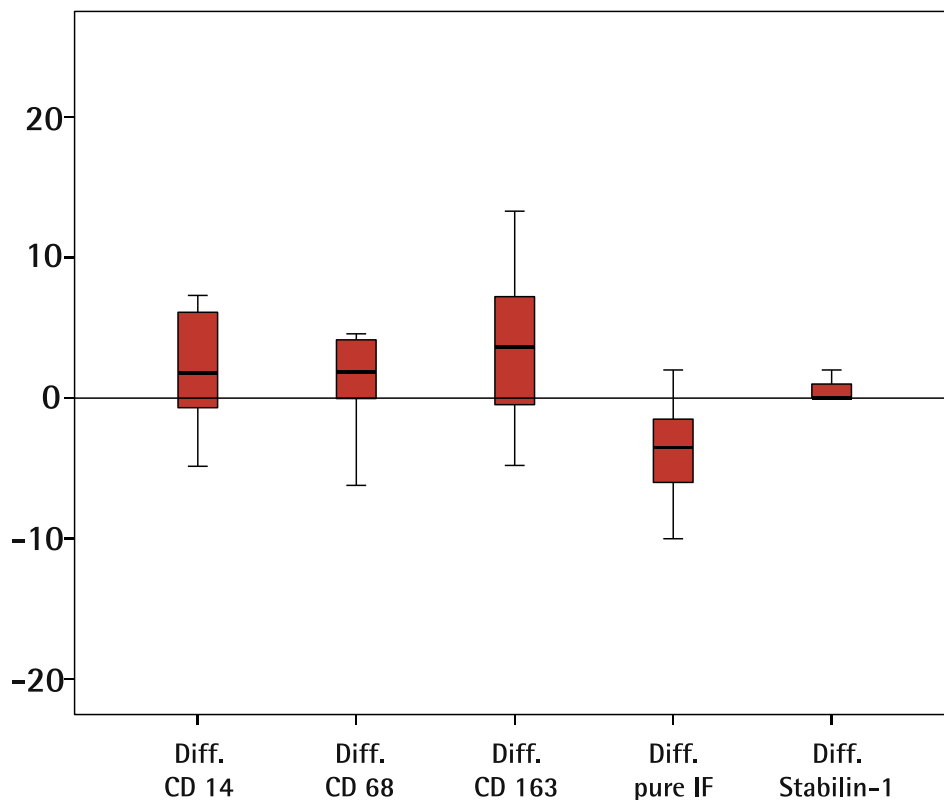
Da bei den untersuchten Patienten zum Teil mehrere Therapiekonzepte mit unterschiedlichen Unterstützungssystemen verwendet wurden (Berlin Heart, Levitronix, HeartWare) lassen sich hier keine einheitlichen Gruppen für eine statistische Auswertung bilden.

Bezüglich der einen Patientin, die erfolgreich vom Kreislaufunterstützungssystem entwöhnt werden konnte, ist festzuhalten, dass es sich um eine junge weibliche Patientin mit 510 Lebenstagen handelt, die über insgesamt 180 Tage (90 Tage LVAD Berlin Heart und 90 Tage RVAD Berlin Heart) eine Assist-Therapie erhielt. Bei dieser Patientin war der Fibrosegrad vor Beginn der Therapie mit 5 % interstitieller Fibrose gering, dabei war auffällig, dass keine Stabilin-1-markierten Makrophagen und nur eine sehr geringe Anzahl von aktivierten CD163 und CD68 Makrophagen zu Beginn der Therapie detektiert werden konnten.

Interessant ist, dass die Differenz der prä-Assist und post-Assist gemessenen Werte für die interstitielle Fibrose (Fibrose pur ohne Narbengewebe) statistisch signifikant ist

(Asymp. Sig. 2-tailed = 0,007) und damit die interstitielle Fibrose unter VAD-Therapie zunahm.

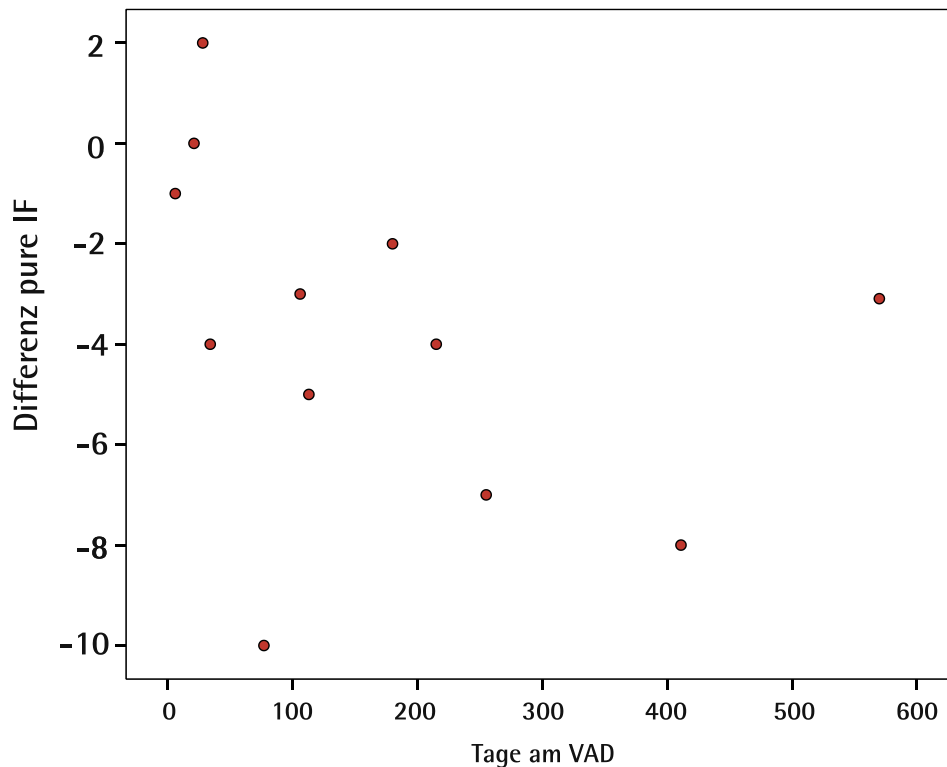
Ferner nahm die Anzahl an aktivierten Makrophagen, und zwar sowohl die frisch infiltrierenden CD163- und CD14- als auch die Stabilin-1-markierten Makrophagen, die für eine chronisch anhaltende Inflammation stehen, unter Assist-Therapie ab, wobei die statistische Signifikanz nur knapp verpasst wurde.



Grafik 8. Box-Whisker-Plots: Differenz der Anzahl an markierten Makrophagen und interstitieller Fibrose vor und nach Implantation von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen

Für die Fibrosewerte prä- und post-Assist in Korrelation mit den Werten für aktivierte Makrophagen ebenfalls vor- und nach Assist-Therapie konnte kein signifikanter Zusammenhang gefunden werden.

Der Unterschied zwischen den Werten für die interstitielle Fibrose vor- und nach Assist-Therapie in Zusammenhang mit der Dauer der mechanischen Kreislaufunterstützung zeigt, je länger die Therapie andauert desto mehr wird interstitielle Fibrose gebildet, wobei eine statistische Signifikanz für diese Aussage nicht ermittelt werden konnte.



Grafik 9. Statistik dot-plot: Differenz der interstitiellen Fibrose in Korrelation zu Tagen an mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen

Wie zu erwarten war hatte die Kontrollgruppe, die aus 10 Spenderherzen bestand, gegenüber den 12 untersuchten Patienten statistisch signifikant weniger Narben, weniger Kollagen III, weniger interstitielle Fibrose und weniger aktivierte Makrophagen im untersuchten Herzmuskelgewebe.

Die statistische Auswertung der klinischen Parameter wie Gewicht, pAVK, Niereninsuffizienz, Diabetes Mellitus, Arterielle Hypertonie, Arteriosklerose sowie der Laborparameter proBNP, TAG, LDL, HDL, Cholesterin, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure sowie der echokardiographischen Parameter LVEF, LIVDd, LIVIDs, RVEDD und die medikamentöse Therapie ergaben gegenüber den histologischen Messungen keine statistischen Signifikanzen.

5. Diskussion

Das Ergebnis dieser Arbeit ist, dass die Anzahl aller Makrophagen der verschiedenen Subpopulationen im Myokard unter VAD-Therapie abnahm, wobei die statistische Signifikanz knapp verfehlt wurde. Der Level an interstitieller Fibrose nahm hingegen unter der mechanischen Kreislaufunterstützung zu. Die Limitationen der Arbeit liegen vor allem darin begründet, dass die Patientenzahl gering ist.

Dennoch lässt sich daraus schlussfolgern, dass eine Druck- und Volumenentlastung des linken Ventrikels durch ein VAD zu einer Verringerung der Anzahl an aktivierten Entzündungszellen führt und somit zu einem rückläufigen Entzündungsprozess.

Dieses Ergebnis ist durchaus nachvollziehbar, denn wird durch ein Assist-System der Ventrikel entlastet, fällt die ständige Volumen- und Druckbelastung auf das Myokard weg. Damit entfallen die Trigger, die für eine chronische Entzündungsreaktion verantwortlich sind und die mit einer kontinuierlichen Infiltration von Immunzellen, anhaltend hohen Leveln an proinflammatorischen Zytokinen und inflammatorischen M1-Makrophagen verbunden sind.

Es besteht die Möglichkeit, dass eine mechanische Kreislaufunterstützung eine antiinflammatorische Therapie darstellen könnte, bei der die Auslöser für die chronische Entzündungsreaktion wie Druck und Volumen eliminiert werden und damit die Ursachen für die Entstehung und das Fortschreiten der terminalen Herzinsuffizienz beseitigt würden.

Außerdem kommt es durch die Assist-Therapie zu einem normalisierten neurohormonalen und Zytokinen-Niveau, was wiederum die Erholung des Myokards und damit ein mögliches erfolgreiches Weaning begünstigt.

Für die erhöhte interstitielle Fibrose nach Assist-Therapie könnten die Stabilin-1-markierten Makrophagen (M2) verantwortlich sein, die bei nachlassender Entzündung vom Modus der chronischen Entzündung auf den Modus der Heilung und das Gewebe-Remodeling umschalten. Dabei wird die ursprüngliche inflammatorische Reaktion herunterreguliert und profibrotische Heilungsprozesse initiiert, die mit Fibrose- und Narbenbildung einhergehen. Bei diesen Prozessen sind vor allem M2-Makrophagen

beteiligt, die das Abklingen der Entzündungsreaktion und die Reparaturvorgänge, die mit Narbenbildung einhergehen, steuern.

Die erhöhten Werte für die interstitielle Fibrose nach Assist-Therapie sprechen für die beginnende Heilungsphase des Myokards nach VAD-Therapie, die vor allem durch M2-Makrophagen reguliert wird und möglicherweise durch die mechanische Kreislaufunterstützung ausgelöst wurde. Größere Studien mit höheren Patientenzahlen wären notwendig und könnten zeigen, dass eine VAD-Therapie weit mehr ist als eine akut lebensrettende Maßnahme oder ein Überbrücken der Wartezeit auf ein Spenderherz. So könnte sie auch eine antiinflammatorische Therapie sein, die die initialen Entzündungsprozesse im Myokard beseitigt und somit die Möglichkeit für eine substantielle Myokarderholung mit nachfolgendem erfolgreichem Weaning vom VAD schafft.

Unterschiede in erhöhten oder erniedrigten Werten für die interstitielle Fibrose unter VAD-Therapie könnten sich anhand der biphasischen Veränderungen des extrazellulären Matrixumbaus nach Bruggink und Kollegen erklären lassen, bei denen in den ersten 200 Tagen nach VAD-Therapie das extrazelluläre Matrixvolumen zunahm und nach 400 Tagen das Gesamtvolumen wieder abnahm [113].

In dieser Arbeit, bei der die Patienten zwischen 6 und 544 Tagen am Assist-System angeschlossen waren, lässt sich keine statistische Aussage über eine optimierte Dauer der Assist-Therapie und den damit in Verbindung stehenden interstitiellen Fibrosewerten machen. Auffallend ist jedoch, je länger die Behandlung anhielt, desto höher waren die Werte für die interstitielle Fibrose. Dies wiederum stützt die Hypothese, dass die Assist-Therapie eine antiinflammatorische und die Heilungsphase einleitende Behandlung darstellt.

Müller und Kollegen haben schon vor rund 20 Jahren beschrieben, wie die myokardiale Fibrose bei Patienten unter Assist-Therapie zunahm [116]. Viele weitere Arbeiten zu dem Thema lieferten zum Teil widersprüchliche Ergebnisse und eine klare Abgrenzung ist schwierig [70, 103, 117]. Aktivierte Makrophagen könnten ein weiterer Baustein sein, um die Remodeling-Prozesse und die Möglichkeit einer myokardialen Erholung unter Assist-Therapie zu verstehen.

Leider ist es in dieser Arbeit nicht gelungen, einen Biomarker für ein erfolgreiches Weaning zu identifizieren. Die Materialgewinnung von Exzisaten bei Patienten mit VAD-Therapie ist schwierig und stellt für den Patienten eine Gefahr dar, da das erkrankte und bereits geschwächte Herz durch eine Biopsie weiter geschädigt werden könnte.

Studien mit Herzmuskelexzisaten von erfolgreich entwöhnten Assist-Patienten mit hohen Fallzahlen sind schwer zu erstellen und nur in geringer Anzahl vorhanden, zumal viele Kliniken das Therapieziel Bridge to Recovery nicht vor Augen haben, sondern eher auf eine Überbrückung zur Transplantation oder auf eine Destination Therapy hin behandeln.

Für die eine entwöhnte Patientin (unter 4.2. beschrieben) trifft die Hypothese zu, dass junge Patienten mit kurzer Krankheitsdauer und DKMP größere Chancen auf ein erfolgreiches Weaning vom Assist haben, eine statistische Untermauerung für diese Aussage gelang aber in dieser Arbeit nicht.

Da alle untersuchten Patienten während der VAD-Therapie eine vergleichbare Medikation erhielten, kann keine Aussage über den Einfluss von Medikamenten auf das Outcome der Therapie beziehungsweise auf das Reverse Remodeling gemacht werden, z. B., ob ACE-Hemmer den Fibrosegrad beeinflussen.

Zusammenfassend kann man sagen, dass interstitielle Makrophagen (M2) das kardiale Remodeling zu unterstützen scheinen und die interstitielle Fibrose unter Assist-Therapie zunahm. Die Anzahl aktivierter Makrophagen wurde aber durch eine VAD-Therapie reduziert. Ein spezifischer Makrophagensubtyp, anhand dessen man das Outcome und ein mögliches erfolgreiches Weaning beurteilen könnte, konnte u. a. wegen der geringen Anzahl an untersuchten Patienten nicht gefunden werden.

Mit Blick in die Zukunft ist aus immunologischer Sicht eine weitere Subtypen-Analyse von Monozyten und Makrophagen notwendig, um die Balance zwischen proinflammatorischen Makrophagen gegenüber alternativ aktivierten Makrophagen (M2) zu jedem Zeitpunkt einer kardialen Stresssituation zu verstehen, die komplexe Effekte auf die Modulation und Aktivierung von Kardiomyozyten und Kardiofibroblasten hat.

Um zu verstehen, welche Bedeutung die verschiedenen Subtypen von Makrophagen zu Beginn der Inflammation, im chronischen Zustand und bei der Auflösung des

Entzündungsprozesses unter VAD-Therapie haben, ist weitere Forschungsarbeit notwendig.

Wichtig wäre es vor allem, die Entzündungsreaktion in der Weise kontrollieren zu können, dass das pathologische Remodeling unterdrückt wird, aber protektive Bestandteile der Inflammation gefördert würden.

Dies betrifft vor allem die Regulation der Homöostase der verschiedenen Makrophagen- und Monozytensubgruppen (pro- und antiinflammatorisch) im biphasischen Entzündungsprozess während des Übergangs von der Phase der Inflammation zur Reparaturphase bzw. Heilungsphase.

Ebenfalls interessant wäre es herauszuarbeiten, ob positiv markierte Makrophagensubtypen gemeinsam mit echokardiographischen Parametern mögliche Marker für die Verlaufskontrolle während VAD-Therapie sein könnten.

Für zukünftige Untersuchungen wird es von entscheidender Bedeutung sein, prognostische Biomarker für die Myokarderholung zu finden, die eine funktionelle Myokarderholung mit nachfolgender Assist-Device-Explantation anzeigen. Abzugrenzen davon sind die Veränderungen unter VAD-Unterstützung, die zu zellulären und molekularen Veränderungen des Herzmuskelgewebes, aber nicht zu einer Verbesserung der kardialen Pumpfunktion führen.

So ließen sich Therapieregime entwickeln, die auf ein Bridge to Recovery abzielen und durch Änderungen der Therapieparameter und durch Anpassungen der VAD-Therapie-Dauer, der begleitenden pharmakologischen Therapie und der optimalen Auswahl des Devices (pulsatil/nonpulsatil) eine Explantation des VAD zum Ziel haben.

6. Literaturverzeichnis

1. Puehler T, Schmidt, C. Weil Spenderherzen fehlen: Renaissance der Kunstherzen. Dt Ärztezeitung 2011 Nov 22 [cited 2021 Jan 22]. Available from: <https://www.aerztezeitung.de/Medizin/Weil-Spenderherzen-fehlen-Renaissance-der-Kunstherzen-285390.html>
2. Hetzer R, Jurmann MJ, Potapov EV, Hennig E, Stiller B, Müller JH, Weng Y. Kardiale Assist-Systeme – Gegenwärtiger Stand. Herz 2002;27(5):407-17.
3. Eurotransplant International Foundation, Ed. Annual Report 2019. Leiden, 2019: 12-25.
4. Beckmann A, Meyer R, Lewandowski J, Markewitz A, Gummert J. German Heart Surgery Report 2019: The annual updated registry of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. Thorac Cardiovasc Surg 2020;68(4):263-76.
5. Deutsche Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie, Ed. Grundlegende Informationen zum Thema Herztransplantation der Deutschen Gesellschaft für Thorax-, Herz- und Gefäßchirurgie (DGTHG). Stand 1. November 2015 [cited 2021 Jan 22]. Available from: https://www.dgthg.de/Zahlen_Fakten_Herztransplantation.
6. Eurotransplant International Foundation, Ed. Annual Report 2013. Leiden, 2013: 40-104.
7. Wohlschlager J, Milting H, Stypmann J, Hager T, Schmid C, Levkau B, Baba HA. Chronische Herzinsuffizienz: Partielle Reversibilität durch linksventrikuläre mechanische Unterstützungssysteme. Pathologe 2012;33(3):175-82.
8. Krabatsch T, Schweiger M, Stepanenko A, Drews T, Potapov E, Pasic M, Weng Y, Huebler M, Hetzer R. Fortschritte bei implantierbaren mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen: Literaturübersicht und Update. Herz 2011;36(7):622-9.
9. Beckmann A, Funkat AK, Lewandowski J, Frie M, Ernst M, Hekmat K, Schiller W, Gummert JF, Cremer JT. Cardiac Surgery in Germany during 2014: a report on behalf of the German Society for Thoracic and Cardiovascular Surgery. Thorac Cardiovasc Surg 2015;63(4):258-69.
10. Kirklin JK, Naftel DC, Kormos RL, Stevenson LW, Pagani FD, Miller MA, Baldwin JT, Young JB. Fifth INTERMACS annual report: risk factor analysis from more than 6,000 mechanical circulatory support patients. J Heart Lung Transplant 2013;32(2):141-56.
11. Kirklin JK, Naftel DC, Stevenson LW, Kormos RL, Pagani FD, Miller MA, Ullisney K, Young JB. INTERMACS database for durable devices for circulatory support: first annual report. J Heart Lung Transplant 2008;27(10):1065-72.

12. Mielniczuk L. Patient selection for left ventricular assist devices. *Artificial Organs* 2004;28(2):152–157.
13. Krabatsch T, Schweiger M, Stepanenko A, Kukucka M, Vierecke J, Lehmkuhl HB, Huebler M, Hennig E, Potapov E, Hetzer R. Mechanical circulatory support – results, developments and trends. *Journal of Cardiovascular Translational Research* 2011;4(3):332-9.
14. Kirklin JK, Pagani FD, Kormos RL, Stevenson LW, Blume ED, Myers SL, Miller MA, Baldwin JT, Young JB, Naftel DC. Eighth annual INTERMACS report: special focus on framing the impact of adverse events. *J Heart Lung Transplant* 2017;36(10):1080-6.
15. Rose EA, Moskowitz AJ, Packer M, Sollano JA, Williams DL, Tierney AR, Heitjan DF, Meier P, Ascheim DD, Levitan RG, Weinberg AD, Stevenson LW, Shapiro PA, Lazar RM, Watson JT, Goldstein DJ, Gelijns AC. The REMATCH trial: rationale, design, and end points. *Randomized evaluation of mechanical assistance for the treatment of congestive heart failure. Ann Thorac Surg* 1999;67(3):723-30.
16. Birks EJ, Tansley PD, Hardy J, George RS, Bowles CT, Burke M, Banner NR, Khaghani A, Yacoub MH. Left ventricular assist device and drug therapy for the reversal of heart failure. *N Engl J Med* 2006;355(18):1873-84.
17. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS, Falk V, González-Juanatey JR, Harjola VP, Jankowska EA, Jessup M, Linde C, Nihoyannopoulos P, Parissis JT, Pieske B, Riley JP, Rosano GMC, Ruilope LM, Ruschitzka F, Rutten FH, van der Meer P. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 2016;37(27):2129-200.
18. Birks E, Drakos S, Lowes B, Patel SR, Selzman C, Slaughter MS, Alturi P, Goldstein D, Um J, Cunningham C, Margulies KB, Stehlik J, Starling R, Farrar D, Rame J. Outcome and primary endpoint results from a prospective multi-center study of myocardial recovery using LVADs: remission from Stage D heart failure (RESTAGE-HF). *J Heart Lung Transplant* 2018;37(4 Suppl):S142.
19. Birks EJ, Drakos SG, Patel SR, Lowes BD, Selzman CH, Starling RC, Trivedi J, Slaughter MS, Alturi P, Goldstein D, Maybaum S, Um JY, Margulies KB, Stehlik J, Cunningham C, Farrar DJ, Rame JE. Prospective multicenter study of myocardial recovery using left ventricular assist devices (RESTAGE-HF [Remission from Stage D heart failure]): medium-term and primary end point results. *Circulation* 2020;142(21):2016-28.
20. Karason K, Lund LH, Dalén M, Björklund E, Grinnemo K, Braun O, Nilsson J, van der Wal H, Holm J, Hübbert L, Lindmark K, Szabo B, Holmberg E, Dellgren G. Randomized trial of a left ventricular assist device as destination therapy versus guideline-directed medical therapy in patients with advanced heart failure.

Rationale and design of the SWEdish evaluation of left Ventricular Assist Device (SweVAD) trial. *Eur J Heart Fail* 2020;22(4):739-50.

21. Shumway NE. Cardiac transplantation. *Heart Bull* 1963;12:57-60.
22. Liotta D, Hall W, Henly WS, Cooley DA, Crwaford S, DeBakey ME. Prolonged assisted circulation during and after cardiac or aortic surgery. Prolonged partial left ventricular bypass by means of intracorporeal circulation. *Am J Cardiol* 1963;12(3):399-405.
23. Cooley DA, Liotta D, Hallman GL, Bloodwell RD, Leachman RD, Milan JD. Orthopic cardiac prosthesis for two-staged cardiac replacement. *Am J Cardiol* 1969;24(5):723-30.
24. Potapov EV, Loebe M, Nasser B, Siniawski H, Koster A, Kuppe H, Noon GP, DeBakey ME, Hetzer R. Pulsatile flow in patients with a novel nonpulsatile implantable ventricular assist device. *Circulation* 2000;102(19 Suppl) 3:III-183-7.
25. Wieselthaler GM, Schima H, Hiesmayr M, Pacher R, Laufer G, Noon GP, DeBakey ME, Wolner E. First clinical experience with the debakey VAD continuous-axial-flow pump for bridge to transplantation. *Circulation* 2000;101(4):356-9.
26. Potapov EV, Antonides C, Crespo-Leiro MG, Combes A, Farber G, Hannan MM, Kukucka M, de Jonge N, Loforte A, Lund LH, Mohacsi P, Morshuis M, Netuka I, Ozbaran M, Pappalardo F, Scandroglio AM, Schweiger M, Tsui S, Zimpfer D, Gustafsson F. 2019 EACTS Expert Consensus on long-term mechanical circulatory support. *Eur J Cardiothorac Surg* 2019;56(2):230-70.
27. Antonides CFJ, Schoenrath F, de By T, Muslem R, Veen K, Yalcin YC, Netuka I, Gummert J, Potapov EV, Meyns B, Ozbaran M, Schibilsky D, Caliskan K, EUROMACS investigators. Outcomes of patients after successful left ventricular assist device explantation: a EUROMACS study. *ESC Heart Fail* 2020;7(3):1085-94.
28. Goldstein DJ, Naka Y, Horstmanshof D, Ravichandran AK, Schroder J, Ransom J, Itoh A, Uriel N, Cleveland JC, Jr., Raval NY, Cogswell R, Suarez EE, Lowes BD, Kim G, Bonde P, Sheikh FH, Sood P, Farrar DJ, Mehra MR. Association of clinical outcomes with left ventricular assist device use by bridge to transplant or destination therapy intent: the multicenter study of MagLev Technology in patients undergoing mechanical circulatory support therapy with HeartMate 3 (MOMENTUM 3) randomized clinical trial. *JAMA Cardiol* 2020;5(4):411-9.
29. Slaughter MS, Tsui SS, El-Banayosy A, Sun BC, Kormos RL, Mueller DK, Massey HT, Icenogle TB, Farrar DJ, Hill JD, Group IS. Results of a multicenter clinical trial with the Thoratec Implantable Ventricular Assist Device. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2007;133(6):1573-80.
30. Dowling RD, Gray LA, Jr., Etoch SW, Laks H, Marelli D, Samuels L, Entwistle J, Couper G, Vlahakes GJ, Frazier OH. Initial experience with the AbioCor

- implantable replacement heart system. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2004;127(1):131-41.
31. Dandel M, Knosalla C, Hetzer R. Contribution of ventricular assist devices to the recovery of failing hearts: a review and the Berlin Heart Center Experience. *Eur J Heart Fail* 2014;16(3):248-63.
 32. Dickstein K, Vardas PE, Auricchio A, Daubert JC, Linde C, McMurray J, Ponikowski P, Priori SG, Sutton R, van Veldhuisen DJ. 2010 Focused Update of ESC Guidelines on device therapy in heart failure: an update of the 2008 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure and the 2007 ESC guidelines for cardiac and resynchronization therapy. Developed with the special contribution of the Heart Failure Association and the European Heart Rhythm Association. *Eur Heart J* 2010;31(21):2677-87.
 33. Kuwahara F, Kai H, Tokuda K, Takeya M, Takeshita A, Egashira K, Imaizumi T. Hypertensive myocardial fibrosis and diastolic dysfunction: another model of inflammation? *Hypertension* 2004;43(4):739-45.
 34. Burkhoff D, Mirsky I, Suga H. Assessment of systolic and diastolic ventricular properties via pressure-volume analysis: a guide for clinical, translational, and basic researchers. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2005;289(2):H501-12.
 35. Helman DN, Maybaum SW, Morales DL, Williams MR, Beniaminovitz A, Edwards NM, Mancini DM, Oz MC. Recurrent remodeling after ventricular assistance: is long-term myocardial recovery attainable? *Ann Thorac Surg* 2000;70(4):1255-8.
 36. Maybaum S, mancini D, Xydas S, Starling RC, Aaronson K, Pagani FD, Miller LW, margulies K, McRee S, Frazier OH, Torre-Amione G, LVAD Working Group. Cardiac improvement during mechanical circulatory support: a prospective multicenter study of the LVAD Working Group. *Circulation* 2007;115(19):2497-505.
 37. Lund LH, Grinnemo KH, Sveranud P, van der Linden J, Eriksson MJ. Myocardial recovery in peri-partum cardiomyopathy after continuous flow left ventricular assist device. *J Cardiothorac Surg* 2011; 6:150.
 38. Farrar DJ, Holman WR, McBride LR, Kormos RL, Icenogle TB, Hendry PJ, Moore CH, Loisance DY, El-Banayosy A, Frazier H. Long-term follow-up of Thoratec ventricular assist device bridge-to-recovery patients successfully removed from support after recovery of ventricular function. *J Heart Lung Transplant* 2002;21(5):516-21.
 39. Burkhoff D, Klotz S, Mancini DM. LVAD-induced reverse remodeling: basic and clinical implications for myocardial recovery. *J Card Fail* 2006;12(3):227-39.
 40. Klotz S, Danser AH, Burkhoff D. Impact of left ventricular assist device (LVAD) support on the cardiac reverse remodeling process. *Prog Biophys Mol Biol* 2008;97(2-3):479-96.

41. Dipla K, Mattiello JA, Margulies KB, Jeevanandam V, Houser SR. The sarcoplasmic reticulum and the Na⁺/Ca²⁺ exchanger both contribute to the Ca²⁺ transient of failing human ventricular myocytes. *Circ Res* 1999;84(4):435–44.
42. Bruckner BA, Stetson SJ, Perez-Verdia, A, Youker KA, Radovancevic B, Connelly JH, Koerner MM, Entman ME, Frazier OH, Noon GP, Torre-Amione G. Regression of fibrosis and hypertrophy in failing myocardium following mechanical circulatory support. *J Heart Lung Transplant* 2001;20(4):457-64.
43. Catena E, Milazzo F. Echocardiography and cardiac assist devices. *Minerva Cardioangiol* 2007;55(2):247-65.
44. Scheinin S, Capek P, Radovancevic B, Duncan JM, McAllister HA, Frazier OH. The effect of prolonged left ventricular support on myocardial Histopathology in patients with End-stage Cardiomyopathy. *ASAIO J* 1992;38(8):M 271-4.
45. Frazier OH, Benedict CR, Radovancevic B, Bick RJ, Capek P, Springer WE, Macris MP, Delgado R, Buja LM. Improved left ventricular function after chronic left ventricular unloading. *Ann Thorac Surg* 1996;62(3):675-82.
46. Malliaras KG, Terrovitis JV, Drakos SG, Nanas JN. Reverse cardiac remodeling enabled by mechanical unloading of the left ventricle. *J Cardiovasc Transl Res* 2009;2(1):114-25.
47. Felkin LE, Lara-Pezzi EA, Hall JL, Birks EJ, Barton PJ. Reverse remodelling and recovery from heart failure are associated with complex patterns of gene expression. *J Cardiovasc Transl Res* 2011;4(3):321-31.
48. Drakos SG, Terrovitis JV, Anastasiou-Nana MI, Nanas JN. Reverse remodeling during long-term mechanical unloading of the left ventricle. *J Mol Cell Cardiol* 2007;43(3):231-42.
49. Maybaum S, Mancini D, Xydas S, Starling RC, Aaronson K, Pagani FD, Miller LW, Margulies K, McRee S, Frazier OH, Torre-Amione G, Group LW. Cardiac improvement during mechanical circulatory support: a prospective multicenter study of the LVAD Working Group. *Circulation* 2007;115(19):2497-505.
50. Dandel M, Weng Y, Siniawski H, Potapov E, Lehmkuhl HB, Hetzer R. Long-term results in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy after weaning from left ventricular assist devices. *Circulation* 2005;112(9 Suppl):I37-45.
51. Birks EJ. Molecular changes after left ventricular assist device support for heart failure. *Circ Res* 2013;113(6):777-91.
52. Lenneman AJ, Birks EJ. Treatment strategies for myocardial recovery in heart failure. *Curr Treat Options Cardiovasc Med* 2014;16(3):287 .
53. Müller J, Wallukat G, Weng YG, Dandel M, Spiegelsberger S, Semrau S, Brandes K, Theodoridis V, Loebe M, Meyer R, Hetzer R. Weaning From Mechanical

Cardiac Support in Patients With Idiopathic Dilated Cardiomyopathy. *Circulation* 1997;;96(2):542–9.

54. Levin HR, Oz MC, Chen JM, Packer M, Rose EA, Burkhoff D. Reversal of chronic ventricular dilation in patients with end-stage cardiomyopathy by prolonged mechanical unloading. *Circulation* 1995;91(11):2717-20.
55. Mancini DM, Beniaminovitz A, Levin H, Catanese K, Flannery M, DiTullio M, Savin S, Cordisco ME, Rose E, Oz M. Low incidence of myocardial recovery after left ventricular assist device implantation in patients with chronic heart failure. *Circulation*;1998;98(22):2383-9.
56. Knierim J, Heck R, Pieri M, Schoenrath F, Soltani S, Stawowy P, Dreysse S, Stein J, Müller M, Mulzer J, Dandel M, Falk V, Krabatsch T, Potapov E. Outcomes from a recovery protocol for patients with continuous-flow left ventricular assist devices. *J Heart Lung Transplant* 2019;38(4):440-8.
57. Pan S, Aksut B, Wever-Pinzon OE, Rao SD, Levin AP, Garan AR, Fried JA, Takeda K, Hiroo T, Yuzefpolskaya M, Uriel N, Jorde UP, Mancini DM, Naka Y, Colombo PC, Topkara VK. Incidence and predictors of myocardial recovery on long-term left ventricular assist device support: Results from the United Network for Organ Sharing database. *J Heart Lung Transplant* 2015;34(12):1624-9.
58. Frazier OH, Baldwin AC, Demirozu ZT, Segura AM, Hernandez R, Taegtmeier H, Mallidi H, Cohn WE. Ventricular reconditioning and pump explantation in patients supported by continuous-flow left ventricular assist devices. *J Heart Lung Transplant* 2015;34(6):766-72.
59. Drakos SG, Mehra MR. Clinical myocardial recovery during long-term mechanical support in advanced heart failure: Insights into moving the field forward. *J Heart Lung Transplant* 2016;35(4):413-20.
60. Hetzer R, Müller J, Weng Y, Wallukat G, Spiegelsberger S, Loebe M. Cardiac recovery in dilated cardiomyopathy by unloading with a left ventricular assist device. *Ann Thorac Surg* 1999;68(2):742–9.
61. Drakos SG, Kfoury AG, Stehlik J, Selzman CH, Reid BB, Terrovitis JV, Nanas JN, Li DY. Bridge to recovery: understanding the disconnect between clinical and biological outcomes. *Circulation* 2012;126(2):230-41.
62. Drakos SG. Cardiac rhythm during and after explantation of left ventricular assist devices (LVAD) using the harefield recovery programme. *J Heart Lung Transplant* 2003;22(1):202-3.
63. Goldstein DJ, Maybaum S, MacGillivray TE, Moore SA, Bogaev R, Farrar DJ, Frazier OH, HeartMate II Clinical Investigators. Young patients with nonischemic cardiomyopathy have higher likelihood of left ventricular recovery during left ventricular assist device support. *J Card Fail* 2012;18(5):392-5.
64. Hardy J, Tansley P, Birks E, Hipkin M, Khaghani A, Banner N, Yacoub M. Cardiac rhythm during and after explantation of left ventricular assist devices (LVAD) using

- the harefield recovery programme. *J Heart Lung Transplant* 2003;22(1 Suppl):202-3.
65. Birks E. Left ventricular assist device and drug therapy for the reversal of heart failure. *New Engl J Med* 2006;355(18):1873-84.
 66. Klotz S, Danser AH, Foronjy RF, Oz MC, Wang J, Mancini D, D'Armiento J, Burkhoﬀ D. The impact of angiotensin-converting enzyme inhibitor therapy on the extracellular collagen matrix during left ventricular assist device support in patients with end-stage heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2007;49(11):1166-74.
 67. Krabatsch T, Schweiger M, Stepanenko A, Kukucka M, Vierecke J, Lehmkuhl HB, Huebler M, Hennig E, Potapov E, Hetzer R. Mechanical circulatory support-results, developments and trends. *J Cardiovasc Transl Res* 2011;4(3):332-9.
 68. Dandel M, Hetzer R. Evaluation of Cardiac Recovery in Ventricular Assist Device Recipients: Particularities, Reliability, and Practical Challenges. *Can J Cardiol* 2019;35(4):523-34.
 69. Birks EJ, George RS, Firouzi A, Wright G, Bahrami T, Yacoub MH, Khaghani A. Long-term outcomes of patients bridged to recovery versus patients bridged to transplantation. *J Thorac Cardiovasc Surg* 2012;144(1):190-6.
 70. Saito S, Toda K, Miyagawa S, Yoshikawa Y, Fukushima S, Sakata Y, Mizote I, Daimon T, Sawa Y. Hemodynamic changes during left ventricular assist device-off test correlate with the degree of cardiac fibrosis and predict the outcome after device explantation. *J Artif Organs* 2015;18(1):27-34.
 71. George RS, Yacoub MH, Tasca G, Webb C, Bowles CT, Tansley P, Hardy JP, Dreyfus G, Khaghani A, Birks EJ. Hemodynamic and echocardiographic responses to acute interruption of left ventricular assist device support: relevance to assessment of myocardial recovery. *J Heart Lung Transplant* 2007;26(10):967-73.
 72. Lamarche Y, Kearns M, Josan K, Bashir J, Ignaszewski A, Kaan A, Kealy J, Moss R, Cheung A. Successful weaning and explantation of the Heartmate II left ventricular assist device. *Can J Cardiol* 2011;27(3):358-62.
 73. Ando M, Nishimura T, Takewa Y, Ogawa D, Yamazaki K, Kashiwa K, Kyo S, Ono M, Taenaka Y, Tatsumi E. What is the ideal off-test trial for continuous-flow ventricular-assist-device explantation? Intracircuit back-flow analysis in a mock circulation model. *J Artif Organs* 2011;14(1):70-3.
 74. Myers TJ, Frazier OH, Mesina HS, Radovancevic B, Gregoric ID. Hemodynamics and patient safety during pump-off studies of an axial-flow left ventricular assist device. *J Heart Lung Transplant* 2006;25(4):379-83.
 75. Potapov EV, Schweiger M, Krabatsch T. Percutaneous balloon occlusion of a left ventricular assist device outflow cannula to facilitate evaluation of myocardial recovery. *J Heart Lung Transplant* 2011;30(11):1300-1.

76. George RS, Sabharwal NK, Webb C, Yacoub MH, Bowles CT, Hedger M, Khaghani A, Birks EJ. Echocardiographic assessment of flow across continuous-flow ventricular assist devices at low speeds. *J Heart Lung Transplant* 2010;29(11):1245-52.
77. Dandel M, Weng Y, Siniawski H, Potapov E, Krabatsch T, Lehmkuhl HB, Drews T, Knosalla C, Hetzer R. Pre-explant stability of unloading-promoted cardiac improvement predicts outcome after weaning from ventricular assist devices. *Circulation* 2012;126(11 Suppl 1):S9-19.
78. Potapov EV, Stepanenko A, Hennig E, Hetzer R, Krabatsch T. A titanium plug simplifies left ventricular assist device removal after myocardial recovery. *J Heart Lung Transplant* 2010;29(11):1316-7.
79. Dandel M. Heart failure reversal by ventricular unloading in patients with chronic cardiomyopathy: criteria for weaning from ventricular assist devices. *Eur Heart J* 2011;(32):1148–1160.
80. Hutchinson J. Cost-effectiveness of left ventricular-assist devices in end-stage heart failure. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2008;6(2):175–85.
81. Matsumiya G, Monta O, Fukushima N, Sawa Y, Funatsu T, Toda K, Matsuda H. Who would be a candidate for bridge to recovery during prolonged mechanical left ventricular support in idiopathic dilated cardiomyopathy? *J Thorac Cardiovasc Surg* 2005;130(3):699-704.
82. Kalogeropoulos A, Georgiopoulou V, Psaty BM, Rodondi N, Smith AL, Harrison DG, Liu Y, Hoffmann U, Bauer DC, Newman AB, Kritchevsky SB, Harris TB, Butler J, Health ABCS. Inflammatory markers and incident heart failure risk in older adults: the Health ABC (Health, Aging, and Body Composition) study. *J Am Coll Cardiol* 2010;55(19):2129-37.
83. Gratchev A, Sobenin I, Orekhov A, Kzhyshkowska J. Monocytes as a diagnostic marker of cardiovascular diseases. *Immunobiology* 2012;217(5):476-82.
84. Kzhyshkowska J, Gratchev A, Goerd S. Stabilin-1, a homeostatic scavenger receptor with multiple functions. *J Cell Mol Med* 2006;10(3):635-49.
85. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest* 2012;122(3):787-95.
86. Wassilew K, Potapov E, Schmittermaier C, Gratchev A, Hetzer R, Kzhyshkowska J. Stabilin-1: A Possible Functional Biomarker for Pro-Fibrotic Alternative Macrophage Activation in Dilatative Cardiomyopathy Patients With Left Ventricular Assist Device Implantation. *J Heart Lung Transplant* 2014;33(4 Suppl):S62.
87. Wassilew K, Potapov E, Krabatsch T, Dandel M, Song B, Mickley A, Schmittermaier C, Gratchev A, Hetzer R, Kzhyshkowska, J.. Evidence for the

- predictive role of alternatively activated macrophages for the outcome of mechanical circulatory support. *Eur J Heart Fail* 2013;12(Suppl 1):S49-50.
88. Martinez FO, Gordon S. The evolution of our understanding of macrophages and translation of findings toward the clinic. *Expert Rev Clin Immunol* 2015;2015 Jan;11(1):5-13.
 89. Turner N, Porter KE, Smith WH, White HL, Ball SG, Balmforth AJ. Chronic beta2-adrenergic receptor stimulation increases proliferation of human cardiac fibroblasts via an autocrine mechanism. *Cardiovasc Res* 2003;57(3):784-92.
 90. Golias C, Tsoutsis E, Matziridis A, Makridis P, Batistatou A, Charalabopoulos K. Review. Leukocyte and endothelial cell adhesion molecules in inflammation focusing on inflammatory heart disease. *In Vivo* 2007;21(5):757-69.
 91. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*;1999;340(2):115-26.
 92. Hansson G, Hermansson A. The immune system in atherosclerosis. *Nat Immunol*; 2011 Mar;12(3):204-12.
 93. Savoia C, Schiffrin EL. Vascular inflammation in hypertension and diabetes: molecular mechanisms and therapeutic interventions. *Clin Sci (Lond)* 2007;112(7):375-84.
 94. Torre-Amione G. Immune activation in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 2005;95(11A):3C-8C; discussion 38C-40C.
 95. Hilgendorf I, Swirski FK. Making a difference: monocyte heterogeneity in cardiovascular disease. *Curr Atheroscler Rep*; 2012;14(5):450-9.
 96. Scapini P, Lamagna C, Hu Y, Lee K, Tang Q, DeFranco AL, Lowell CA. B cell-derived IL-10 suppresses inflammatory disease in Lyn-deficient mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*; 2011; 108(41): E823-32.
 97. Mosser DM, Edwards JP. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol* 2008;8(12):958-69.
 98. Zawada A, Rogacev KS, Schirmer SH, Sester M, Böhm M, Fliser D, Heine GH. Monocyte heterogeneity in human cardiovascular disease. *Immunobiology* 2012;217(12):1273-84.
 99. Glezeva N, Baugh JA. Role of inflammation in the pathogenesis of heart failure with preserved ejection fraction and its potential as a therapeutic target. *Heart Fail Rev*; 2014;19(5):681-94.
 100. Nicoletti A, Michel JB. Cardiac fibrosis and inflammation: interaction with hemodynamic and hormonal factors. *Cardiovasc Res*1999;41(3):532-43.

101. Hinglais N, Heudes D, Nicoletti A, Mandet C, Laurent M, Bariéty J, Michel JB. Colocalization of myocardial fibrosis and inflammatory cells in rats. *Lab Invest*; 1994;70(2):286-94.
102. Souders CA, Bowers SLK, Baudino TA. Cardiac Fibroblast: The Renaissance Cell. *Circ Res*2009;105(12):1164-76.
103. Bruckner B, Razeghi P, Stetson S, Thompson L, Lafuente J, Entman M, Loebe M, Noon G, Taegtmeier H, Frazier OH, Youker K. Degree of cardiac fibrosis and hypertrophy at time of implantation predicts myocardial improvement during left ventricular assist device support. *J Heart Lung Transplant*; 2004;23(1):36-42.
104. Passlick B, Flieger D, Ziegler-Heitbrock HW. Identification and characterization of a novel monocyte subpopulation in human peripheral blood. *Blood*; 1989;74(7):2527-34.
105. Ziegler-Heitbrock L, Ancuta P, Crowe S, Dalod M, Grau V, Hart DN, Leenen PJM, Liu YJ, MacPherson G, Randolph GJ, Scherberich J, Schmitz J, Shortman K, Sozzani S, Strobl H, Zembala M, Austyn JM, Lutz MB. Nomenclature of monocytes and dendritic cells in blood. *Blood* 2010;116(16):e74-80.
106. Goldstein DJ, Moazami N, Seldomridge A, Laio H, Ashton Jr RC, Naka Y, Pinsky DJ, Oz MC. Circulatory Resuscitation With Left Ventricular Assist Device Support Reduces Interleukins 6 and 8 Levels. *Ann Thorac Surg* 1997;63(4):971-4.
107. Mann D. Recent Insights into the role of Tumor Necrosis Factor in the Failing Heart. *Heart Fail Rev* 2001;6(2):71-80.
108. Chistiakov DA, Sobenin IA, Orekhov AN. Vascular Extracellular Matrix in Atherosclerosis. *Cardiol Rev* 2013;21(6):270–88.
109. Berk BC, Fujiwara K, Lehoux S. ECM remodeling in hypertensive heart disease. *J Clin Invest* 2007;117(3):568-75.
110. Li YY, Feldman AM, Sun Y, McTiernan CF. Differential Expression of Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in the Failing Human Heart. *Circulation* 1998;98(17):1728-34.
111. Krayenbuehl HP, Hess OM, Monard ES, Schneider J, Mall G, Turina M. Left Ventricular Myocardial Structure in Aortic Valve Disease Before, Intermediate, and Late After Aortic Valve Replacement. *Circulation* 1989;79(4):744-55.
112. Klotz S, Foronjy RF, Dickstein ML, Gu A, Garrelds IM, Danser AH, Oz MC, D'Armiento J, Burkhoff D. Mechanical unloading during left ventricular assist device support increases left ventricular collagen cross-linking and myocardial stiffness. *Circulation* 2005;112(3):364-74.
113. Bruggink AH, van Oosterhout MF, de Jonge N, Ivangh B, van Kuik J, Voorbij RH, Cleutjens JP, Gmelig-Meyling FH, de Weger RA. Reverse remodeling of the myocardial extracellular matrix after prolonged left ventricular assist device support follows a biphasic pattern. *J Heart Lung Transplant* 2006;25(9):1091-8.

114. Luchner A. BNP und NT-proBNP: Zwei kardiale Marker werden „erwachsen“. *Dtsch Arztebl* 2016;113(41 Suppl):10-2.
115. Mestroni L, Maisch B, McKenna WJ, Schwartz K, Charron P, Rocco C, Tesson F, Richter A, Wilke A, Komajda M. Guidelines for the study of familial dilated cardiomyopathies. Collaborative Research Group of the European Human and Capital Mobility Project on Familial Dilated Cardiomyopathy. *Eur Heart J* 1999;20(2):93-102.
116. Müller J, Wallukat G, Weng YG, Dandel M, Spiegelsberger S, Semrau S, Brandes K, Theodoridis V, Loebe M, Meyer R, Hetzer R. Weaning from mechanical cardiac support in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circulation* 1997;96(2):542-9.
117. Nicoletti A, Michel JB. Cardiac fibrosis and inflammation: interaction with hemodynamic and hormonal factors. *Cardiovasc Res* 1999;41(3):532-43.

7. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Jeremias Schmidt, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Die Auswirkung des angeborenen Immunsystems am Beispiel von Makrophagenpopulationen auf das potentiell reversible kardiale Remodeling als prädiktiver Marker für das Weaning von mechanischen Kreislaufunterstützungssystemen“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Ort, Datum, Unterschrift

8. Danksagung

Die vorliegende Arbeit entstand an der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie sowie dem Arbeitsbereich Herzpathologie des Deutschen Herzzentrums Berlin, Berlin, Deutschland. Sie wurde vom Promotionsausschuss der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin als Dissertation angenommen. Für mich war die Erstellung dieser Arbeit eine Herausforderung und persönlich bereichernde Erfahrung. Den zahlreichen Personen, die mich unterstützt haben, möchte ich an dieser Stelle ganz herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt zunächst meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. med. Potapov, für seine hervorragende Unterstützung und Frau Dr. Wassilew für ihr persönliches Engagement bei der Betreuung dieser Arbeit.

Weiter möchte ich Herrn Wilke (Firma Nikon), Frau Fricke (MTA Herzpathologie), Frau Czerlinski (MTA Herzpathologie), Frau Rahmstorf (Sekretariat Herzpathologie), Frau Weber (Foto- und Grafikabteilung), Frau Gale (Englisches Lektorat), Frau Benhennour (Deutsches Lektorat) und Frau Stein (Statistik) für ihre Unterstützung danken.

Und schließlich gilt der Dank meiner Familie Eva, Jona, Theodor und meinen Eltern Dr. med. Hannelore und Dr. med. Wolfram Schmidt, die mich bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.