

Charité – Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin
Aus der Medizinischen Klinik II
Abteilung für Kardiologie und Pulmologie
Direktor: Prof. Dr. med. H.-P. Schultheiss

Bedeutung der myokardialen Entzündung für die Induktion der MMP/TIMP-Expression bei
Patienten mit inflammatorischer Kardiomyopathie

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der
Medizinischen Doktorwürde
des Charité –Universitätsmedizin Berlin
Campus Benjamin Franklin

vorgelegt von
Katharina Hoppe
aus Bonn

Referent: PD. Dr. med. M. Pauschinger

Korreferent: Prof. Dr. E. Fleck

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin der Charité –
Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin

Promoviert am: 03.09.2004

Abstract

Obwohl die Degradation der extrazellulären Matrix durch das proteolytische System an Matrixmetalloproteinasen (MMP) eine entscheidende Rolle für das myokardiale Remodeling der Herzinsuffizienz spielt, ist bis heute die Regulation der myokardialen MMP-Expression nicht eindeutig geklärt. In der vorliegenden Studie wurde die Relevanz der chronischen Entzündung des Myokards für die Induktion der MMP-Expression bei Patienten mit inflammatorischer dilatativer Kardiomyopathie (infDCM) analysiert. 15 Patienten mit dilatativer Kardiomyopathie (EF $33\pm 12\%$) wurden in die Studie eingeschlossen und mit einer Kontrollgruppe (KG) von 9 Patienten mit lokoregionaler linksventrikulärer Dysfunktion verglichen (EF $69\pm 5\%$). Rechtsventrikuläre Myokardbiopsien aller 24 Patienten wurden durch histologische (Dallas-Kriterien) und immunhistologische (Infiltration an CD3 T-Lymphozyten) Techniken hinsichtlich der myokardialen Entzündung analysiert. Bei keinem der Patienten konnte histologisch eine aktive Myokarditis oder eine Borderline-Myokarditis diagnostiziert werden. 7/15 Patienten (47%) wurden aufgrund des immunhistologischen Befundes einer signifikant erhöhten Infiltration von CD3 T-Lymphozyten/High Power Field ($3,40\pm 2,92$ versus $0,53\pm 0,28$) als infDCM klassifiziert.

Mittels semiquantitativer RT-PCR wurde die Menge an mRNA von MMP-3 und seinem Inhibitor, Tissue Inhibitor of Metalloproteinases, TIMP-4, quantifiziert. Eine signifikante Erhöhung der mRNA Menge von MMP-3 ($0,907\pm 0,835$ vs. $0,269\pm 0,165$) war mit einer signifikanten Erniedrigung von TIMP-4 ($0,634\pm 0,328$ vs. $0,890\pm 0,102$) bei Patienten mit infDCM im Vergleich zur Kontrollgruppe assoziiert (MANOVA, ANOVA, LSD-Test, $p < 0,05$). Dabei korrelierte der Grad der inflammatorischen Reaktion des Myokards positiv mit der mRNA von MMP-3 ($r=0,463$, $p=0,013$) und negativ mit der mRNA Menge an TIMP-4 ($r= -0,337$, $p=0,057$). Es konnte jedoch kein signifikanter Unterschied der mRNA Menge von MMP-3 und TIMP-4 bei DCM ohne signifikante Infiltration mit T-Lymphozyten im Vergleich zur Kontrollgruppe festgestellt werden.

Die chronische myokardiale Entzündung (infDCM) ist mit einer Erhöhung von MMP-3 ohne Gegenregulation der TIMP-4 Expression verbunden. Diese Imbalance der MMP-3 und TIMP-4 Expression kann eine zentrale Rolle für die Progression der linksventrikulären Funktion und somit große therapeutische Implikationen haben.

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	5
1.1 Die Kardiomyopathie	6
1.2 Die dilatative Kardiomyopathie (DCM)	9
1.2.1 Epidemiologie und Ätiologie	10
1.2.2 Klinik der DCM	10
1.2.3 Entzündliche Herzmuskelerkrankungen als Ursache einer DCM.....	11
1.2.3.1 Klinik und Verlauf entzündlicher Herzmuskelerkrankungen	13
1.2.3.2 Pathogenese	13
1.2.3.3 Diagnostik und immunhistologische Kriterien	14
1.2.3.4 Einteilung der chronisch entzündlichen Herzmuskelerkrankungen.....	15
1.2.3.5 Die inflammatorische Kardiomyopathie als postmyokardiale Spätform	16
1.2.4 Idiopathische dilatative Kardiomyopathie	17
1.2.5 Veränderungen der extrazellulären Matrix bei der DCM	17
1.2.5.1 Bedeutung der EZM für die linksventrikuläre Funktion.....	18
1.2.5.2 Aufbau und Synthese der EZM.....	19
1.2.5.3 Die Matrixmetalloproteinasen.....	21
1.2.5.3.1 Myokardiale MMPs.....	22
1.2.5.3.2 Endogene Inhibition der MMPs	22
1.2.5.4 Bedeutung der MMPs für das linksventrikuläre Remodeling.....	24
1.2.5.4.1 MMP-Expression und linksventrikuläre Funktion.....	24
1.2.5.4.2 Dysbalance des myokardialen MMP/TIMP Quotienten	25
1.2.5.4.3 Exogene MMP Inhibition.....	26
1.2.5.5 Bedeutung einer myokardialen Entzündung für das Remodeling der EZM	26
1.2.6 Pathophysiologische Grundlagen der DCM.....	28
1.2.6.1 Hämodynamische Veränderungen	28
1.2.6.2 Kompensationsmechanismen	29
1.2.7 Therapie der DCM	31
1.2.7.1 Allgemeinmaßnahmen	32
1.2.7.2 Symptomatische Pharmakotherapie	32
1.2.7.3 Neuere pharmakologische Therapien und weitere therapeutische Aspekte.....	33
1.2.7.4 Kausale Therapieansätze für die inflammatorische Kardiomyopathie	34

1.2.8 Prognose und Verlauf der DCM.....	34
1.3 Herleitung der Fragestellung und Formulierung der Hypothesen.....	35
2. Material und Methoden	39
2.1 Studiendesign und Gruppeneinteilung	39
2.1.1 Gruppe der dilatativen Kardiomyopathie (DCM)	40
2.1.1.1 Patienten mit einer inflammatorischen DCM (infDCM)	40
2.1.1.2 Patienten mit einer idiopathischen DCM (idDCM)	40
2.1.2 Kontrollgruppe (KG).....	41
2.2 Das Patientenkollektiv.....	41
2.2.1 Demographische und anamnestiche Daten	41
2.2.2 Technische Untersuchungen	42
2.2.2.1 EKG.....	42
2.2.2.2 Echokardiographie in Ruhe:.....	42
2.2.2.3 Radionuklidventrikulographie.....	43
2.2.2.4 Linksherzkatheter	43
2.2.2.5 Rechtsherzkatheter	43
2.2.2.6 Molekularbiologie	44
2.2.2.7 Histologie	44
2.2.2.8 Immunhistologie.....	45
2.3 Gewebepräparation und molekularbiologische Methoden.....	45
2.3.1 RNA-Präparation mittels TRIZOL [®]	45
2.3.2 DNase Verdau	46
2.3.3 Reverse Transkription	47
2.3.4 Agarosegelelektrophorese	47
2.3.5 Optimierung der PCR-Bedingungen	48
2.3.5.1 Primeranlagerungstemperatur	48
2.3.5.2 Zyklusoptimierung	49
2.3.6 Semiquantitative RT-PCR.....	50
2.4 Eingesetzte Arbeitsmittel	52
2.5 Vorstudie zur Bestimmung des Stichprobenfehlers.....	56
2.6 Statistische Methoden	56

2.6.1 Auswertung der Daten zu den Patientenkollektiven	57
2.6.2 Auswertung der Vorstudie	58
2.6.3 Auswertung der Studie	58
3. Ergebnisse	60
3.1 Ergebnisse der Vorstudie	60
3.1.1 Das Patientenkollektiv der Vorstudie.....	60
3.1.2 Der Stichprobenfehler	63
3.2 Ergebnisse der Studie	66
3.2.1 Darstellung des Patientenkollektivs	66
3.2.1.1 Vergleich der Patientenkollektive von KG und DCM	66
3.2.1.2 Vergleich der Patientenkollektive idDCM und infDCM	70
3.2.2 Darstellung der PCR-Ergebnisse.....	73
3.2.2.1 Explorative Datenanalyse.....	74
3.2.2.2 Statistische Datenanalyse	77
3.2.2.2.1 Gruppenunterschiede.....	77
3.2.2.2.2 Korrelation	79
4. Diskussion	82
4.1 Der methodische Ansatz.....	82
4.2 Ergebnisse der Vorstudie	83
4.2.1 Das Patientenkollektiv.....	83
4.2.2 Der Sampling Error	84
4.3 Ergebnisse der Studie	84
4.3.1 Das Patientenkollektiv.....	84
4.3.2 Resultate der RT-PCR.....	86
4.4. Bedeutung der Ergebnisse	89
5. Zusammenfassung	90
6. Literaturverzeichnis	91

7. Anhang	114
7.1 Abkürzungsverzeichnis	114
7.2 Abbildungsverzeichnis	118
7.3 Tabellenverzeichnis.....	120
7.4 Formeln und Normwerte	123
7.5 Patientenübersicht	125
7.5.1 Demographie und Anamnese	125
7.5.2 Medikation	126
7.5.3 Hämodynamik	127
7.5.4 RNV, Echo und EKG	128
7.5.5 Immunhistologie.....	129
7.5.6 Histologie und Molekularbiologie	130
7.6 Publikationsliste	131
7.7 Wissenschaftliche Auszeichnungen	132
7.8 Danksagung.....	133
7.9 Lebenslauf	134