

Aus der medizinischen Klinik II, Abteilung für Kardiologie und Pulmonologie
des Universitätsklinikums Benjamin Franklin
der Freien Universität Berlin
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. H.-P. Schultheiss

**Th1-Th2-Zytokine
bei entzündlicher Herzmuskelerkrankung**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
des Fachbereichs Humanmedizin
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Ilkay Kazak

aus Torbali

Referent: Prof. Dr. med. H.-P. Schultheiss

Koreferent: Prof. Dr. med. Th. Blankenstein

Gedruckt mit der Genehmigung des Fachbereichs Humanmedizin
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 17. Mai 2002

*gewidmet meinen Eltern und all denjenigen, besonders Vanessa,
die mich während der experimentellen und schriftlichen Arbeit ertragen mußten*

INHALTSVERZEICHNIS

| | | |
|----------|---|-----------|
| 1 | EINLEITUNG | 7 |
| 1.1 | ENTZÜNDLICHE HERZMUSKELERKRANKUNG | 7 |
| 1.1.1 | Ätiologie und Pathogenese der Myokarditis | 7 |
| 1.1.2 | Tiermodelle der Myokarditis | 8 |
| 1.1.2.1 | Immunantwort und Herzmuskelschädigung | 10 |
| 1.1.3 | Diagnostik der entzündlichen Herzmuskelerkrankung | 14 |
| 1.1.3.1 | Histologische Befunde in Myokardbiopsien | 14 |
| 1.1.3.2 | Immunhistologische Befunde in Myokardbiopsien | 15 |
| 1.1.3.3 | Virusnachweis | 17 |
| 1.1.4 | Krankheitsentitäten der entzündlichen Herzmuskelerkrankungen | 18 |
| 1.2 | DAS TH1-/TH2-ZELL-KONZEPT | 21 |
| 1.2.1 | Th1- / Th2-Zellen | 22 |
| 1.2.2 | Effektor-Funktionen der Th-Zell-Subtypen | 23 |
| 1.2.3 | Entwicklung von Th1- und Th2-Subtypen | 24 |
| 1.2.3.1 | Entwicklung von Th1-Subtypen | 24 |
| 1.2.3.2 | Entwicklung von Th2-Subtypen | 26 |
| 1.2.4 | Th1-/Th2-Switch | 27 |
| 1.2.5 | Th1- oder Th2 beeinflussende Faktoren | 28 |
| 1.2.6 | Weitere Marker des Th1/Th2-Zell-Systems | 29 |
| 1.2.7 | Klinische Beispiele für Th1- oder Th2-Muster bei humanen Erkrankungen | 29 |
| 2 | FRAGESTELLUNG | 31 |
| 3 | PATIENTEN UND MATERIAL | 32 |
| 3.1 | PATIENTEN | 32 |
| 3.2 | MATERIAL | 34 |
| 3.2.1 | Probengewinnung für ELISA und intrazelluläre Zytokinbestimmung | 34 |
| 4 | METHODEN | 35 |
| 4.1 | ENZYMIMMUNOASSAY (EIA) | 35 |
| 4.1.1 | Bestimmung der Zytokine IFN γ , IL-4 und IL-6 | 35 |
| 4.1.1.1 | Prinzip des Assays | 35 |
| 4.1.1.2 | Assaykomponenten und Reagenzien | 36 |
| 4.1.1.3 | Geräte | 37 |
| 4.1.1.4 | Durchführung | 37 |
| 4.1.1.5 | Auswertung | 40 |
| 4.1.2 | Bestimmung des Zytokins IL-12 | 42 |
| 4.1.2.1 | Prinzip des Assays | 42 |
| 4.1.2.2 | Assaykomponenten und Reagenzien | 42 |
| 4.1.2.3 | Geräte | 43 |
| 4.1.2.4 | Durchführung | 43 |
| 4.1.2.5 | Auswertung | 44 |
| 4.1.3 | Bestimmung des löslichen Oberflächenmarkers CD30 | 45 |
| 4.1.3.1 | Prinzip des Assays | 45 |
| 4.1.3.2 | Assaykomponenten und Reagenzien | 45 |
| 4.1.3.3 | Geräte | 46 |
| 4.1.3.4 | Durchführung | 46 |
| 4.1.3.5 | Auswertung | 48 |
| 4.2 | INTRAZELLULÄRE ZYTOKINMESSUNG | 49 |
| 4.2.1 | Prinzip der intrazellulären Zytokinmessung | 49 |

| | | |
|----------|--|------------|
| 4.2.2 | <i>Reagenzien</i> | 50 |
| 4.2.3 | <i>Geräte</i> | 52 |
| 4.2.4 | <i>Durchführung</i> | 53 |
| 4.2.4.1 | Probengewinnung | 53 |
| 4.2.4.2 | Stimulation (=Aktivierung) | 53 |
| 4.2.4.3 | Oberflächenmarkierung | 53 |
| 4.2.4.4 | Lyse | 54 |
| 4.2.4.5 | Permeabilisierung | 54 |
| 4.2.4.6 | Erster Waschschrift | 54 |
| 4.2.4.7 | Intrazelluläre Markierung..... | 54 |
| 4.2.4.8 | Zweiter Waschschrift..... | 55 |
| 4.2.4.9 | Fixierung | 55 |
| 4.2.5 | <i>Analyse und Auswertung</i> | 55 |
| 4.3 | STATISTIK..... | 58 |
| 5 | ERGEBNISSE | 59 |
| 5.1 | IMMUNHISTOLOGISCHER BEFUND UND ZYTOKINE..... | 59 |
| 5.1.1 | <i>Immunhistologischer Befund und IL-4</i> | 59 |
| 5.1.2 | <i>Immunhistologischer Befund und IFNγ</i> | 61 |
| 5.1.3 | <i>Immunhistologischer Befund und IL-4/IL-12</i> | 62 |
| 5.1.4 | <i>IL-4 bzw. IL-4/IL-12 und immunhistologischer Befund in der Folgebiopsie</i> | 63 |
| 5.1.4.1 | IL-4 und Entzündungspersistenz bzw. Spontanheilung | 67 |
| 5.1.5 | <i>CD30 und immunhistologischer Befund in der Folgebiopsie</i> | 68 |
| 5.1.5.1 | CD30 und Entzündungspersistenz | 71 |
| 5.2 | VIRUSBEFUND UND ZYTOKINE | 73 |
| 5.2.1 | <i>Virusbefund und intrazelluläre Bestimmung von IFNγ und IL-4</i> | 73 |
| 5.2.2 | <i>Virusbefund und IL-12 im Serum</i> | 75 |
| 5.2.3 | <i>Enterovirus und IFNγ im Serum</i> | 78 |
| 5.2.4 | <i>Enterovirus und IL-4 im Serum</i> | 81 |
| 5.3 | KARDIALE HÄMODYNAMIK UND ZYTOKINE..... | 82 |
| 5.3.1 | <i>Intrazelluläre Bestimmung von IFNγ und IL-4 und kardiale Hämodynamik</i> | 82 |
| 5.3.1.1 | Intrazellulär ermittelte prozentuale Anteile von CD3 ⁺ -Zellen eines Th-Zytokintyps und kardiale Hämodynamik..... | 82 |
| 5.3.1.2 | Intrazellulär ermitteltes Zytokinmuster aller CD3 ⁺ -Zellen und Ejektionsfraktion..... | 85 |
| 5.3.2 | <i>Zytokine und Ejektionsfraktion</i> | 86 |
| 5.3.2.1 | IFN γ im Serum und Ejektionsfraktion..... | 86 |
| 5.3.2.2 | IL-6 im Serum und Ejektionsfraktion..... | 88 |
| 5.3.3 | <i>IFNγ im Serum und LVEDD</i> | 90 |
| 5.4 | BLUT AUS DEM KORONARSINUS VERSUS BLUT AUS PERIPHERER VENE | 93 |
| 6 | DISKUSSION | 96 |
| 6.1 | TIERMODELLE | 96 |
| 6.2 | HUMANE MYOKARDITIS..... | 97 |
| 6.2.1 | <i>Herzentzündung und Zytokine</i> | 99 |
| 6.3 | HÄMODYNAMISCHE BEOBACHTUNGEN | 102 |
| 6.4 | BLUT AUS DEM KORONARSINUS VERSUS BLUT AUS PERIPHERER VENE | 104 |
| 7 | ZUSAMMENFASSUNG | 106 |
| 8 | LITERATURVERZEICHNIS | 107 |
| | ANHANG | 130 |

| | | |
|------|----------------------------|-----|
| I. | ABBILDUNGSVERZEICHNIS..... | 130 |
| II. | TABELLENVERZEICHNIS..... | 131 |
| III. | DIAGRAMMVERZEICHNIS | 134 |
| IV. | ABKÜRZUNGEN..... | 137 |
| V. | LEBENS LAUF | 138 |
| VI. | DANKSAGUNG | 140 |