

1 Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind immer noch für ungefähr 50 % aller Todesfälle in der Bundesrepublik und anderen westlichen Industrienationen verantwortlich. Dies trifft sowohl auf Frauen als auch auf Männer zu. Die koronare Herzkrankheit und ihre Folgekrankheiten haben dabei den größten Anteil. Hochrechnungen für das Jahr 1994 ergaben in der Bundesrepublik Deutschland für beide Geschlechter und alle Altersgruppen insgesamt 261.000 Herzinfarkte (117.000 Frauen und 144.000 Männer). 69 % (181.000) der Patienten verstarben innerhalb von 28 Tagen. Bereits 60 % (109.000) der Todesfälle hatten sich vor der Aufnahme in die Klinik ereignet (Löwel 1996, Statistisches Bundesamt 1995).

1.1 Die koronare Herzerkrankung und ihre Risikofaktoren

1.1.1 Klinisches Bild der koronaren Herzerkrankung

Unter dem Begriff der koronaren Herzerkrankung werden verschiedene teilweise akut lebensbedrohliche Krankheitsbilder zusammengefaßt. Das Spektrum reicht vom Patienten mit instabiler Angina pectoris über den non-Q-wave-Infarkt ohne ST-Strecken-Hebungen im EKG und dem Q-wave-Infarkt mit ST-Strecken-Hebungen bis hin zum plötzlichen Herztod (Hamm 2000).

Ein akuter Myokardinfarkt liegt definitionsgemäß vor, wenn zwei der folgenden drei Kriterien erfüllt sind: typische Klinik, ST-Hebungen im EKG und herzmuskelspezifische Enzyme (Alpert et al., 2000).

In den Fällen, in denen kein Anhalt für einen transmuralen Myokardinfarkt vorliegen, geht man von einer instabilen Angina pectoris aus. Die Grundlage für die Risikostratifizierung der instabilen Angina pectoris bildet die Klassifikation nach Braunwald (Braunwald 1989, Hamm et al., 2000). Die instabile Angina pectoris umfasst ein Patientenkollektiv mit ganz unterschiedlicher Prognose. Bei Patienten mit Ruhe-Angina beträgt das Risiko, während des Krankenhausaufenthaltes zu versterben oder einen akuten Myokardinfarkt zu erleiden, 11 %. Selbst bei

Patienten mit einem geringeren Schweregrad der Angina pectoris nach Braunwald liegt das Risiko immer noch bei 4 % (Hamm et al., 2000).

Typische Beschwerden der Koronarischämie sind ein thorakales Engegefühl oder retrosternale Schmerzen, die beispielsweise in beide Arme, in den Hals oder in den Kiefer ausstrahlen. Diese Beschwerden können von einer vegetativen Symptomatik (Übelkeit, Kaltschweißigkeit, Luftnot) begleitet sein. Mitunter sind die Schmerzen im Epigastrium oder ausschließlich im Bereich des oberen Bewegungsapparates lokalisiert. Teilweise präsentieren sich die Patienten mit sogenannten atypischen Thoraxschmerzen. Lee et al. (1985) fanden in ihrer Studie bei 596 Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom, daß nur 24 % der Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt und 30 % der Patienten mit einer instabilen Angina ein thorakales Druckgefühl empfanden. Weitere 21 % der Infarktpatienten litten unter einer instabilen Angina und 23 % unter einem retrosternalen Brennen oder hatten Dyspepsie-Beschwerden. Auch heute noch werden bis zu 4 % der Patienten mit einem beginnendem akuten Herzinfarkt, die eine Klinik aufsuchen, fälschlicherweise nach Hause entlassen (Hamm et al., 1997). Jedoch nur 30 - 40 % der Patienten, die mit Brustschmerz aufgenommen werden, haben tatsächlich ein akutes Koronarsyndrom (Gibler et al., 1990). Aufgrund des sehr variablen Erscheinungsbildes der instabilen Angina pectoris und des Myokardinfarktes kann es daher zu Fehldiagnosen und falschen Therapien kommen. In der Framingham-Studie konnte gezeigt werden, daß sich 25 % der Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt mit einer atypischen Klinik präsentierten. In dieser Studie blieben 25 - 30 % der Fälle mit einem akuten Ereignis klinisch unentdeckt (Kannel et al., 1984).

1.1.2 Pathologische Anatomie und Atherogenese

Der Mechanismus der Entstehung der Atherosklerose (Arteriosklerose) der Koronarien ist noch nicht vollständig aufgeklärt. Hinsichtlich pathogenetischer Zusammenhänge wurde schon früh einerseits die „Lipidhypothese“, andererseits die „Gerinnungshypothese“ formuliert. Ross führte die Lipid- und die Gerinnungshypothese zur sogenannten Response-to-injury-Theorie zusammen (Ross 1986, Ross 1999). Vereinfacht kommt es zu umschriebenen Läsionen der Endothelschicht, die durch starre Gefäßwände im Alter und durch verschiedene

Risikofaktoren begünstigt werden. Durch die Veränderungen des Gefäßendothels kommt es zur erhöhten Permeabilität der Endothelbarriere und zu einer gesteigerten Aufnahme von Plasma-Lipoproteinen (Ross 1986, Ross 1999).

Mechanistisch muß die Atherogenese als ein in der Regel multifaktorielles Geschehen verstanden werden. Besondere Bedeutung haben insbesondere cholesterinreiche Lipoproteine, wie durch den Terminus Atherosklerose bzw. -genese impliziert (Bräsen et al., 1997). Die Low-Density-Lipoproteine sind die für die Atherosklerose bedeutendste Lipoproteinfraktion im Blut. 70 % des zirkulierenden Cholesterins befinden sich im LDL. Sie zirkulieren mit einer Halbwertszeit von 2,5 - 3,5 Tagen im Blut und werden anschließend zu ca. 75 % über den LDL-Rezeptor von den Geweben aufgenommen (Heilige et al., 1995, Wieland 1991).

Nach initialer Schädigung des Endothels (Trigger, der die Entzündungsvorgänge in Gang setzt) kommt es zu einer Endothelaktivierung sowie zu einer Monozyten-/Makrophagenakkumulation (Carlos et al., 1994, Davies et al., 1993, Faruqi et al., 1993, Hansson 1993, Johnson-Tidey et al., 1994, Ross 1986, Ross 1993, Ylä-Herttula et al., 1991a, 1991b, Zhang et al., 1993). Diese Effekte haben eine Stimulation mit Proliferation der glatten Muskelzellen und deren Migration sowie deren Matrixsynthese zur Folge (Rekhter et al., 1994, Ross 1993, Thyberg et al., 1990). Die oxidierten Low-Density-Lipoproteine wirken zytotoxisch auf die Endothelzellen und sind somit mitverantwortlich für deren Verlust bei fortgeschrittenen Läsionen (Steinberg et al., 1989, Ylä-Herttula et al., 1991a, 1991b). Die Folge ist die Nekrose der Endothelzellschicht (Steinberg et al., 1989, Witztum 1994). Anschließend kommt es zu einer Kalzifikation. Beides geschieht möglicherweise im Sinne eines eher aktiven als degenerativen Prozesses (Berliner et al., 1995, Demer et al., 1994, Doherty et al., 1994). Durch diese Endothelschädigung werden einerseits Gerinnungsvorgänge mit Plättchenaktivierung und andererseits Fibrinpräzipitation in Gang gesetzt (Falk et al., 1995, Fuster et al., 1992a, 1992b, Rabbani et al., 1994).

Im Bereich der Schulter einer Plaque, in der die Mehrzahl der Fissuren auftreten und die besonders großen mechanischen Belastungen ausgesetzt ist, wurden vermehrt Entzündungszellen gefunden (Richardson et al., 1989). Bei Patienten mit schwerer instabiler Angina pectoris wurde in Atherektomiegewebe im Vergleich zu Patienten mit stabiler Angina pectoris, ein deutlich erhöhtes Verhältnis von Makrophagen zu glatten Muskelzellen festgestellt (van der Wal et al., 1997). Auch in Schnitten an rupturierten Plaques mit Thrombusanlagerung wurde histoche-

misch eine massive Akkumulation von Makrophagen im Bereich der Ruptur nachgewiesen (van der Wal et al., 1994). In solchen Atherektomiegeweben fanden sich vermehrt Metalloproteasen, die möglicherweise zytokinvermittelt im Rahmen von inflammatorischen Prozessen induziert wurden und zur Fissurbildung beitrugen (Galis et al., 1994). Andererseits wurden aber auch histologische Hinweise für eine entzündliche Aktivität bei Patienten festgestellt, die klinisch eine stabile Angina pectoris aufwiesen (van der Wal et al., 1996). Dies entspricht der Hypothese, daß Plaquerupturen häufig unbemerkt verlaufen und daher auch keine sehr enge Korrelation zwischen Histomorphologie und Klinik erwartet werden kann, außer bei einer ausgeprägten Ruptur mit stenosierendem Thrombus (Fuster et al., 1990, Kirstensen et al., 1997, Ross 1993).

1.1.3 Nicht-mikrobielle Risikofaktoren

Spätestens durch die epidemiologischen Untersuchungen der Framingham Studie vor 35 Jahren wurde gesichert, daß Stoffwechselstörungen über Veränderungen des Gefäßsystems zu einer Herzerkrankung führen können (Anderson et al., 1991, Kannel et al., 1967). Dafür sprach auch die klinische Erfahrung, daß Patienten mit **Diabetes mellitus** oder **familiärer Fettstoffwechselstörung** häufig an einem Herzinfarkt starben (Dietze et al., 2000). Neben den Störungen im Stoffwechsel wurden auch das **Alter**, das **männliche Geschlecht**, der **Hochdruck**, das **Übergewicht**, der **Streß** und das **Nikotin** als Risikofaktoren identifiziert (Benditt et al., 1980, Solberg et al., 1980, Stewart 1994). Bei einem Zusammentreffen mehrerer Risikofaktoren steigt das Risiko nicht additiv, sondern exponentiell (Bräsen et al., 1997).

1.1.4 Chlamydia pneumoniae als Risikofaktor der koronaren Herzerkrankung

In den letzten Jahren wurden Befunde veröffentlicht, die eine neue, zugleich aber auch kontrovers diskutierte Interpretation der Atherosklerose als persistierende Infektion großer Arterien durch Chlamydia pneumoniae in Betracht ziehen.

Im Jahre 1988 wurde erstmals von Saikku et al. (1988) in Finnland eine Korrelation zwischen Antikörpern mit Spezifität für Chlamydia pneumoniae und der Inzidenz eines akuten Koronarsyndroms beschrieben. So fanden sich bei Patienten mit nachgewiesenem Myokardinfarkt

signifikant häufiger positive Antikörpertiter gegen *Chlamydia pneumoniae* (68 %) als bei Kontrollpersonen (17 %). Diese Assoziation wurde in zahlreichen Studien von anderen Arbeitsgruppen bestätigt (Dahlen et al., 1995, Grayston et al., 1995, Jackson et al., 1997b, Liuzzo et al., 1994, Puolakainen et al., 1993).

1.2 Chlamydia pneumoniae und Atherosklerose (Arteriosklerose)

Die natürliche Infektion mit *Chlamydia pneumoniae* wird überwiegend als Tröpfcheninfektion über den Respirationstrakt erworben. Infektionsquellen sind insbesondere infizierte Mitmenschen (Berdal et al., 1997, Yamasaki et al., 1990, Yang et al., 1993). Wie seroepidemiologische Studien gezeigt haben, ist die Infektion durch *Chlamydia pneumoniae* weltweit verbreitet. In praktisch allen untersuchten geografischen Regionen betrug die Durchseuchung der Erwachsenen mehr als 50 % (Kern et al., 1993, Wang et al., 1990). Die Inzidenz ist zwischen dem fünften bis vierzigsten Lebensjahr am höchsten, was einem steilen Anstieg der Seroprävalenz in diesem Zeitraum entspricht. Anschließend steigt diese nur noch langsam an (Aldous et al., 1992, Grayston 1992).

Aus der hohen Durchseuchung kann geschlossen werden, daß die Mehrheit der Infektionen subklinisch oder leicht verläuft (Kleemola et al., 1988). Die Inkubationszeit ist für den *Chlamydia pneumoniae*-Infekt mit drei Wochen relativ lang (Kishimoto et al., 1994, Mordhorst et al., 1994). Wird bei einem leichten respiratorischen Infekt *Chlamydia pneumoniae* diagnostiziert, steht oft eine Sinusitis, eine Bronchitis oder eine milde Pneumonie im Vordergrund (Grayston 1992, Kuo et al., 1995b). Der Anteil von *Chlamydia pneumoniae* an Bronchitiden und Sinusitiden wird auf 5 % (Grayston 1992, Kuo et al., 1995b) und an ambulant erworbenen Pneumonien auf 10 % (Kuo et al., 1995b, Saikku et al., 1992, Peeling et al., 1996) geschätzt. Lebensbedrohliche und tödliche Verläufe sind selten (Grayston et al., 1989a, Marrie et al., 1987).

Primäres Zielorgan für *Chlamydia pneumoniae* ist das Alveolar- und Bronchialepithel. Um eine endovaskuläre Infektion mit entsprechender Immunpathologie zu initiieren, ist der Zugang zur systemischen Zirkulation erforderlich. Makrophagen (Alveolar-Makrophagen, Blutmonozyten) bieten einen solchen Zugang, da *Chlamydia pneumoniae* ein obligat intrazellulärer Erreger ist. Er kann nicht nur nach Phagozytose überleben, sondern sich durch Invasion

von Wirtszellen, wie z.B. Makrophagen, Endothelzellen, dem Angriff anderer körpereigener Abwehrmechanismen (z. B. Antikörpern) entziehen, um von hier aus im gesamten Organismus Verbreitung zu finden (Kuo et al., 1993b, Maass et al., 1998).

Die Infektion führt zu einer vermehrten Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen (TNF- α , IFN- γ , IL-6) sowie der Expression von Adhäsionsmolekülen (VCAM-1, ICAM-1, P-Selektin, E-Selektin) durch die infizierte Endothelzelle (Coombes et al., 1999, Kol et al., 1999a, Ross 1993, Summersgill et al., 2000). Das freigesetzte TNF- α aktiviert u.a. neutrophile Granulozyten wie auch Monozyten/Makrophagen. Gemeinsam mit IL-6 wird die Bildung von Akut-Phase-Proteinen in der Leber induziert. Es resultiert eine vermehrte Bildung von CRP sowie Fibrinogen (Danesh et al., 1998). Die Freisetzung von IL-8 und MCP-1 initiiert die Stimulation der transendothelialen Monozyten- und Neutrophilenmigration einschließlich der Monozytendifferenzierung (Molestina et al., 1999). Durch die Expression von Adhäsionsmolekülen wirken die Endothelzellen auf Leukozyten adhäsiv. Desweiteren wird ein initiales Anhaften von Gedächtnis-T-Lymphozyten sowie weiterer Leukozyten und deren Durchtritt durch die Gefäßwand vermittelt (Coombes et al., 2001, Kol et al., 1999a, Mahony et al., 2001, Summersgill et al., 2000). Der Befall von infizierten Monozyten führt zum Anstieg von zytotoxischen Sauerstoffradikalen. In der Folge kommt es zur Schädigung der Endothelbarriere und zur zunehmenden transendothelialen Zellmigration von Monozyten/Makrophagen (Coombes et al., 2001, Gaydos et al., 2000, Kol et al., 1999a, Molestina et al., 1999, Netea et al., 2000). Gemeinsam mit chlamydialen LPS wird die Oxidation von LDL zu oxLDL initiiert. Es kommt zur Modifikation von Fettsäureketten in den Membranphospholipiden der Lipoproteinmembran sowie zur oxidativen Veränderung der Apolipoproteine. Folge der Oxidation von Lipoproteinen ist zum einen die Aufnahme durch Scavenger-Rezeptoren, was die Schaumzellbildung (veränderte Monozyten/Makrophagen) einleitet. Zum anderen kommt die direkte proinflammatorische Wirkung dieser Lipoproteine zum Tragen, die sowohl zytotoxische als auch chemotaktische und adhäsionsfördernde Eigenschaften ausüben und zur Monozytenaggregation sowie zur Monozytenadhäsion am Endothel führen (Kalayoglu et al., 1998, 1999, Mayr et al., 1999, Valtonen 1999). Experimente mit menschlichen Makrophagen *in vitro* haben gezeigt, daß infizierte Zellen einen deutlich erhöhten Wert an Cholesterinestern besitzen und das Erscheinungsbild von den in Atheromen gefundenen Schaumzellen annehmen (Kalayoglu et al., 1998, 1999). Dieses Stadium der Erkrankung mit der Präsenz von Entzündungs- und Schaumzellen in der

Intima ist reversibel und führt noch zu keinen klinischen Konsequenzen. Erst durch anhaltende Stimuli kommt es zur Zunahme der Strukturveränderungen innerhalb der Gefäßwand.

Infolge der anhaltenden Freisetzung von inflammatorischen Zytokinen und Wachstumsfaktoren (PDGF-B, b-FGF, HB-EGF, IGFBP 4, wachstumsassoziertes Protein 43) durch infizierte Endothelzellen und Makrophagen kommt es schließlich zur Aktivierung glatter Muskelzellen in der Media. Dies hat eine Proliferation sowie eine Migration in die Neointima zur Folge (Coombes et al., 1999). Von aktivierten T-Lymphozyten synthetisiertes IFN- γ führt in der Plaqueschulter zur lokalen Inhibition der Kollagenfasersynthese und damit zur Plaqueschwächung. Auch wird dem IFN- γ eine wichtige Rolle bei der Auslösung des programmierten Zelltodes glattmuskulärer Zellen zugeschrieben (Warner et al., 1989). Neben dem von Lymphozyten sezernierten IFN- γ führen die aus Makrophagen/Schaumzellen freigesetzten proteolytischen Enzyme, Plasminogenaktivatoren und Proteasen, zur Zerstörung von Matrixbestandteilen. Von besonderer Bedeutung sind die extrazellulär aktiven Metalloproteinasen, beispielsweise MMP-2, MMP-9, Kollagenasen, Stromelysin, Gelatinase B, usw., die in einem inaktiven Zustand sezerniert und von kosezernierten Inhibitoren (TIMP 1, TIMP 2) reguliert werden. Die Freisetzung von Metalloproteinasen wird durch die freigesetzten proinflammatorischen Zytokine stimuliert (Warner et al., 1989, Kol et al., 1998, Lehr et al., 2002). Vor diesem Hintergrund ist es nicht verwunderlich, daß diese deutlichen Strukturänderungen der Gefäßwand mit Vermehrung des Fasermaterials, Auflockerung der Lamina elastica interna sowie Verdünnung der Media zu einer Verschiebung des labilen Gleichgewichtes zur **rupturgefährdeten vulnerablen Plaque** führen (Lehr et al., 2002).

Diese genannten Effekte haben eine zunehmende Hämostaseverschiebung zugunsten prothrombotischer Faktoren zur Folge. Die defekte Endothelbarriere bedingt eine vermehrte Freisetzung des prothrombotisch wirkenden Tissue Factor (TF). Es kommt zu einer vermehrten Thrombinwirkung. Prokoagulatorisch wirkt zusätzlich ein Anstieg von Fibrinogen, wofür überwiegend die proinflammatorisch wirksamen Zytokine (IL-6, TNF- α) verantwortlich sind (Cooper et al., 2000, Sakinnen et al., 1998, Tracey et al., 1999). Infolge der anhaltenden Freisetzung von Sauerstoffradikalen durch aktivierte Makrophagen und glatte Muskelzellen kommt es zu einer zunehmenden Membranperoxidation und Zytotoxizität. Dieser gesamte

Prozess wird durch die aktivierten T-Lymphozyten verstärkt (Azenabor et al., 2000, Berliner et al., 1995, Libby et al., 1999, Lusis 2000).

Die Summe der beschriebenen Mechanismen führt schließlich zur Plaqueruptur vorwiegend im Bereich der Plaqueschulter, in der der relative zelluläre Anteil an Makrophagen besonders hoch ist. Als Folge kommt es zum Kontakt des hochthrombogenen Plaqueinhaltes mit der Blutstrombahn und letztendlich zur Ausbildung wechselnder intrakoronarer Thromben, die initial noch durch den Blutfluß frei gespült werden können (Fuster 1994, Marx et al., 1998, Moreno et al., 1996, Neumann et al., 1996). Die Folge sind zyklische Flussschwankungen bis hin zur kompletten Ischämie (Davies 2000, Folts 1991). Hieraus ergibt sich der fließende Übergang zwischen den akuten Koronarsyndromen: Kritische Reduktion des Blutflusses oder kürzer anhaltende Okkulsionen führen zur Ischämie, die je nach Ausmaß mit (rudimentärer Myokardinfarkt) oder ohne (instabile Angina) Myokardzellnekrose einhergeht (Davies 2000). Wird eine komplette thrombotische Okkulsion durch Fibrin stabilisiert, kommt es zum Vollbild des akuten Myokardinfarktes (Davies 2000).

1.2.1 Aufbau und Lebenszyklus von *Chlamydia pneumoniae*

Die Gattung *Chlamydia* umfaßt drei Spezies: *C. psittaci*, *C. trachomatis* und *C. pneumoniae*. Während *C. psittaci* und *C. trachomatis* als Erreger von Infektionen des Respirations- und Urogenitaltraktes schon 1930 bzw. 1935 charakterisiert wurden, wurde *Chlamydia pneumoniae*, zunächst als TWAR (nach den ersten Isolaten TW-183 und AR-39) bezeichnet und 1986 erstmalig durch Grayston beschrieben (Grayston et al., 1986, 1989b).

Die Chlamydien sind obligat intrazellulär parasitierende, gramnegative Mikroorganismen, die DNA und RNA, Ribosomen, eine zytoplasmatische Membran und eine Zellwand, die im Aufbau der Wand gramnegativer Bakterien entspricht, besitzen.

Die extrazelluläre Form (Elementarkörperchen) ist ein kugelförmiges Bakterium von 0,25 bis 0,3 µm Durchmesser, das von einer dreischichtigen Zellwand umgeben ist. Die äußere Membran besitzt zwei wichtige Oberflächenantigene. Das LPS (Lipopolysaccharid) enthält eine wichtige spezifische Antigen-Determinante. Es ist aufgrund seiner exponierten Lage für

die Bakterien-Wirtszell-Interaktion sehr bedeutsam. Ferner kann es die Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen (IL-1, IL-6) initiieren. Das zweite wesentliche Oberflächenantigen ist das MOMP, das aus einem spezie- und serospezifischen Epitop besteht (Brade et al., 1990, Brade 1993).

Der Vermehrungszyklus nimmt ca. 48 Stunden in Anspruch und beginnt mit der Anheftung des infektiösen Elementarkörpers an die Zellmembran und die Aufnahme mittels Endozytose durch die Wirtszelle. Etwa ein bis zwei Stunden nach der Infektion bilden sich die eingedrungenen Elementarkörperchen zu Initialkörperchen um. Zwölf Stunden nach Infektion beginnen sich die nicht infektiösen Initialkörperchen, durch Teilung zu vermehren. Es entsteht eine in rascher Ausdehnung begriffene Vakuole voller Chlamydien unterschiedlicher Entwicklungsstadien. Zwei bis drei Tage später rupturiert die befallene Zelle, die durch Kondensation entstandenen Elementarkörperchen werden freigesetzt und können wiederum andere Zellen befallen (Kähler et. al, 1999, Moulder 1991).

1.2.2 Nachweis von Chlamydia pneumoniae in atherosklerotischen Plaques

Zahlreiche Studien zum Nachweis von Chlamydia pneumoniae in atherosklerotischen Plaques sind bisher publiziert worden. Das von den Arbeitsgruppen jeweils verwendete Untersuchungsgut war sehr unterschiedlich. Es handelte sich sowohl um autoptisches als auch operativ gewonnenes Material, wobei in der Mehrzahl Koronararterien, in den anderen Fällen Aorten, Karotiden und Bypässe analysiert wurden (Juvonen et al., 1997, Muhlestein et al., 1996, Weiss et al., 1996).

Der erste direkte Erregernachweis von Chlamydia pneumoniae in atherosklerotischem Gewebe gelang 1992 mittels elektronenmikroskopischer Untersuchungen an Autopsiematerial. Dabei imponierten die Erreger als intrazelluläre, birnenförmige Partikel, deren Morphologie mit der von Chlamydia pneumoniae übereinstimmte. Zur Bestätigung wurden an demselben Material immuncytochemische Tests durchgeführt (Shor et al., 1992). Kuo et al. (1993a) konnten ein Jahr später in zwanzig von dreißig untersuchten Koronararterien Chlamydia pneumoniae immunhistologisch oder mit der PCR nachweisen. Der gleichen Arbeitsgruppe gelang in einer weiteren Untersuchung Chlamydia pneumoniae nur in atherosklerotischen Läsionen, nicht aber in unauffälligen Koronararterien zu beobachten (Kuo et al., 1995a).

Seither wurden in einer Vielzahl von Publikationen unterschiedliche Methoden zum Nachweis von *Chlamydia pneumoniae* verwendet. Hierzu zählen der elektronenmikroskopische, immunhistochemische und fluoreszenzmikroskopische Nachweis des Erregers ebenso wie die kulturelle Erregeranzucht, die In-situ-Hybridisierung und die Polymerasekettenreaktion. Auffallend ist dabei die große Streubreite, mit der der Erreger in den Studien beobachtet wurde (Campbell et al., 1995, Juvonen et al., 1997, Kuo et al., 1993a, 1993b, Muhlestein et al., 1996, Weiss et al., 1996). Zum anderen wurde in den wenigen Untersuchungen, die unauffällige Gefäßabschnitte als Kontrollen untersuchten, der Erreger signifikant häufiger in atherosklerotisch veränderten Läsionen nachgewiesen (Kuo et al., 1995a). Muhlestein et al. (1996) wies in 66 von 90 Fällen (73 %) an Gefrierschnitten *Chlamydia pneumoniae* nach. In fünf weiteren Fällen war die Reaktion fraglich positiv. Insgesamt fanden sich bei diesen Untersuchungen 79 % der atherosklerotischen Plaques Hinweise auf *Chlamydia pneumoniae*. Lediglich in einer von 24 Kontroll-Koronararterien wurde ein Chlamydienbefall nachgewiesen. Die Kontrollen stammten z.T. von Patienten ohne KHK, z.T. von Patienten mit Transplantatvaskulopathie nach Herztransplantation. Es gibt jedoch auch Studien, die Zweifel an den hohen Nachweisraten von *Chlamydia pneumoniae* aufkommen lassen. Weiss et al. (1996) konnten nur in 1 (2 %) von 58 Atherektomieproben erregerspezifische DNS nachweisen, während Campbell et al. (1995) in 20 (53 %) von 38 und Muhlestein et al. in 66 (73 %) von 90 koronaren Atherektomieproben *Chlamydia-pneumoniae*-DNS oder -Antigen beobachteten. Ein starkes Indiz für das Vorkommen von *Chlamydia pneumoniae* sind die erfolgreichen kulturellen Isolierungen des Erregers in atherosklerotischen Gefäßwänden. Ramirez et al. (1996) gelang es aus der Koronararterie eines explantierten Herzens und Jackson et al. (1997a) aus einer Atherektomieprobe der A. carotis *Chlamydia pneumoniae* zu isolieren.

Tabelle 1: Nachweis von Chlamydia pneumoniae in atherosklerotischen Plaque mittels IHC/ ICC, PCR oder EM

Autoren	Jahr	Patienten	Untersuchte Arterien	Chl. pneum. positive Befunde / untersuchte Arterien
Shor et al.	1992	7	Koronararterien (Autopsie)	7 / 7
Kuo et al.	1993a	36	Koronararterien (Autopsie)	21 / 36
Kuo et al.	1993b	20	Aorta abdominalis (Autopsie)	6 / 20
Campbell et al.	1995	37	Koronararterien (Atherek-tomie)	20 / 38
Kuo et al.	1995a	49	Koronararterien (Autopsie)	8 / 18
Blasi et al.	1996	56	Aneurysmen der Aorta abdominalis (Operation)	26 / 51
Muhlestein et al.	1996	90	Koronararterien (Atherek-tomie)	66 / 90
Ramirez et al.	1996	12	Koronararterien von explantierten Herzen (Ope-ration)	7 / 12
Weiss et al.	1996	72	Koronararterien (Atherek-tomie)	1 / 78
Jackson et al.	1997a	38	Koronararterien (Autopsie)	13 / 34
Juvonen et al.	1997	12	Aneurysmen der Aorta abdominalis (Operation)	12 / 12
Kuo et al.	1997	23	Popliteal-und Femoralarte-rien (Operation)	11 / 39
Davidson et al.	1998	60	Koronararterien (Autopsie)	22 / 60
Paterson	1998	49	Koronararterien (Autopsie, Operation)	0 / 49

Autoren	Jahr	Patienten	Untersuchte Arterien	Chl. pneum. positive Befunde / untersuchte Arterien
Bauriedel et al.	1999a	51	Koronararterien (Operation)	32 / 51
Jantos et al.	1999	50	Koronararterien (Athekotomie)	4 / 50
Blasi et al.	2000	30	Koronararterien (Operation)	10 / 30
Ouchi et al.	2000	67	Koronararterien (Athekotomie)	42 / 67

Insgesamt ließen sich bei 377 von 1138 untersuchten atherosklerotisch veränderten Arterien (= 33,1 %) *Chlamydia pneumoniae* nachweisen (Tabelle 2). In atherosklerosefreien Arterien fanden sich in 6 von 312 Gewebeproben (= 1,9 %) positive Nachweise für *Chlamydia pneumoniae* (Tabelle 3).

Bemerkenswert ist der mit 63,8 % recht hohe Befall atherosklerotischer Aneurysmen der Aorta abdominalis mit *Chlamydia pneumoniae* (Blasi et al., 1996, Juvonen et al., 1997) (Tabelle 4).

Tabelle 2: Nachweis von Chlamydia pneumoniae in atherosklerotischen Plaques, aufgeschlüsselt nach den jeweils verwendeten Nachweisverfahren (⁽¹⁾ gepoolte Zahlen aus den Arbeiten in Tabelle 1)

Nachweisverfahren in atherosklerotischen Plaques	Chl. pneumoniae positive Befunde / untersuchte Arterien	Prozentuale Angaben (%)
mit IHC / ICC	80 / 211 ⁽¹⁾	37,9
mit PCR	90 / 424	21,2
mit EM	5 / 14	35,7
mit IHC / ICC, PCR oder EM	151 / 251	60,2
Summe	326 / 900	36,2

Tabelle 3: Nachweis von Chlamydia pneumoniae in atherosklerosefreien Arterien, aufgeschlüsselt nach den jeweils verwendeten Nachweisverfahren (⁽¹⁾ gepoolte Zahlen aus den Arbeiten in Tabelle 1)

Nachweisverfahren in atherosklerosefreien Arterien	Chl. pneumoniae positive Befunde / untersuchte Arterien	Prozentuale Angaben (%)
mit IHC / ICC	2 / 68	2,9
mit PCR	0 / 110	0
mit EM	0 / 0	0
mit IHC / ICC, PCR oder EM	4 / 134	3
Summe	6 / 312	1,9

Tabelle 4: Nachweis von *Chlamydia pneumoniae* in atherosklerotischen Aneurysmen der Aorta abdominalis, aufgeschlüsselt nach den jeweils verwendeten Nachweisverfahren ⁽¹⁾ (gepoolte Zahlen aus den Arbeiten in Tabelle 1)

Nachweisverfahren in atherosklerotischen Aneurysmen der Aorta abdominalis	Chl. pneumoniae positive Befunde / untersuchte Arterien	Prozentuale Angaben (%)
mit IHC / ICC	12 / 12	100
mit PCR	32 / 57	56,0
mit EM	0 / 0	0
mit IHC / ICC, PCR oder EM	0 / 0	0
Summe	44 / 69	63,8

1.2.3 Serologischer Nachweis der Infektion mit *Chlamydia pneumoniae*

Wie oben beschrieben, konnte gezeigt werden, daß Patienten mit koronarer Herzerkrankung oder Myokardinfarkt signifikant häufiger *Chlamydia pneumoniae*-spezifische IgA- und IgG-Antikörper hatten als Kontrollpersonen (Saikku et al., 1988). Darüberhinaus sind bei 68 % aller Patienten mit einem Myokardinfarkt in gepaarten Serumproben eine IgM-Antwort gegen Chlamydien-LPS nachgewiesen worden. In weiteren Studien konnte die gleiche Arbeitsgruppe zeigen, daß erhöhte spezifische IgA-Antikörperkonzentrationen und Chlamydien-spezifische LPS-Komplexe häufiger bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung als bei Kontrollpersonen nachzuweisen sind (Linnanmaki et al., 1993, Saikku et al., 1992). Das gehäufte Vorkommen von spezifischen Antikörpern bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung wurde als Ausdruck für das Vorliegen einer chronischen *Chlamydia pneumoniae*-Infektion gewertet. Man folgerte aus diesen Beobachtungen, daß chronische *Chlamydia pneumoniae*-Infektionen ein Risikofaktor für das Entstehen der Atherosklerose darstellen.

Im Allgemeinen bereitet die Interpretation serologischer Befunde bei der Diagnostik von *Chlamydia pneumoniae*-Infektionen, nicht zuletzt aufgrund der hohen Prävalenz von Antikörpern in der Allgemeinbevölkerung, erhebliche Schwierigkeiten. Die serologischen Befunde der finnischen Arbeitsgruppe konnten von anderen Arbeitsgruppen nur teilweise

bestätigt werden (Melnick et al., 1993). Thom et al. (1991) fanden eine signifikante Korrelation zwischen dem Vorkommen von Chlamydia pneumoniae-spezifischen Antikörpern und angiographisch nachgewiesener Koronarsklerose nur bei Rauchern oder Ex-Rauchern. In mehr als 25 weltweit durchgeführten Studien, wurde der Zusammenhang von Chlamydia pneumoniae IgG-Antikörpern und der Atherosklerose untersucht. Davon erhoben zwei Studien IgA-Antikörperbefunde prospektiv (Miettinen et al., 1996, Ossewaarde et al., 1998). In fünfzehn weiteren Veröffentlichungen wurden IgA-Befunde im Rahmen von Querschnittsstudien ermittelt. Von diesen fünfzehn Querschnittsstudien fanden fünf Untersuchungen einen signifikanten Zusammenhang mit beiden Immunglobulinen (Cook et al., 1998a, Diedrichs et al., 1997, Halme et al., 1997b, Mazzoli et al., 1998, Saikku et al., 1988), drei Studien berichteten von einer Assoziation mit IgG allein (Blasi et al., 1997, Dahlen et al., 1995, Mendall et al., 1995) und zwei von einer Assoziation mit IgA allein (Toss et al., 1998, Wimmer et al., 1996). Fünf Studien sahen keinen Zusammenhang zwischen den beiden Immunglobulinen (Boman et al., 1998, Kark et al., 1997, Leinonen et al., 1990, 1994, Weiss et al., 1996), obwohl zwei von ihnen eine Assoziation mit zirkulierenden chlamydialen Immunkomplexen demonstrieren (Leinonen et al., 1990, 1994).

Tabelle 5: Serologische Nachweise einer Chlamydia pneumoniae-Infektion

Autor	Jahr	Fälle / Kontr.	IgG positiv	IgA positiv	Nachw. v. Immunkomplexen	Diagnostische Antikörper-Titer
Saikku et al.	1988	70 / 41	49 / 15	41 / 10		IgG \geq 128 IgA \geq 32
Leinonen et al.	1990	42 / 41	Nein	Nein	57 / 12	IgG \geq 128 IgA \geq 32
Thom et al.	1991	461 / 95	22/13			IgG \geq 64
Thom et al.	1992	171 / 120	67/56			IgG \geq 8
Linnanmaki et al.	1993	46 / 46	Nein		41 / 15	IgG \geq 32
Leinonen et al.	1994	95 / 139	Nein	Nein	58 / 26	IgG \geq 32 und \leq 128 IgA \geq 8 und \leq 32
Dahlen et al.	1995	60 / 60	93,3 / 78,3	Nein		IgG \geq 32 IgA \geq 16
Mendall et al.	1995	100 / 64	22 / 5	Nein		IgG \geq 64 IgA nicht festgelegt
Patel et al.	1995	83 / 305	30 / 18			IgG \geq 64
Miettinen et al.	1996	162 / 636	32 / 15			IgG \geq 128 IgA \geq 40
Weiss et al.	1996	65 / 28	Nein	Nein		Alle Titer in Betracht gezogen
Wimmer et al.	1996	58 / 52	Nein	47 / 23	24 / 8	IgG \geq 32 IgA \geq 16
Blasi et al.	1997	61 / 61	57 / 30	Nein		IgG \geq 16 IgA \geq 16

Autor	Jahr	Fälle / Kontr.	IgG positiv	IgA positiv	Nachw. v. Immunkomplexen	Diagnostische Antikörper-Titer
Diedrichs et al.	1997	131 / 63	66 / 48	44 / 22		
Halme et al.	1997b	93 / 115	100 / 61		Nein	IgG \geq 128 und/oder IgA \geq 40
Kark et al.	1997	302 / 486	Nein	Nein	Nein	Alle Titer in Betracht gezogen
Nieto et al.	1997	256 / 550	Nein			IgG \geq 64
Thomas et al.	1997	83 / 93	71,1 / 31,2			IgG \geq 16
Anderson et al.	1998	124 / 97	Nein			IgG \geq 16
Boman et al.	1998	101 / 52	Nein	Nein		
Cook et al.	1998a	176 / 1518		13,6 / 5,7 (Akute Infektion) 32,4 / 12,7 (Chron. Infektion)		IgG \geq 512 IgM \geq 8 IgG \geq 64 und \leq 256 oder IgA \geq 8
Mazzoli et al.	1998	29 / 74	82 / 34	71 / 14,9		
Ossewarde et al.	1998	54 / 108	52 / 34	Nein	Nein	ELISA
Siscovick et al.	1998	100 / 183	Nein			Nicht festgelegt
Toss et al.	1998	256 / 190		36 / 19		IgG \geq 16 IgA \geq 64

1.3 Problemstellung und Arbeitshypothese

Die genannten Studien zusammenfassend ergibt sich gegenwärtig noch kein einheitliches Bild der Bedeutung Chlamydien-spezifischer serologischer Befunde bei einer instabilen Angina pectoris oder einem akuten Myokardinfarkt.

Dies war der Anlaß, den Zusammenhang von Serostatus und Verlauf einer KHK im Rahmen einer Kohortenstudie zu untersuchen. Auf der Basis der Hypothesen zur Pathogenese der KHK sollte insbesondere geprüft werden, ob und welche Chlamydien-spezifischen serologischen Parameter einen Risikofaktor für den letalen Ausgang eines akuten koronaren Ereignisses darstellen und so geeignet wären, eine Subpopulation von Patienten zu definieren, die gegebenenfalls von einer antibiotischen Therapie profitieren.
