

Aus dem Institut für Pathophysiologie
an der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg
(Direktor: Professor Dr. med. J. Holtz)



**Endotoxin in der chronischen Herzinsuffizienz:
Beziehung zur intestinalen Permeabilität und Immunaktivierung**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades
Doktor der Medizin (Dr. med.)

vorgelegt
der Medizinischen Fakultät
der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

von Veronika Astler, geb. Koloczek
geboren am 22. Januar 1973 in Magdeburg

Gutachter:

1. Prof. Dr. Holtz
2. Prof. Dr. Werdan
3. Prof. Dr. Drexler (Hannover)

verteidigt am: 16. Juli 2002

urn:nbn:de:gbv:3-000003917

[<http://nbn-resolving.de/urn/resolver.pl?urn=nbn%3Ade%3Agbv%3A3-000003917>]

Referat und bibliographische Beschreibung

Zielsetzung: Bei chronischer Herzinsuffizienz (CHI) könnte bakterielle Translokation vom Darmlumen aus in das portale Stromgebiet vorkommen und als Konsequenz daraus könnte Endotoxin (LPS) die Freisetzung von Tumornekrosefaktor α (TNF- α) auslösen. In dieser Studie wurden bei Patienten mit CHI die Darmwand-Permeabilität (DP) und Indikatoren intestinaler Ischämie untersucht. Deren Beziehung zu den Plasmakonzentrationen von LPS, TNF- α , löslichem Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1 und 2 (sTNF-R1/2) und Interleukin-6 (IL-6) sollte ermittelt werden. Außerdem wurde eine Methode überprüft, um den ödematösen Status der Patienten zu bewerten.

Methoden: Bei 25 Patienten mit CHI (akut ödematös 14, klinisch stabil 11) und 8 Kontrollen wurde die DP mit Hilfe der Ausscheidung von Melibiose, L-Rhamnose sowie Sukralose und intestinale Ischämie durch D-Xylose und 3-O-Methyl-D-Glukose (Carrier-vermittelt) im Urin bestimmt und in Beziehung zur Plasmakonzentration von LPS, TNF- α , sTNF-R1/2 und IL-6 gesetzt. Für die Messung der Körperimpedanz zur Ödembewertung wurde ein Körperfett-Analysegerät verwendet.

Ergebnisse: Ödematöse Patienten hatten die höchsten Plasmakonzentrationen an LPS ($p = 0,0008$), TNF- α ($p = 0,002$) und sTNF-R1/2 ($p < 0,0001$; $p = 0,0002$). Die Ausscheidung von D-Xylose und 3-O-Methyl-D-Glukose im Urin war am geringsten bei Patienten mit Ödemen ($p = 0,006$; $p = 0,0001$), was auf intestinale Ischämie hinweist. Unabhängig von Alter und Kreatinin-Clearance wurde eine negative Korrelation der Serumkonzentrationen von TNF- α und sTNF-R1 mit der Urinausscheidung von 3-O-Methyl-D-Glukose ($p = 0,008$; $p = 0,005$) bzw. von D-Xylose ($p = 0,015$; $p = 0,001$) festgestellt. Die Körperimpedanz lag bei dekompensierten Patienten am niedrigsten ($p = 0,0042$; ANOVA) und könnte als quantitatives Maß für Überwässerung dienen.

Schlußfolgerungen: Carrier-vermittelter Saccharidtransport als Marker für intestinale Ischämie war bei ödematösen Patienten mit CHI signifikant vermindert und korrelierte invers mit den Plasmakonzentrationen von proinflammatorischen Zytokinen sowie deren Rezeptoren. Intestinale Ischämie könnte bei einigen Patienten mit CHI zu Immunaktivierung führen. Die LPS-Konzentration lag bei den ödematösen Patienten am höchsten und korrelierte mit TNF- α und sTNF-R1, nicht aber mit IL-6, was einen unterschiedlichen Induktionsmechanismus für verschiedene Zytokine vermuten läßt.

Astler, Veronika: Endotoxin in der chronischen Herzinsuffizienz: Beziehung zur intestinalen Permeabilität und Immunaktivierung.
Halle, Univ., Med. Fak., Diss., 56 Seiten, 2001

Inhaltsverzeichnis	Seite
1 Einleitung	1
1.1 Herzinsuffizienz	1
1.1.1 Inzidenz und Prävalenz	1
1.1.2 Pathomechanismus der Herzinsuffizienz.....	2
1.1.3 Endotoxin und Proinflammatorische Zytokine	3
1.1.4 Bakterielle Translokation	5
1.1.5 Darmwand-Permeabilität	7
1.1.6 Enterozytenfunktion	9
2 Zielstellung	10
3 Material und Methoden	11
3.1 Auswahlkriterien und Charakterisierung der Studienteilnehmer	11
3.2 Labormessungen.....	12
3.2.1 Bestimmung der Endotoxin-Konzentration	13
3.2.2 Bestimmung immunologischer Parameter: Tumornekrosefaktor α , Interleukin-6, lösliche Tumornekrosefaktor-Rezeptoren 1 und 2	13
3.3 Dünndarm-Resorption und -Permeabilität	14
3.4 Dickdarm-Permeabilität	16
3.5 Messung des elektrischen Widerstands des menschlichen Körpers - Körperimpedanz.....	17
3.6 Statistische Analyse.....	18

4	Ergebnisse	19
4.1	Basisparameter	19
4.2	Endotoxin, Tumornekrosefaktor α , Interleukin-6, lösliche Tumornekrosefaktor-Rezeptoren 1 und 2.....	21
4.3	Urinausscheidung der Saccharide	24
4.4	Korrelationen	24
4.5	Körperimpedanz	31
5	Diskussion	32
5.1	Darmwand-Permeabilität	33
5.2	Intestinale epitheliale Funktionsstörung.....	35
5.3	Bakterielle Translokation und intestinale Barrierefunktion.....	37
5.4	Körperimpedanz	38
6	Schlußfolgerungen	40
7	Zusammenfassung	41
8	Literaturverzeichnis	43
9	Thesen	55

Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

Tabelle 1.	Klinische Charakteristika und biochemische Parameter der Studienteilnehmer.....	20
Tabelle 2.	Plasmakonzentrationen von Endotoxin und Serumkonzentrationen von Zytokinen sowie Zuckerexkretionen im Urin	22
Tabelle 3.	Korrelationen zwischen Zuckerexkretionen im Urin und Serumkonzentrationen von Zytokinen, Kreatinin-Clearance und Alter	29
Abbildung 1.	Vereinfachtes Modell der Hülle eines gramnegativen Bakteriums (E. coli).....	4
Abbildung 2.	Hypothetische Sequenz von Ereignissen, die zur Immunaktivierung bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz führen.....	6
Abbildung 3.	Mechanismus der Resorption und Permeation von 3-O-Methyl-D-Glukose, D-Xylose, L-Rhamnose und Melibiose vom Lumen des Dünndarms in das Blut	9
Abbildung 4.	Graphische Darstellung der Ergebnisse der Serumbestimmung von TNF- α , sTNF-R1/2 sowie IL-6 entsprechend den Endotoxin-Spiegeln	23
Abbildung 5.	Beziehung zwischen TNF- α und Monosacchariden.....	25
Abbildung 6.	Beziehung zwischen sTNF-R1 und Monosacchariden.....	26
Abbildung 7.	Beziehung zwischen sTNF-R2 und Monosacchariden.....	27
Abbildung 8.	Beziehung zwischen Körperimpedanz und Gesamtwassergehalt des Körpers	30

Verzeichnis der Abkürzungen

CHI	chronische Herzinsuffizienz
⁵¹ Cr-EDTA	⁵¹ Chrom-Ethylendiamintetraazetat
DP	Darmwand-Permeabilität
ELISA	Enzym-gekoppelter Immunoassay
EU	Endotoxin-Einheit (international standardisiert)
3OMD-Glu	3-O-Methyl-D-Glukose
γ-GT	Gamma-Glutamyltransferase
HI	Herzinsuffizienz
IL-6	Interleukin-6
KI	Körperimpedanz
LPS	Endotoxin, Lipopolysaccharid
Mel	Melibiose
NYHA	New York Heart Association
Rham	L-Rhamnose
sTNF-R1/2	löslicher Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1 und 2
TNF-α	Tumornekrosefaktor α
vs	<i>versus</i>
Xyl	D-Xylose

1 Einleitung

1.1 Herzinsuffizienz

Die Herzinsuffizienz (HI) bezeichnet die Unfähigkeit des Herzens, das vom Organismus benötigte Herzzeitvolumen trotz ausreichenden venösen Blutangebots bei normalem enddiastolischen Ventrikeldruck zu fördern und stellt damit eine für die Bedürfnisse der Organperfusion unzureichende kardiale Pumpleistung dar. Als verminderte körperliche Belastbarkeit aufgrund einer ventrikulären Funktionsstörung wird die HI von der Weltgesundheitsorganisation definiert, und ist ein klinisches Syndrom unterschiedlicher Ätiologie, das viele Organsysteme in Mitleidenschaft ziehen kann.

1.1.1 Inzidenz und Prävalenz

Die Inzidenzdaten sind limitiert, gehen aber jährlich von 1 bis 5 Neuerkrankungen je 1000 Einwohner aus, einer Angabe, die sich allerdings bei Menschen ab 75 Jahren auf mehr als 30 Fälle je 1000 Einwohner erhöht. In der Allgemeinbevölkerung reicht die Prävalenz der HI von 3 bis 20 Individuen je 1000 Einwohner mit einem Anstieg auf 80 bis 160 Erkrankten auf 1000 Einwohner bei einem Alter ab 75 Jahren (15, 19). Diese Daten zeigen einen deutlichen Einfluß des Alters auf die Häufigkeit der HI, was als „doubling-by-decade“-Effekt, also Verdopplung pro Lebensjahrzehnt, in der Framingham Studie bezeichnet wird (39).

In den letzten Jahrzehnten hat sich die Prävalenz der HI bei jüngeren wie älteren Menschen erhöht. Der Grund dafür könnten Fortschritte in der sekundären Prävention sein. Zum Beispiel führt die verbesserte Behandlung nach einem Myokardinfarkt möglicherweise zu einem Anstieg der Prävalenz der HI, da die Therapie ihren größten Einfluß auf das Überleben der Patienten hat, welche ein erhöhtes Risiko zur Entwicklung einer HI haben (16). In bis zu 50% der Fälle tritt die HI als direkte Konsequenz des ersten Myokardinfarktes auf, und in manchen Fällen handelt es sich gleich um ein schweres Herzversagen (44).

Hypertonie und koronare Herzkrankheit stellen mit etwa 90 % der Fälle die Hauptursachen für chronische Herzinsuffizienz (CHI) dar. Obwohl die auf die koronare Herzkrankheit zurückzuführende Mortalität in den letzten 20-30 Jahren in den westlichen Ländern abgenommen hat (7, 35), bleibt die HI ein wichtiges und zunehmendes Problem der Gesundheit in unserer Gesellschaft (27, 30, 46, 57).

Mit Ausnahme des Bronchialkarzinoms hat die HI mit etwa 25% eine schlechtere 5-Jahres-Überlebensrate als die vier meist vorkommenden malignen Tumoren bei Männern und Frauen (89), woraus man schließen kann, daß die heutigen Behandlungsmaßnahmen der HI offensichtlich nicht ausreichend sind, das Problem dieser Erkrankung zu fassen. Auch konnte noch keine effiziente Therapie gefunden werden, welche präventiv gegenüber der Progression der HI wirkt. Für die meisten Patienten mit linksventrikulärer Funktionsstörung sind nur Diuretika, ACE-Hemmer, AT-1-Blocker und β -Blocker, bevorzugt in Kombination, eindeutig von therapeutischem Nutzen (16). Bisher galt die Allograft-Herztransplantation als die effektivste Maßnahme bei der Behandlung von fortgeschrittener HI, aber die zur Verfügung stehenden Spenderorgane sind limitiert (88).

1.1.2 Pathomechanismus der Herzinsuffizienz

Verschiedene Konzepte wurden vorgeschlagen, den zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismus der CHI zu ergründen (1, 18, 72, 85). Die Erkenntnis, daß die meßbare hämodynamische Störung nicht allein die klinischen Merkmale der HI erklären kann, führte zu der Suche nach anderen pathophysiologischen Prozessen, einschließlich der Immunaktivierung, der Zytokinfreisetzung, der neuroendokrinen Einflüsse, dem programmierten Zelltod (Apoptose) und dem ventrikulären Remodelling.

1.1.3 Endotoxin und Proinflammatorische Zytokine

Verschiedene Studien weisen darauf hin, daß unterschiedliche Erkrankungen des Herzens, wie zum Beispiel Kardiomyopathie, Myokarditis und Herzinsuffizienz bei den Patienten mit einer Erhöhung von Plasmaspiegeln proinflammatorischer Zytokine einhergehen (31, 34, 48, 53). Erhöhte Plasmakonzentrationen einiger Zytokine und deren Rezeptoren stehen bei der CHI mit einer gesteigerten Mortalität im Zusammenhang (22, 77).

Bei Patienten mit CHI ist die periphere endotheliale Funktion gestört (24) und steht im Zusammenhang mit dem Grad der Freisetzung von Entzündungszytokinen. Es konnte bereits eine inverse Beziehung zwischen der Spitzendurchblutung im Bein und der Plasmakonzentration von Tumornekrosefaktor α (TNF- α) dargestellt werden, was einen Einfluß dieses proinflammatorischen Zytokins auf die Pathophysiologie der CHI vermuten läßt (3). Die Ursache der erhöhten Produktion von proinflammatorischen Zytokinen bei CHI-Patienten konnte bisher nicht hinreichend geklärt werden. In der Sepsisforschung vermutet man Endotoxin als einen ursprünglichen Induktor für die Produktion von TNF- α (12, 20, 74). Bei Kindern mit angeborenem Herzfehler wurden in einer neueren Studie erhöhte Endotoxin-Spiegel festgestellt, welche postoperativ mit einem negativen klinischen Ergebnis im Zusammenhang standen (47). Möglich wäre, daß die Immunaktivierung in der CHI sekundär zu einer Endotoxin-Aktion auftritt.

1876 erschien ein Bericht über Fieber von Burion-Sanderson, welcher das Vorhandensein von Fieber-produzierenden Substanzen in verfaultem Fleisch beobachtet hatte, die zum ersten Mal „Pyrogene“ genannt wurden. Der Begriff „Endotoxin“ wurde erstmals 1892 in Deutschland von Richard Pfeiffer benutzt, welcher herausfand, daß der die Cholera auslösende Organismus, *Vibrio cholerae*, ein Hitze-stabiles Toxin produzierte (5).

Als Endotoxine werden Lipopolysaccharide bezeichnet, die in der äußeren Schicht der äußeren Membran von gramnegativen Bakterien verankert sind (Abbildung 1).

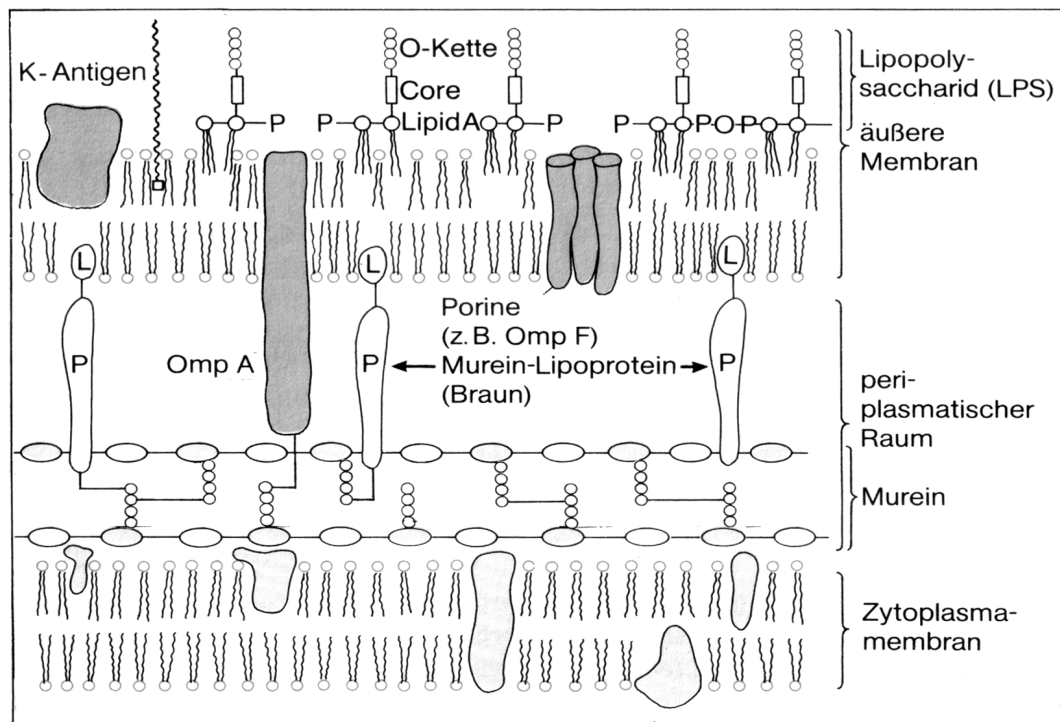


Abbildung 1. Vereinfachtes Modell der Hülle eines gramnegativen Bakteriums (E. coli).

Die Darstellung gilt im Prinzip auch für andere gramnegative Bakterien. In der äußeren Membran ist das Lipopolysaccharid verankert, welches auch als Endotoxin bezeichnet wird. Es besteht aus dem Lipid A, dem Kernpolysaccharid (Core) sowie der O-spezifischen Polysaccharidkette.

Entnommen aus: „Medizinische Mikrobiologie“; F. H. Kayser, K. A. Bienz, J. Eckert, R. M. Zinkernagel; 10. Auflage, Georg Thieme Verlag; Stuttgart; 2001; S. 164

Endotoxine sind hochmolekulare Komplexe, die beim Zerfall von gramnegativen Bakterien freigesetzt werden, bestehend aus dem Lipid A, dem Kernpolysaccharid (Core) sowie der O-spezifischen Polysaccharidkette. Die toxische Wirkung ist an das Lipid A gekoppelt. Wird Lipid A im Wirtorganismus freigesetzt, stimuliert es die Bildung von Mediatoren, die klinisch die Endotoxin-Symptomatik bedingen. Wird viel Endotoxin freigesetzt, so kann es zum septischen Schock (Endotoxinschock) kommen (40). Als Eintrittspforte für Endotoxin in das Blutgefäßsystem kommen unter anderem eröffnete Regionen des Gastrointestinaltraktes mit hoher Keimdichte, des Respirationstraktes, des Urogenitalsystems sowie der Haut in Betracht (13).

1.1.4 Bakterielle Translokation

Der Begriff „bakterielle Translokation“ wurde erstmalig von Wolochow et al. 1966 erwähnt, um die Passage von Bakterien durch die Darmwand zu beschreiben (102). Die Arbeitsgruppe von Fine demonstrierte in den fünfziger und beginnenden sechziger Jahren die Möglichkeit der Bakterien und des Endotoxins den Darm zu verlassen, das Retikuloendotheliale System zu überwinden und Sepsis oder einen irreversiblen Schock auszulösen (28, 36, 84). Diese wichtigen Untersuchungen wurden nicht fortgesetzt, und das Konzept des Darmes als Reservoir für portale oder systemische Bakteriämie und Endotoxämie nicht weiter verfolgt. Nach fast 20 Jahren ließ man dieses Konzept wieder aufleben, basierend auf verschiedenen epidemiologischen Studien, die dokumentierten, daß der Darm ein klinisch wichtiges Reservoir für Bakterien und Pilze ist, und somit in der Lage, lebensbedrohliche systemische Infektionen zu verursachen (92, 100).

Anker et al. (2) stellten für Patienten mit CHI die Hypothese auf, daß, ausgelöst durch mesenteriale Venenstauung infolge der Dekompensation der Erkrankung und allgemeiner Ödembildung, die Darmwand-Permeabilität (DP) erhöht ist. Dies könnte zu einer verstärkten bakteriellen Translokation durch die Darmwand führen und dann eine Immunaktivierung zur Folge haben, die man bei schwerer CHI beobachten kann (Abbildung 2).

Indirekte Unterstützung bekam diese Hypothese durch eine Studie von Niebauer et al. (64), die aufzeigte, daß ödematöse Patienten mit CHI höhere systemische Endotoxin- (LPS) Konzentrationen haben als nicht-ödematöse Patienten. Durch Diuretika-Therapie konnte der LPS-Spiegel reduziert werden, was möglicherweise auf eine Verminderung der ödematösen Stauung in der Darmwand zurückzuführen ist.

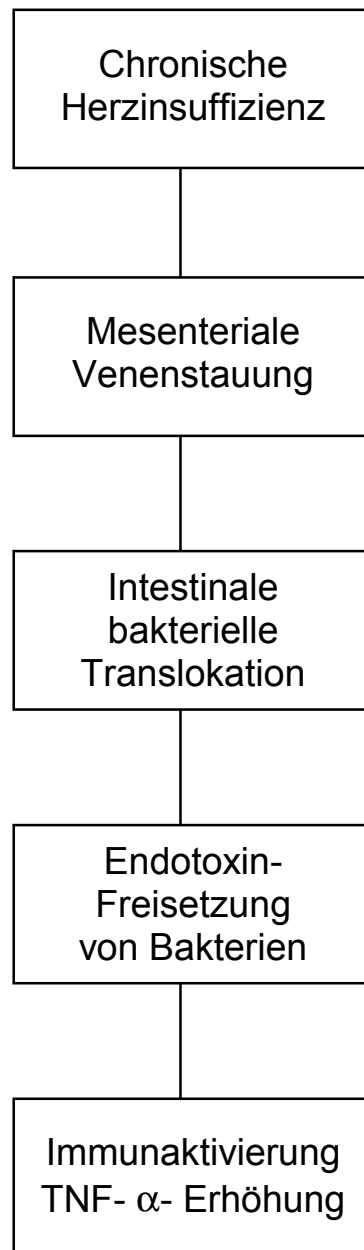


Abbildung 2. Hypothetische Sequenz von Ereignissen, die zur Immunaktivierung bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz führen.

Entnommen aus: Anker et al., The American Journal of Cardiology; 79 (1997); 1426 – 1430

Das Intestinum macht etwa 75 % des Immungewebes des gesamten Körpers aus und ist eine wichtige immunologische Barriere (94). LPS könnte durch bakterielle Translokation in die Zirkulation gelangen, was auf eine erhöhte intestinale Permeabilität durch Unterbrechungen in der Barrierefunktion der

Darmwand zurückzuführen sein könnte oder möglicherweise ein Ergebnis des Darmwand-Ödems aufgrund venöser Stauung wäre.

In einer Studie zur näheren Klärung der möglichen Quelle der Endotoxämie bei dekompensierten Patienten mit CHI wurden die Serum-Konzentrationen von TNF- α und LPS bestimmt. Hierbei erfolgte die Blutabnahme jeweils aus der Lebervene, aus der Pulmonalarterie und aus dem linken Ventrikel der Patienten im Stadium der akuten kardialen Kongestion. Die Auswertung zeigte, daß sich die Plasmakonzentrationen von TNF- α und LPS in der Pulmonalarterie nicht signifikant von denen im linken Ventrikel unterschieden. Allerdings waren die Konzentrationen in der Lebervene signifikant erhöht (82). Dies führt zu einer weiteren Unterstützung der Hypothese, daß auch bei schwerer Herzinsuffizienz Endotoxin über den Darm in den Blutstrom gelangt. Da keine Unterschiede der Plasmakonzentrationen von LPS und TNF- α zwischen der Pulmonalarterie und dem linken Ventrikel festgestellt werden konnten, treten Zweifel daran auf, ob überhaupt das Herz (95) oder die Lunge Hauptquelle der systemischen Erhöhung von LPS und dem proinflammatorischen Zytokin bei Patienten mit CHI sein könnten.

1.1.5 Darmwand-Permeabilität

Bestimmungen der Darmwand-Permeabilität haben in anderen Gebieten der Medizin bereits breite Anwendung gefunden, um entweder klinisch am Menschen (9, 10, 61, 62) oder im experimentellen Tiermodell (32, 33, 75) gastrointestinale Schädigungen zu ermitteln, sowie um die Effekte von verschiedenen Pharmaka auf den Darm zu untersuchen. Veränderungen der intestinalen Zellintegrität können *in vivo* nichtinvasiv durch Messen der Urinausscheidung unterschiedlicher oral verabreichter Testsubstanzen von Sacchariden bestimmt werden (8).

Nach aorto-koronarem Venenbypass wurde eine reversible Verschlechterung des transzellulären Saccharidtransportes im Dünndarm festgestellt (41, 55), was wahrscheinlich auf die interventionsinduzierte Hypoperfusion der Mukosa, z.B. bei Ischämie; zurückzuführen ist (70).

Erst vor kurzem konnte auch die Dickdarm-Permeabilität unproblematisch gemessen werden (58). Da die Disaccharidproben durch die bakterielle Flora im Kolon gespalten werden, mußte man andere Substanzen finden, die im Dickdarm beständig sind. Zur Anwendung kommen entweder Polyethylenglykol oder ⁵¹Chrom-Ethylendiamintetraazetat (⁵¹Cr-EDTA) (37, 71). Leider treten hier weitere Komplikationen auf, da der Mechanismus der Permeation von Polyethylenglykol unklar ist und obwohl ⁵¹Cr-EDTA dieselbe Permeationsroute wie Melibiose (Mel) zu haben scheint, reduziert sich die praktische Anwendbarkeit dieser Methode durch die radioaktive Markierung (56). Meddings et al. (58) entwickelten den Süßstoff Sukralose, der nicht bereits im Dünndarm durch Bakterien zerstört werden kann. Die orale Sukralose-Verabreichung und anschließende Messung der Urinausscheidung stellt eine einfache und nichtinvasive Methode zur Beurteilung der Dickdarm-Permeabilität dar.

Der genaue Mechanismus der bakteriellen Translokation durch die Darmwand ist nicht bekannt. Eine Möglichkeit besteht darin, daß der Übergang von LPS vom Darmlumen aus in das Blutsystem oder die bakterielle Translokation durch Erhöhung der Darmwand-Permeabilität erfolgt, welche mit dem Test der „Zuckerpermeabilität“ gemessen werden kann. Die intestinale Permeabilität wird durch den Quotienten der Urinexkretion von Mel und L-Rhamnose (Rham) bestimmt (70). Bei diesem Test kommt das Prinzip der unterschiedlichen Resorption zur Anwendung, da Mel als ein nicht-hydrolysierbares Disaccharid interzellulär über Tight junctions resorbiert wird, während die Rham-Permeation durch die intestinale Mukosa auf einem nicht durch Carrier vermittelten passiven Diffusionsweg erfolgt (87) (Abbildung 3). So können mögliche störende Faktoren, wie Magenentleerung, intestinaler Transport und renale Clearance überwunden werden. Auch wird dieser Test nicht durch Defekte der Glukoseresorption beeinflusst (8).

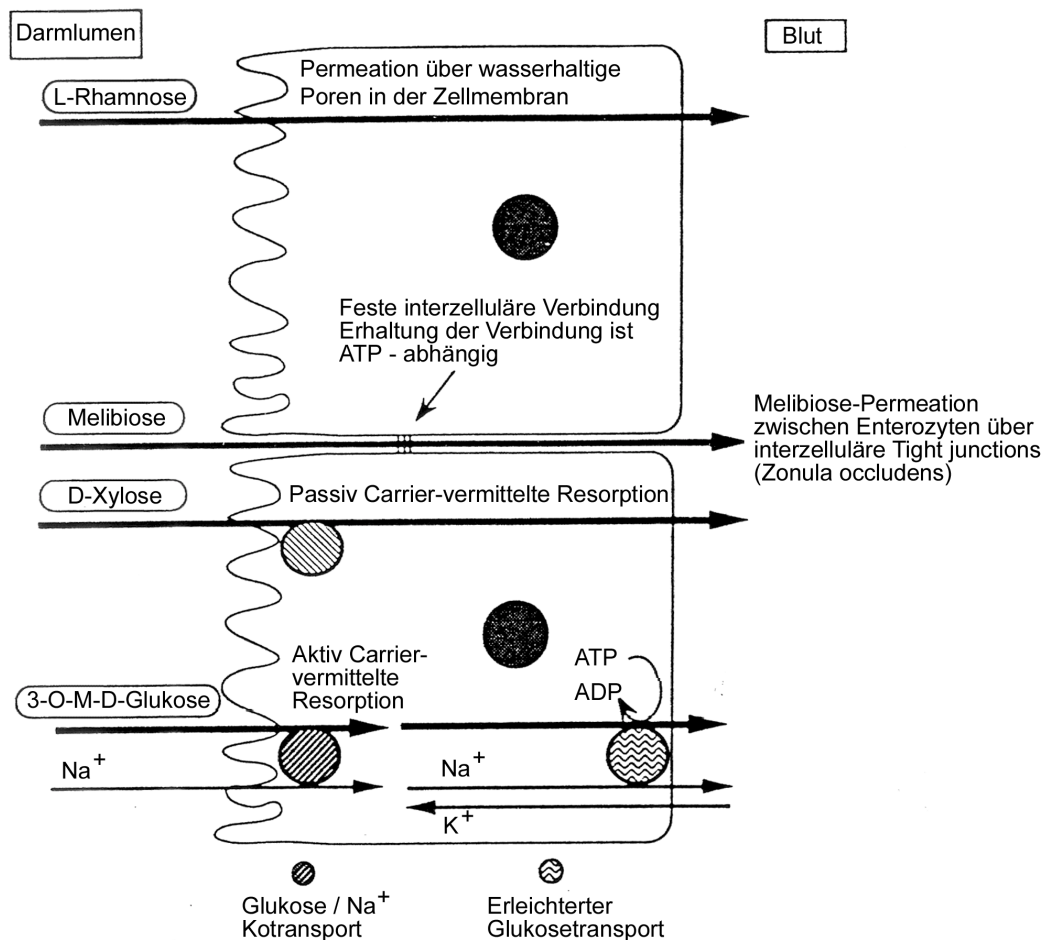


Abbildung 3. Mechanismus der Resorption und Permeation von 3-O-Methyl-D-Glukose, D-Xylose, L-Rhamnose und Melibiose vom Lumen des Dünndarms in das Blut.
 (ADP = Adenosindiphosphat; ATP = Adenosintriphosphat)
 Modifiziert nach: Ohri et al., Ann Thorac Surg., 55 (1993), 1080 – 1086

1.1.6 Enterozytenfunktion

Um Indikatoren für die Enterozytenfunktion zu untersuchen, kann man Zucker, die sich eines Carrier-vermittelten Transportsystems bedienen, zusammen mit einem Standardtest für die Messung von Darmwand-Permeabilität verwenden. 3-O-Methyl-D-Glukose ist ein nicht metabolisierbares Saccharid, das aktiv Carrier-vermittelt transportiert wird, während D-Xylose durch eine Teilmetabolisierung und einen passiv Carrier-vermittelten Transport gekennzeichnet ist (Abbildung 3). Beide Monosaccharide sind geeignete Testsubstanzen, um vorübergehende Darmwand-Ischämie zu erfassen (8, 70),

was eine mögliche epitheliale Dysfunktion des Darmes reflektiert (69). In diesem Fall könnte der Prozeß über zerstörte Enterozyten ablaufen, die durch nicht-verschließende Ischämie bei allgemein reduziertem Blutfluß (38), durch intestinales Ödem und/oder durch epitheliale Funktionsstörung entstehen.

2 Zielstellung

Mit der vorliegenden Studie sollte geprüft werden, ob bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI) neuere Erkenntnisse über eine Erhöhung des Endotoxin-Spiegels im venösen Blut bestätigt werden können. Es sollte die mögliche Herkunft der Lipopolysaccharide näher beleuchtet werden. Diese Studie orientierte sich an der Hypothese von Anker et al. (2), daß bei einigen Patienten mit CHI eine kardiale Dekompensation mit mesenterialer Venenstauung auftritt, was zu Veränderungen der Darmwand-Permeabilität mit einer erhöhten intestinalen bakteriellen Translokation führen könnte. Diese Arbeit untersuchte das Intestinum mit Hilfe von Tests, die die Darmwand-Permeabilität und die intestinale Resorptionskapazität messen. In diesem Experiment sollten unter anderem auch Marker für eine mögliche Darmwand-Ischämie analysiert werden. Außerdem sollte festgestellt werden, ob hierbei eine Beziehung zur Serumkonzentration von proinflammatorischen Zytokinen wie Tumornekrosefaktor α und Interleukin-6, sowie löslichem Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1 und 2 vorliegt. In der CHI ist bisher über Marker der Darmwand-Ischämie und deren Beziehungen zum Grad der Immunaktivierung noch nicht berichtet worden.

Da die Festlegung des ödematösen Status bei Patienten mit dekompensierter Herzinsuffizienz bisher sehr subjektiv gehandhabt wird, suchte diese Arbeit nach einer einfach anzuwendenden Methode, das Ausmaß der Überwässerung zu quantifizieren.

3 Material und Methoden

3.1 Auswahlkriterien und Charakterisierung der Studienteilnehmer

In der Zeit von März bis September 1998 wurden 25 Patienten mit milder bis schwerer chronischer Herzinsuffizienz (CHI) (21 Männer, Alter 68 ± 2 Jahre; Mittelwert \pm Standardfehler) sowie 8 gesunde Probanden (71 ± 2 Jahre, $p = 0,45$) untersucht. Die Patienten konnten in der kardiologischen Ambulanz und auf den Kardiologiestationen des Royal Brompton Hospitals, London (GB), sowie in der Ambulanz für Patienten mit CHI in Bromley, London (GB), rekrutiert werden. Die Ätiologie der CHI bei den untersuchten Patienten war in 8 Fällen (32%) idiopathische dilatative Kardiomyopathie und in 17 Fällen (68%) ischämische Kardiomyopathie.

Die Diagnose CHI wurde bei Vorliegen einer objektiv gesicherten linksventrikuläre Dysfunktion (linksventrikuläre Ejektionsfraktion = LVEF $< 34 \pm 4\%$) in Kombination mit der Symptomatik gestellt (1, 4, 19). Die CHI mußte mit typischen Symptomen wie schneller Ermüdbarkeit, peripheren Ödemen und Belastungsdyspnoe seit mehr als 6 Monaten (Bereich von 0,5 bis 19 Jahren) bestehen. Die ausgewählten Kranken zeigten im Röntgen-Thorax eine Kardiomegalie, hatten einen reduzierten Belastungstest, und die Medikation sollte seit mindestens einem Monat stabil sein.

Ausschlußkriterien waren Anamnese einer instabilen Angina pectoris, ein akuter Myokardinfarkt in den letzten 3 Monaten vor Beginn der Studie, eine maligne Tumorerkrankung oder eine stattgehabte Herztransplantation. Außerdem durften Personen mit Myokarditis, rheumatoider Arthritis, Gicht, entzündlicher Darmerkrankung, schwerer Niereninsuffizienz (Serumkreatinin $\geq 250 \mu\text{mol/l}$), Leberinsuffizienz (Aspartataminotransferase oder Alaninaminotransferase > 3 -fache der Obergrenze des Normalbereiches), Glukokortikoidbehandlung in den letzten 6 Monaten sowie mit anderen lebensbedrohlichen Krankheiten als der Herzinsuffizienz nicht an der Studie teilnehmen.

Elf CHI-Patienten (44%) waren klinisch stabil (8 in New York Heart Association- (NYHA) Klasse II, 1 in NYHA-Klasse III und 2 in NYHA-Klasse IV).

Vierzehn Patienten (56%, 3 in NYHA-Klasse II, 9 in NYHA-Klasse III und 2 in NYHA-Klasse IV) zeigten eine periphere Stauung sowie erhöhten Jugularvenendruck, was auf eine akute kardiale Dekompensation hinweist, jedoch ohne klinische Zeichen von Lungenkrepitation oder Lungenödem.

Behandelt wurde mit Allopurinol (n = 7), Nitraten (n = 12), ACE-Hemmern (n = 19), Diuretika (n = 23), Antikoagulanzen (n = 7), Aspirin (n = 15), Amiodaron (n = 5), Digoxin (n = 3), Kalziumkanalblockern (n = 3), Angiotensin-II-Rezeptorenblocker (n = 2) und 10 Patienten bekamen Statine in variierenden Kombinationen. Bei keinem dieser Medikamente ist bekannt, daß es einen Effekt auf die Permeabilität des Dünn- oder Dickdarmes haben könnte (11).

Bei den ödematösen Patienten wurden die Blutabnahmen und die Messungen zur Darmwand-Permeabilität (DP) sowie die anderen Tests zur Zuckeresorption vor der Optimierung der medikamentösen Therapie durchgeführt. Hiermit wollte man erreichen, daß wirklich im akut ödematösen Status gemessen wird.

Die gesunden Probanden waren meist Familienmitglieder der Patienten oder kamen zu einer Gesundheitsuntersuchung. Diese Studienteilnehmer mußten die folgenden Kriterien erfüllen: keine akute oder chronische Krankheit, keine Einnahme von Medikamenten oder Antioxidationsmitteln, seit 6 Monaten keine Allopurinol- oder Glukokortikoidbehandlung sowie normale Serumwerte von Kreatinin (<130 µmol/L) und Leberenzymen.

Das Protokoll der Studie wurde von der Ethikkommission des Royal Brompton Hospitals, London, (GB) genehmigt und alle Teilnehmer gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Durchführung der Untersuchungen.

3.2 Labormessungen

Die Blutabnahme erfolgte im Liegen morgens zwischen 8 und 9 Uhr im nüchternen Zustand und nach einer Ruhepause von 20 Minuten zu Beginn aller anderen Untersuchungen. Eine Kanüle mit einem Polyethylenkatheter wurde in die Vene eingeführt und 2 x 4 ml Blut in pyrogenfreie Vakuum-Röhrchen (Endo Tube ET[®], Chromogenix AB, Mölndal, Schweden) entnommen. Danach erfolgte eine Standardblutabnahme (10 ml EDTA, 10 ml Serum) für Messungen

in der Biochemie und zur Zytokinbestimmung. Nach sofortigem Zentrifugieren bei 4 °C wurden vom Plasma 0,8 - 1 ml Proben abpipettiert und mit den Endo Tubes[®] bis zur Analyse bei -80 °C aufbewahrt. Die Serumproben wurden direkt in der Biochemie des Royal Brompton Hospitals, London (GB), untersucht.

3.2.1 Bestimmung der Endotoxin-Konzentration

Für die Bestimmung der Endotoxin (LPS) -Konzentration wurde ein kommerziell erwerbbarer Testkit (Limulus Amoebocyten-Lysat - LAL, QCL-1000 Test, BioWhittaker Inc., Walkersville, USA) verwendet.

Das LPS in den Blutproben aktiviert Enzyme im LAL Reagenz, welche dann para-Nitroanilin von dem chromogenen Substrat S-2423 spalten, um eine gelbe Farbe zu produzieren. Nachdem die Reaktion mit einem Stopreagenz unterbrochen wurde (Sensitivität 0,03 EU/ml), konnte die para-Nitroanilin-Freisetzung photometrisch bei 405 - 410 nm bestimmt werden, was als Quantifizierung der vorhandenen LPS-Menge im System galt. Mit dieser Methode können LPS-Konzentrationen von 0,015 bis 1,2 EU/ml gemessen werden, wobei normale LPS-Konzentrationen für gesunde Menschen < 0,50 EU/ml sind. Die Variationskoeffizienten der Meßwerte innerhalb einer Untersuchung bei Konzentrationen von 0,35 EU/ml und 0,82 EU/ml betragen 9,9% und 9,6%; die Variationskoeffizienten zwischen zwei Untersuchungen wurden bei 16,8% und 13,3% gemessen. Für wiederholte Blutuntersuchungen bei nicht-ödematösen Patienten betrug der Variationskoeffizient 10,8 % (64).

3.2.2 Bestimmung immunologischer Parameter: Tumornekrosefaktor α , Interleukin-6, lösliche Tumornekrosefaktor-Rezeptoren 1 und 2

Die Serumkonzentration des Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) wurde mit einem Enzym-gekoppelten Immunoassay (ELISA) (Quantikine[®] HS human TNF, Sensitivität 0,18 pg/ml, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA) bestimmt. Dieser Test wurde entwickelt, um biologisch aktive TNF- α -Trimere zu messen. Angewandt wurde hierbei die quantitative Sandwich-Enzym-Immunoassay-Technik. Vorhandener TNF- α wurde von immobilisierten Antikörpern gebunden

und nach weiterer Zugabe eines für den TNF- α spezifischen Enzymgebundenen polyklonalen Antikörpers wurde eine Substratlösung hinzugefügt. Dies führte zu einer Farbentwicklung, die proportional zur gebundenen TNF- α -Menge ist und deren Intensität nun bestimmt werden konnte. Die Messung wird durch lösliche TNF-Rezeptoren nicht beeinflusst (26).

Die im Blut feststellbaren Mengen der löslichen Tumornekrosefaktor-Rezeptoren 1 (sTNF-R1, Sensitivität 25 pg/ml) und 2 (sTNF-R2, Sensitivität 2 pg/ml) wurden ebenfalls mit einem ELISA (R&D Systems Minneapolis, MN, USA) ermittelt. Alle anderen Parameter wurden bei der Routineanalyse des Krankenhauses analysiert. Die Plasmakonzentrationen von Interleukin-6 (IL-6) wurden mit einem Immulite[®]-System (Sensitivität 1,0 pg/ml, Random Access Immunoassay Analyzer, DPC Biermann, Bad Nauheim, Deutschland) bestimmt.

3.3 Dünndarm-Resorption und -Permeabilität

Die Versuchspersonen wurden darauf hingewiesen, keine Agenzien einzunehmen, welche die Dünndarm-Motilität, -Resorption oder -Permeabilität beeinflussen könnten, wie zum Beispiel nicht-steroidale Antiphlogistika (9) oder Alkohol 48 Stunden vor der Durchführung der Untersuchung.

Nach der Abgabe des Nüchternurins als Negativprobe und völliger Entleerung der Blase wurden die Probanden zwischen 8.30 und 9.30 Uhr gebeten, insgesamt 2 g Sukralose in neun Kapseln für die Messungen der Dickdarm-Permeabilität mit Hilfe eines Bechers Trinkwasser zu schlucken und anschließend eine Testlösung (240 mosm/L) bestehend aus L-Rhamnose (Rham) (1,0 g), 3-O-Methyl-D-Glukose (3OMD-Glu) (0,2 g), D-Xylose (Xyl) (0,5 g), und Melibiose (Mel) (5,0 g, alle von Sigma Pharm, Poole, GB) in 100 ml Trinkwasser innerhalb von vier Minuten zu trinken. In den folgenden fünf Stunden wurde der Urin in einem Behälter (A) und für weitere 19 Stunden in einem zweiten Behälter (B) gesammelt. Die Sammelbehälter enthielten je 1ml 10-prozentige Mercurithiosalicylat-Lösung (Merthiolat) zur Konservierung des Urins. Außerdem wurden die Patienten gebeten, die Urinbehälter kühl zu lagern. Nach frühestens 2 ½ Stunden durfte ein leichtes Frühstück eingenommen werden. Nachdem der Test abgeschlossen war, wurde das

Urinvolumen erfaßt, in kleinere Probebehälter (je 20 ml) verteilt und für die spätere Analyse bei -80 °C eingefroren.

Die Bestimmung der im Dünndarm resorbierten Zuckerkonzentrationen im Urin erfolgte in Zusammenarbeit mit dem Kings College Hospital, London (GB), aus der 5-Stundensammlung (Behälter A) mit der Methode der Scanning-Densitometrie und der Dünnschichtchromatographie (60, 93), die modifiziert wurde, um beide, Mono- und Disaccharide, im Urin zu erfassen (65). Dabei wurde eine Lösung (Raffinose für die Disaccharidanalyse, Arabinose für Monosaccharide, 50 bzw. 40 mg/100 ml) zu jeder Urinprobe gegeben. Nach Hinzufügen von deionisierendem Harz mischte man die Probe für 5 Minuten. Mehrere 5 µl Volumina des Überstandes wurden auf eine Quarzgelplatte (60 plastic backed plates, Merck UK Ltd, GB) entlang des Startpunktes 1 cm von der unteren Kante punktförmig aufgetragen. Die Zuckertrennung erfolgte über mehrere Stufen, mit Lufttrocknung für 30 Minuten zwischen den einzelnen Entwicklungsstufen und einem vierstündigen Trocknen zwischen der letzten Entwicklung und dem Erscheinen der Signale. Es wurden zwei verschiedene Lösungsmittelsysteme benutzt, (A) Butan-1-ol:Ethanol:Essigsäure:Wasser, 60:30:10:10, und (B) Ethylazetat:Butan-1-ol:Pyridin:Essigsäure:Wasser, 75:5:15:10:10. Die Sequenz für Disaccharide ist A/B/B und für Monosaccharide B/B. Die Farbreaktion führte man so durch, daß die getrocknete Platte in eine Methanollösung mit Orthophosphorsäure und p-Aminobenzoesäure getaucht wurde und nach erneutem Trocknen von 5 Minuten für 10 Minuten bei 130 °C in einem Heißluftofen erhitzt wurde. Jede Dünnschichtchromatographie-Platte wurde durch ein Biorad Densitometer (Modell GS 670) in die Molekularuntersuchungs-Software (Biorad Ltd) eingelesen. Die Analysen dieser Verfahren sind akkurat (Reproduzierbarkeit über 90 %) und sensibel: die Nachweisgrenze liegt unter 1 mg/100 ml Urin. Der Variationskoeffizient der Untersuchung liegt zwischen 2,0 und 8,0 % (51, 60).

In den Urinproben wurden mit der beschriebenen Methode die Konzentrationen von Mel, Xyl, 3OMD-Glu und Rham bestimmt. Das Monosaccharid Xyl wird durch einen passiven, Carrier-vermittelten Prozeß resorbiert, 3OMD-Glu durch einen aktiven Carrier-vermittelten Prozeß und Rham durch ein nicht Carrier-vermitteltes transzelluläres Transportsystem. Mel, die sich durch ähnliche Eigenschaften wie Lactulose auszeichnet, durchdringt die Darmwand selektiv

auf parazellulärem Wege (8, 59). Die unterschiedliche Urinexkretion von Melibiose/Rham stellt einen spezifischen Index der intestinalen Permeabilität (Barrierefunktion der Darmwand) zur Verfügung. Er ist nicht signifikant beeinflusst durch prä- (Verdünnung in Magen und Darm, Magenentleerung und Abbau durch Bakterien) oder post-mukosale Faktoren (Volumenverteilung und Nierenfunktion), welche eine Rolle spielen bei der Ausscheidung der Gesamtmenge von Markern im Urin, die einer Nahrungsaufnahme folgen (8, 59). Die Menge der Zucker, die der Proband nach oraler Gabe der Zuckerlösung während des 5-stündigen Urin-Sammelns ausschied, wurde in Prozent der oralen Dosis angegeben. Das Verhältnis der Permeabilität von Mel zu Rham berechnete sich prozentual aus der im Urin ausgeschiedenen oral verabreichten Menge.

3.4 Dickdarm-Permeabilität

Bei dem Versuch, einen nicht-resorbierbaren und stabilen, das heißt, einen nicht bereits im Dünndarm durch Bakterien zerstörbaren Süßstoff zu entwickeln, chlorierten Meddings et al. (58) das Sukrose-molekül und produzierten so Sukralose ($C_{12}H_{19}Cl_3O_8$; Molekulargewicht 397,6). Dieses Sukrose-Analogon ist nicht nur hitzestabil, sondern scheint auch den Verdauungstrakt unverändert zu passieren.

Die Sukraloseanalysen wurden von der gastrointestinalen Forschungsgruppe um Jon B. Meddings an der Universität Calgary, Kanada, aus dem gesammelten Urin (Behälter A und B) durchgeführt. Die Trennung wurde mit einer Dionex Ionpac NS1 Säule und Acetonitril/Wasser als Flußmittel mit einer Flußrate von 1 ml/min erreicht. Ein Gradientenlauf von 0 bis 20% wurde eingesetzt. Die Ermittlung der Werte erfolgte mit einem elektrochemischen Detektor der Dionex Hochdruck-Flüssigkeitschromatographie. Da dies nur bei einem hohen pH-Wert möglich ist, wurde nach der Säule 300 mmol/L NaOH mit einer konstanten Flußrate von 0,5 ml/min hinzugefügt. Für diese Messungen wurde als interner Standard Phenyl- β -D-Thiogalactosid (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) verwendet, das zu den initialen Urinproben in einer Konzentration von 0,1 mg/ml zugesetzt wurde. Diese Zusammensetzung war im Urin bei Raumtemperatur für mindestens 1 Woche und im gefrorenen Zustand unendlich lange stabil.

3.5 Messung des elektrischen Widerstands des menschlichen Körpers - Körperimpedanz

Für Messungen der Körperimpedanz (KI in Ohm [Ω]) wurde das Körperfett-Analysengerät eingesetzt (Modell TBF-305, TANITA Europe GmbH, Sindelfingen, Deutschland), welches zur Auswertung mit dem Verfahren der Bioelektrischen Impedanz Analyse arbeitet. Bei dem TBF-305 handelt es sich um ein Meßgerät, welches unter anderem das Körperfett einer Person mit Hilfe von Standardformeln aus der Messung des elektrischen Widerstands (Scheinwiderstand) des Körpers ermittelt. Heute wird als Standard für die Messung des Körperfetts die „Unterwasser-Gewichtsmethode“ benutzt. Der TBF-305 verarbeitet die durch diese Methode generierten Daten in einer Formel, so daß der Körperfettanteil und die Körperimpedanz durch Berühren der Elektroden auf der Meßplattform mit den Füßen ermittelt werden können. Der elektrische Widerstand des menschlichen Körpers reflektiert vor allem seinen Wasserhaushalt, z.B. bei allgemeiner venöser Stauung (79). Vor der Widerstandsmessung wurden die Studienteilnehmer darauf aufmerksam gemacht, 12 Stunden vor der Messung keinen Alkohol zu sich zu nehmen und keine starken körperlichen Aktivitäten auszuüben. Auch sollte die Blase kurz vor der Messung entleert werden.

Vor Betreten der Meßplattform wurde die Körpergröße der Patienten bestimmt und zusammen mit dem Geschlecht und dem Alter dem Körperfett-Analysengerät als Daten zur Verfügung gestellt. Das Gerät druckte nach etwa 2 Minuten die gemessenen und errechneten Werte des jeweiligen Patienten. Angezeigt wurden auf einem Ausdruck das Geschlecht, die Körpergröße, das Gewicht, der Körper-Massen-Index, der Scheinwiderstand des Körpers (Körperimpedanz), die Fettmasse in Kilogramm sowie der prozentuale Fettanteil am Gesamtkörpergewicht und die fettfreie Masse sowie der Gesamtwassergehalt des Körpers. Männern weisen im allgemeinen durch ihre größere Muskelmasse einen höheren Gesamtwassergehalt auf.

Als einfaches Maß des zentralen Venendruckes wurde der Jugularvenendruck beurteilt.

3.6 Statistische Analyse

Nach Auswertung der Anamnesen und diagnostisch angewandten Methoden, Erhalt der Laborparameter sowie der Ergebnisse der Zuckerresorptionstests wurden die Daten in eine Excel-Tabelle (Microsoft Excel 95, Microsoft Corporation, USA) eingegeben und zur statistischen Auswertung in das Softwareprogramm StatView 4.5 (Abacus Concepts Inc., Berkeley, CA ,USA) übertragen.

Alle Ergebnisse wurden mit dem arithmetischen Mittelwert und dem Standardfehler des Mittelwertes angegeben. Eine statistische Irrtumswahrscheinlichkeit von $< 5\%$ ($p < 0,05$) bei Vergleichen gilt gemeinhin als statistisch signifikant. Wegen multipler statistischer Tests in den Untergruppenvergleichen wurde in dieser Arbeit aber nur eine Irrtumswahrscheinlichkeit von unter 1% ($p < 0,01$) als statistisch signifikant akzeptiert (1). Lagen die Meßwerte der Zuckerekretion im Urin oder der Blutproben unterhalb der Nachweisgrenze, wurde der geringste noch methodisch zu bestimmende Wert notiert (3). Um Ergebnisse zu vergleichen wurde ANOVA mit Fisher's-post-hoc-Test und Student's t-test angewendet. Der Kolmogorow-Smirnov-Test wurde genutzt, um zu untersuchen, ob Normalverteilungen vorliegen. Zur Prüfung der Abhängigkeit nominal verteilter Faktoren kam der Fisher's-Exact-Test zur Anwendung. Das Verhältnis zwischen Variablen wurde mit einfacher linearer, schrittweiser und multivariater Regression analysiert.

4 Ergebnisse

4.1 Basisparameter

Die klinischen Charakteristika und die biochemischen Parameter der Studienteilnehmer sind in Tabelle 1 dargestellt. Nicht-ödematöse Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI) waren etwas jünger als ödematöse Patienten oder gesunde Probanden. Als ein Zeichen der Leberzellschädigung - möglicherweise wegen der Kreislaufüberlastung, die sich auch durch den erhöhten Jugularvenendruck darstellte - war die Gamma-Glutamyltransferase (γ -GT) bei ödematösen Patienten deutlich erhöht, wobei nicht-ödematöse Patienten und das Kontroll-Kollektiv Normalwerte aufwiesen. Der Harnsäurespiegel im Serum lag bei den dekompensierten Patienten am höchsten. Außerdem zeigten diese Studienteilnehmer eine geringere Kreatinin-Clearance im Vergleich zu den beiden anderen Gruppen.

Tabelle 1.

Variable	CHI-Patienten		Kontrollen (n = 8)	p-Wert ANOVA
	ödematös (n = 14)	nicht- ödematös (n = 11)		
Alter [Jahre]	72 ± 2 #	63 ± 4 *	71 ± 2	0,04
Körper-Massen-Index [kg/m ²]	27,3 ± 1,7	25,3 ± 1,2	24,7 ± 1,2	0,42
Mittlerer Blutdruck [mmHg]	89 ± 3	83 ± 3 *	100 ± 6	0,04
Ruhepuls [min ⁻¹]	74 ± 9	75 ± 6	55 ± 2	0,17
Jugularvenendruck [cm]	5,0 ± 1,3 #	3,0 ± 0,7		
NYHA Klasse	2,9 ± 0,2	2,5 ± 0,2		
LVEF [%]	29 ± 4	39 ± 6		
Natrium [mmol/L]	137 ± 1	137 ± 1	140 ± 1	0,2
γ-GT [U/L]	137,5 ± 35,7 ## **	38,4 ± 7,8	27,3 ± 5,8	0,0009
Albumin [g/L]	38,8 ± 1,5 *	39,9 ± 0,8	42,5 ± 1,1	0,12
Gesamt-Eiweiß [g/L]	70,1 ± 1,6	70,3 ± 1,4	70,1 ± 0,9	0,98
Harnsäure [μmol/L]	505 ± 54 **	403 ± 30	325 ± 16	0,024
Kreatinin-Clearance [ml/min]	48,3 ± 8,0 ## **	94,1 ± 9,4	96,0 ± 19,4	0,006
Leukozyten [x 10 ⁹ /L]	7,2 ± 0,6 *	6,5 ± 0,7	5,3 ± 0,2	0,1

Klinische Charakteristika und biochemische Parameter der Studienteilnehmer.

Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI) eingeteilt in ödematös und nicht-ödematös verglichen mit den gesunden Kontrollen.

Die Werte repräsentieren den Mittelwert ± Standardfehler.

p < 0,05; ## p ≤ 0,01 vs nicht-ödematöse Patienten;

* p < 0,05; ** p ≤ 0,01 vs Kontrollen.

4.2 Endotoxin, Tumornekrosefaktor α , Interleukin-6, lösliche Tumornekrosefaktor-Rezeptoren 1 und 2

In Tabelle 2 wird deutlich, daß die ödematösen CHI-Patienten die höchste Plasmakonzentration an Endotoxin (LPS) aufwiesen ($p = 0,0008$, ANOVA). Von 14 ödematösen Patienten hatten 8 (57%) eine höhere Konzentration als der angegebene Kontrollwert ($<0,50$ EU/ml), wobei bei keinem der nicht-ödematösen Patienten der LPS-Wert über 0,48 EU/ml stieg ($p = 0,003$, Fisher's exact Test). Die Serumkonzentrationen von Tumornekrosefaktor α (TNF- α) und den löslichen Tumornekrosefaktor-Rezeptoren 1 und 2 (sTNF-R1/2) zeigten die höchsten Werte bei Patienten mit peripheren Ödemen und steigerten sich von den gesunden Studienteilnehmern über die nicht-ödematösen zu den ödematösen Patienten (TNF- α : $p = 0,002$, sTNF-R1: $p < 0,0001$, sTNF-R2: $p = 0,0002$, ANOVA). Zwischen den nicht-ödematösen Kranken und den gesunden Probanden konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Die Plasmakonzentrationen von Interleukin-6 (IL-6) lagen bei den CHI-Patienten etwas höher als bei den gesunden Probanden ($p = 0,11$), aber es gab keine größeren Unterschiede zwischen den dekompensierten und den nicht-ödematösen Patienten ($p = 0,21$, ANOVA).

In Abbildung 4 wurden die Patienten mit CHI entsprechend dem höheren oder niedrigeren LPS-Spiegel nach dem belegten Standardwert ($< 0,50$ EU/ml) eingeordnet. Diejenigen mit einem LPS-Wert über 0,50 EU/ml ($n = 8$) zeigten gleichzeitig die höchsten Konzentrationen an TNF- α ($8,2 \pm 1,9$ vs $3,5 \pm 0,3$ pg/ml, $p = 0,0006$) und sTNF-R1 (3687 ± 513 vs 1944 ± 298 pg/ml, $p = 0,001$), wobei sich die Ergebnisse für sTNF-R2 (4001 ± 504 vs 3183 ± 316 pg/ml) und IL-6 (73 ± 18 vs 78 ± 27 pg/ml) als nicht signifikant unterschiedlich zwischen diesen beiden Gruppen erwiesen. Die gesunden Probanden sind zum Vergleich mit dargestellt.

Tabelle 2.

Variable	alle CHI Patienten (n = 25)	p-Wert alle CHI vs Kontrollen	Kontrollen (n = 8)	p-Wert Kontrollen vs nicht-ödematös	nicht-ödematöse CHI Patienten (n = 11)	p-Wert nicht-ödematös vs ödematös	ödematöse CHI (n = 14)	p-Wert ödematöse vs Kontrollen
TNF- α [pg/ml]	5,0 \pm 0,8	0,04	2,1 \pm 0,3	0,58	2,9 \pm 0,3	0,004	6,7 \pm 1,2	0,002
sTNF-R1 [pg/ml]	2502 \pm 304	0,01	1011 \pm 81	0,41	1419 \pm 288	< 0,0001	3353 \pm 367	<0,0001
sTNF-R2 [pg/ml]	3445 \pm 274	0,004	1880 \pm 213	0,13	2660 \pm 371	0,003	4063 \pm 312	<0,0001
Endotoxin [EU/ml]	0,46 \pm 0,03	0,19	0,37 \pm 0,03	0,61	0,34 \pm 0,02	0,0004	0,55 \pm 0,05	0,005
IL-6 [pg/ml]	76,8 \pm 22,1	0,11	12,6 \pm 4,5	0,08	91,8 \pm 41,1	0,43	60,3 \pm 12,0	0,29
3-O-M-D-Glukose [%]	18,1 \pm 2,0	0,0008	34,2 \pm 4,7	0,02	23,7 \pm 2,5	0,009	12,5 \pm 1,9	<0,0001
D-Xylose [%]	14,7 \pm 1,6	0,26	18,1 \pm 2,5	0,76	19,0 \pm 1,9	0,003	10,4 \pm 1,7	0,01
Melibiose/L-Rhamnose	0,035 \pm 0,004	0,13	0,043 \pm 0,009	0,3	0,032 \pm 0,003	0,52	0,038 \pm 0,008	0,64

Plasmakonzentrationen von Endotoxin und Serumkonzentrationen von Zytokinen sowie Zuckerekkretionen im Urin.

Angegeben sind die Werte der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI) im Vergleich zu den gesunden Kontrollen sowie eine Aufteilung der Patienten in nicht-ödematös und ödematös. 3-O-Methyl-D-Glukose und D-Xylose sind Saccharide, die Carrier- vermittelt transportiert werden und als Marker für Darmwand-Ischämie angesehen werden. Der Quotient Melibiose/L-Rhamnose repräsentiert die Dünndarm-Permeabilität. Die Werte sind als Mittelwert \pm Standardfehler dargestellt.

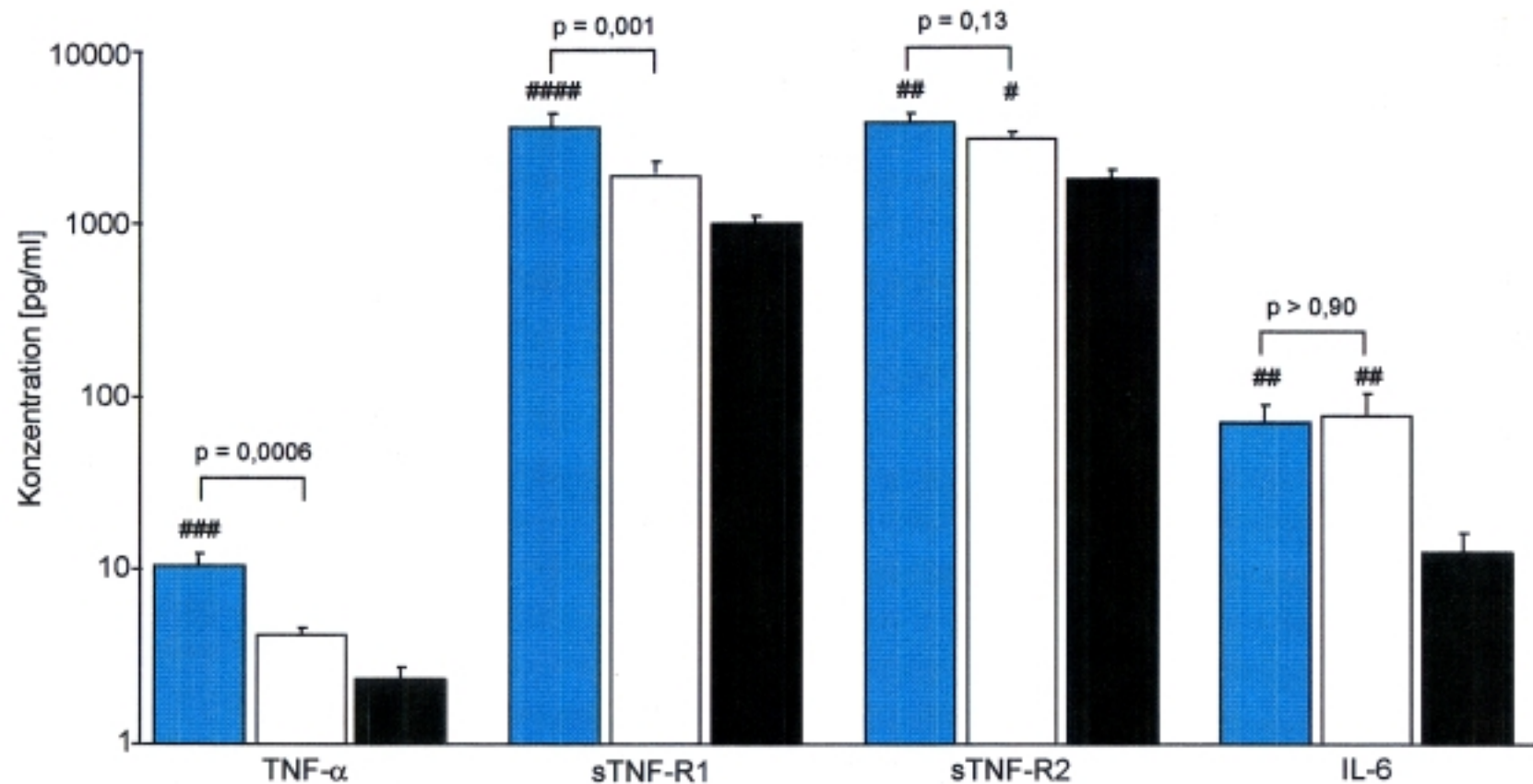


Abbildung 4. Graphische Darstellung der Ergebnisse der Serumbestimmung von TNF- α , sTNF-R1/2 sowie IL-6 entsprechend den Endotoxin-Spiegeln.

Einteilung der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI) entsprechend dem Endotoxin (LPS)-Wert im Plasma nach dem belegten Standardwert (< 0,50 EU/ml), ■ CHI-Patienten mit LPS > 0,50 EU/ml, □ CHI-Patienten mit LPS < 0,50 EU/ml, ■ gesunde Kontrollen. # p < 0,05 vs Kontrollen, ## p < 0,01 vs Kontrollen, ### p < 0,001 vs Kontrollen, #### p < 0,0001 vs Kontrollen.

4.3 Urinausscheidung der Saccharide

Der aktive, Carrier-vermittelte Transport von 3-O-Methyl-D-Glukose (3OMD-Glu) zeigte eine schrittweise Verminderung in der Urinexkretion bei den nicht-ödematösen (ungefähr 2/3 der Ausscheidung der gesunden Probanden) und den ödematösen Patienten (etwa 1/3 der Ausscheidung der gesunden Studienteilnehmer, $p = 0,0001$, ANOVA, siehe Tabelle 2). Der passive, Carrier-vermittelte Transport von D-Xylose (Xyl) war deutlich vermindert bei den dekompensierten Patienten ($p = 0,006$, ANOVA), wobei die stabilen Patienten und die gesunden Kontrollen einen ähnlichen prozentualen Anteil der oral verabreichten Zuckermengen im Urin ausschieden. Die Melibiose (Mel)/L-Rhamnose (Rham)-Exkretion im Urin, die als Maß der Dünndarm-Permeabilität gilt, war zwischen den teilnehmenden Gruppen nicht signifikant unterschiedlich. Bei der Bestimmung der Dickdarm-Permeabilität, die durch Sukralose gemessen wurde, gab es keine signifikanten Unterschiede zwischen den Kontrollen ($1,34 \pm 0,18$ %) und einer Untergruppe von 7 CHI-Patienten ($1,31 \pm 0,32$ %; 3 ödematös: $1,02 \pm 0,42$ % und 4 nicht-ödematös: $1,54 \pm 0,48$ %).

4.4 Korrelationen

Die Abbildungen 5, 6 und 7 stellen die Korrelationen zwischen der Urinexkretion von 3OMD-Glu und Xyl mit TNF- α , sTNF-R1 und sTNF-R2 bei allen Studienteilnehmern dar. Betrachtet man nur die Patienten mit kompensierter und dekompensierter CHI, ergaben sich negative Korrelationen zwischen der gemessenen Ausscheidung im Urin von 3OMD-Glu und den Serumwerten von TNF- α ($r = -0,76$, $p < 0,0001$), sTNF-R1 ($r = -0,83$, $p < 0,0001$) sowie sTNF-R2 ($r = -0,56$, $p = 0,007$). Ähnliche Ergebnisse wurden für die Xyl-Exkretion vs TNF- α ($r = -0,74$, $p < 0,0001$), sTNF-R1 ($r = -0,86$, $p < 0,0001$) und sTNF-R2 ($r = -0,63$, $p = 0,002$) ermittelt.

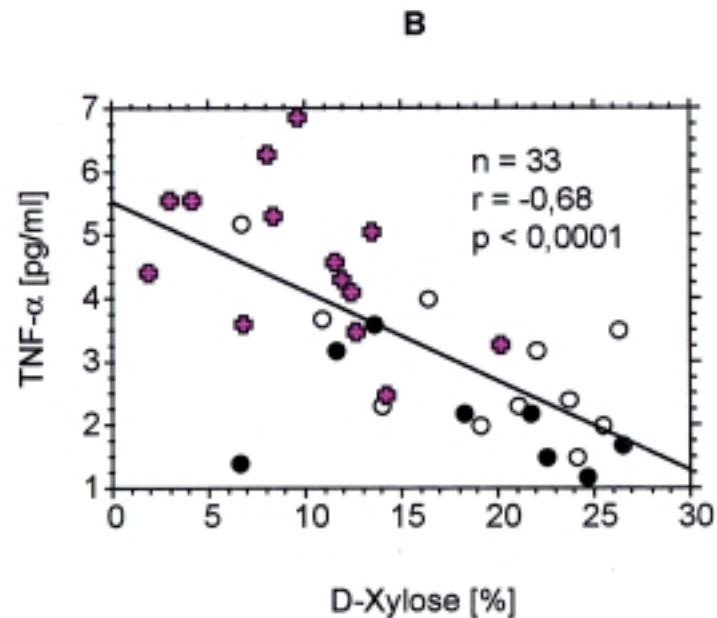
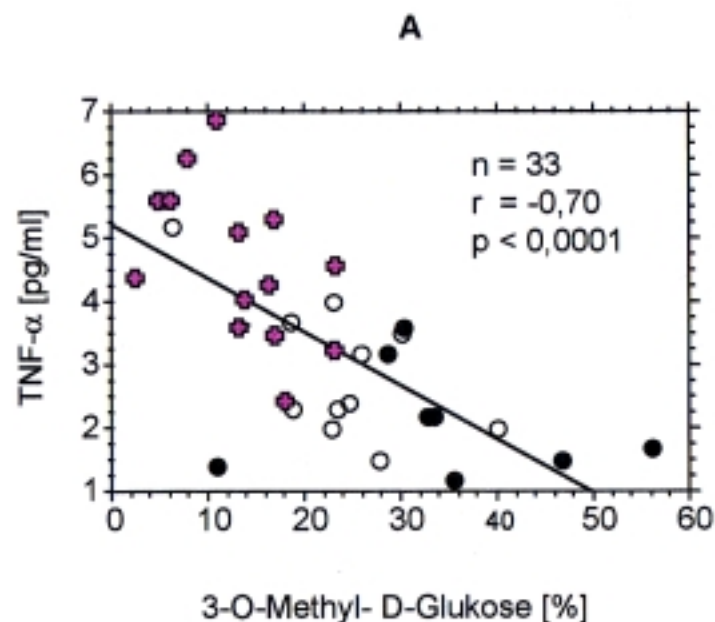


Abbildung 5. Beziehung zwischen TNF- α und Monosacchariden.

Die nach oraler Gabe im Urin gemessenen Monosaccharide 3-O-Methyl-D-Glukose (A) und D-Xylose (B) wurden mit Serumwerten von Tumornekrosefaktor- α (TNF- α) bei ● gesunden Kontrollen, ○ nicht-ödematösen Patienten und ● ödematösen Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz in Beziehung gesetzt.

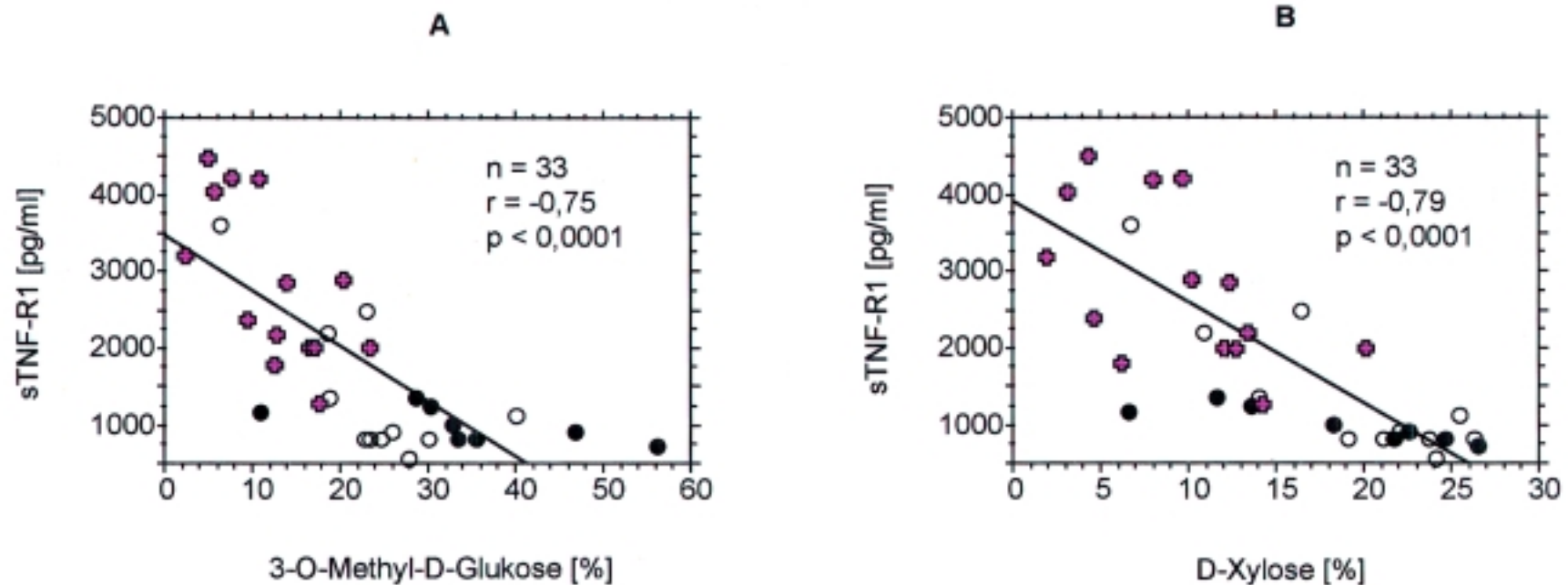


Abbildung 6. Beziehung zwischen sTNF-R1 und Monosacchariden.

Die nach oraler Gabe im Urin gemessenen Monosaccharide 3-O-Methyl-D-Glucose (A) und D-Xylose (B) wurden mit Serumwerten von löslichem Tumornekrosefaktor-Rezeptor 1 (sTNF-R1) bei ● gesunden Kontrollen, ○ nicht-ödematösen Patienten und * ödematösen Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz in Beziehung gesetzt.

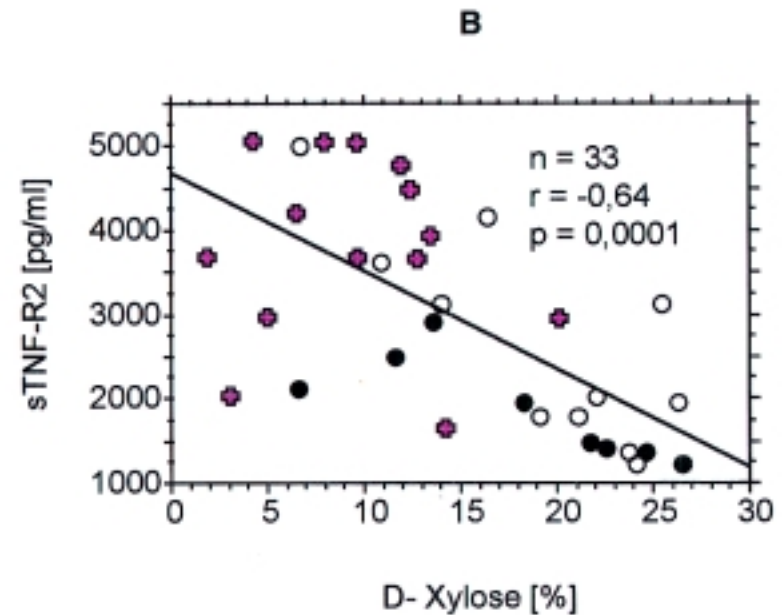
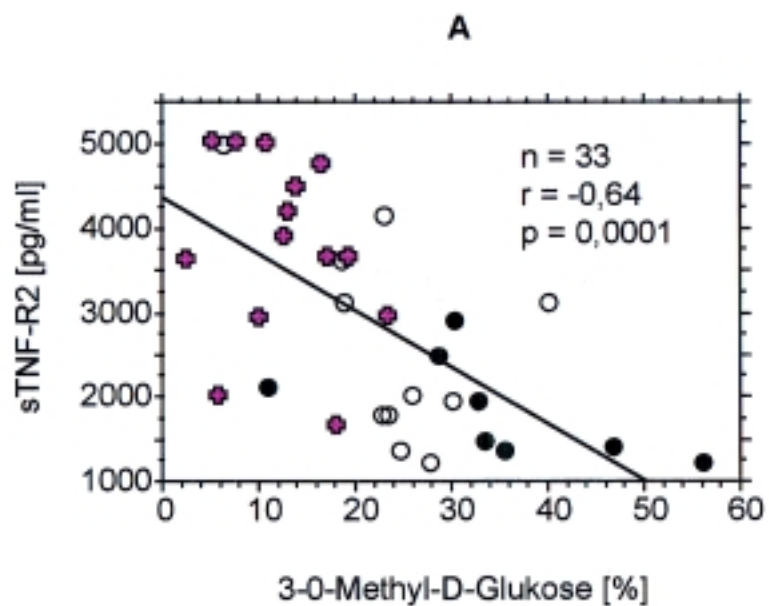


Abbildung 7. Beziehung zwischen sTNF-R2 und Monosacchariden.

Die nach oraler Gabe im Urin gemessenen Monosaccharide 3-O-Methyl-D-Glukose (A) und D-Xylose (B) wurden mit Serumwerten von löslichem Tumornekrosefaktor-Rezeptor 2 (sTNF-R2) bei ● gesunden Kontrollen, ○ nicht-ödematösen Patienten und ● ödematösen Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz in Beziehung gesetzt.

Mit der Urinexkretion von 3-O-Methyl-D-Glukose (3OMD-Glu) und D-Xylose (Xyl) korrelierten die Kreatinin-Clearance (beide $p \leq 0,0001$) und das Alter ($p = 0,12$ und $p = 0,01$). Für die IL-6-Konzentration ergaben sich keine signifikanten Korrelationen ($p = 0,13$ und $p = 0,26$, respektive). Die Ausscheidung von Mel/Rham zeigte keine signifikante Korrelation mit der Kreatinin-Clearance, den Zytokinen bzw. deren Rezeptoren oder dem Alter. LPS korrelierte nicht signifikant mit 3OMD-Glu und Xyl sowie dem Verhältnis Mel/Rham. Es ergab sich keine Korrelation zwischen der Konzentration von IL-6 und Endotoxin, aber LPS zeigte eine Beziehung zu TNF- α ($r = 0,79$, $p < 0,0001$), sTNF-R1 ($r = 0,62$, $p = 0,0001$) und sTNF-R2 ($r = 0,40$, $p = 0,02$) bei allen Studienteilnehmern insgesamt und auch wenn man nur die CHI-Patienten betrachtet ($r = 0,82$, $p < 0,0001$; $r = 0,62$, $p = 0,0009$; $r = 0,40$, $p < 0,05$). In Tabelle 3 sind die Korrelationen in den einzelnen Studiengruppen dargestellt, wobei die Werte für $p \leq 0,01$ besonders hervorgehoben sind.

Bei der schrittweisen Regressionsanalyse stellte sich für alle Untersuchten 3OMD-Glu im Urin unabhängig von Kreatinin-Clearance und Alter als signifikanter Prädiktor für TNF- α (F-Wert 20,0), sTNF-R1 (F-Wert 32,6) und sTNF-R2 (F-Wert 14,6) heraus ($n = 33$, $p < 0,001$). Bei den Patienten mit CHI allein betrug die Korrelationen zwischen 3OMD-Glu und den Zytokinen ähnliche Werte (alle $p \leq 0,01$). Die Urinexkretion von Xyl war unabhängig von der Kreatinin-Clearance und dem Alter ein Vorhersagewert für die Zytokin-konzentration bei allen Teilnehmern (TNF- α : F-Wert 19,3, sTNF-R1: F-Wert 40,7, sTNF-R2: F-Wert 15,3, alle $p < 0,001$) und nur bei den CHI-Patienten (alle $p \leq 0,002$).

Bei der multivariaten Analyse wurden bei den 25 Patienten die Konzentrationen von TNF- α und sTNF-R1 signifikant von Xyl ($R^2 = 0,48$, $p = 0,015$; $R^2 = 0,71$, $p = 0,001$) und 3OMD-Glu ($R^2 = 0,58$, $p = 0,008$; $R^2 = 0,65$, $p = 0,005$) unabhängig von der Kreatinin-Clearance und vom Alter vorhergesagt (beide $p > 0,20$).

Tabelle 3.

Variable	Melibiose/L-Rhamnose Quotient	D-Xylose	3-O-Methyl-D-Glukose
gesunde Kontrollen			
Alter [Jahre]	r = 0,50	r = -0,68; p = 0,07	r = -0,41
TNF- α [pg/ml]	r = 0,50	r = -0,41	r = -0,17
sTNF-R1 [pg/ml]	r = 0,52; p = 0,18	r = -0,89; p = 0,003	r = -0,67; p = 0,07
sTNF-R2 [pg/ml]	r = 0,69; p = 0,06	r = -0,80; p = 0,02	r = -0,60; p = 0,12
Kreatinin-Clearance [ml/min]	r = -0,16	r = 0,94; p = 0,006	r = 0,90; p = 0,001
Ödematöse CHI Patienten			
Alter [Jahre]	r = 0,25	r = -0,006	r = -0,03
TNF- α [pg/ml]	r = 0,23	r = -0,55; p = 0,08	r = -0,65; p = 0,03
sTNF-R1 [pg/ml]	r = 0,28	r = -0,73; p = 0,01	r = -0,79; p = 0,004
sTNF-R2 [pg/ml]	r = -0,46; p = 0,16	r = -0,16	r = -0,26
Kreatinin-Clearance [ml/min]	r = -0,22	r = 0,78; p = 0,005	r = 0,68; p = 0,02
nicht-ödematöse CHI Patienten			
Alter [Jahre]	r = -0,11	r = -0,52; p = 0,10	r = -0,61; p = 0,04
TNF- α [pg/ml]	r = 0,27	r = -0,66; p = 0,03	r = -0,63; p = 0,04
sTNF-R1 [pg/ml]	r = 0,42; p = 0,19	r = -0,86; p = 0,0007	r = -0,71; p = 0,01
sTNF-R2 [pg/ml]	r = 0,29	r = -0,79; p = 0,004	r = -0,52; p = 0,10
Kreatinin-Clearance [ml/min]	r = -0,52; p = 0,10	r = 0,61; p = 0,048	r = 0,69; p = 0,02

Korrelationen zwischen Zuckerexkretionen im Urin und Serumkonzentrationen von Zytokinen, Kreatinin-Clearance und Alter.

Die Werte sind angegeben für die unterschiedlichen Studiengruppen: Kontrollen und Patienten mit chronische Herzinsuffizienz (CHI) entsprechend dem Vorkommen von peripheren Ödemen; alle p-Werte < 0,20 sind dargestellt, p-Werte \leq 0,01 sind fettgedruckt.

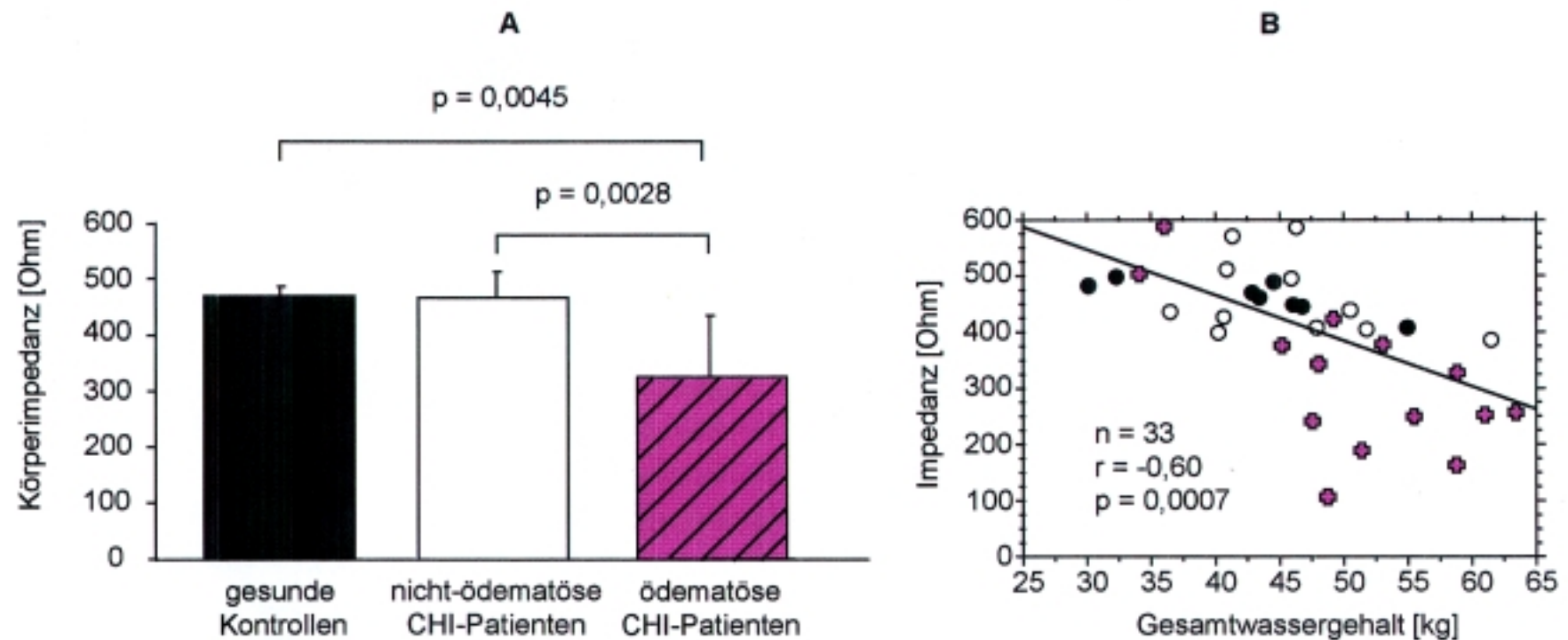


Abbildung 8. Beziehung zwischen Körperimpedanz und Gesamtwassergehalt des Körpers.

In der graphischen Darstellung (A) wurden die Werte der Körperimpedanz entsprechend den Studienteilnehmern in Kontrollen und Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI) mit und ohne peripheren Ödemen unterteilt.

In der Abbildung (B) wurden die Werte der Körperimpedanz mit den Werten des Gesamtwassergehalts des Körpers bei gesunden Kontrollen ●, nicht-ödematösen Patienten ○ und ödematösen Patienten ◆ mit CHI in Beziehung gesetzt. Die Körperimpedanz und der Gesamtwassergehalt wurden mit dem Körperfett-Analysegerät (Modell TBF-305 von TANITA) bestimmt.

4.5 Körperimpedanz

Die ödematösen Patienten mit CHI hatten einen niedrigeren Körperwiderstand als die nicht-ödematösen Patienten und die Kontrollen ($p = 0,004$, ANOVA, Abbildung 8). In der Regressionsanalyse korrelierte die Körperimpedanz mit TNF- α , sTNF-R1, sTNF-R2 wie auch mit 3OMD-Glu und Xyl. Jedoch nach Anpassung für die multiplen Korrelationen erreichten die Ergebnisse keine Signifikanz mehr. Der Gesamtwassergehalt des Körpers stieg mit der Schwere der Erkrankung der CHI von den Gesunden (43 kg), über die stabilen Patienten (46 kg) zu den dekompensierten Patienten (50 kg) ($p = 0,2$, ANOVA). In Abbildung 8 ist die Korrelation des Körperwassers mit dem Körperwiderstand dargestellt und zeigt eine hohe Signifikanz.

5 Diskussion

Ausgehend von einer Hypothese von Anker et al. (2) untersuchte diese Studie Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI), insbesondere akut dekompensierte Patienten mit peripheren Ödemen. Diese Hypothese beinhaltet, daß es durch die kardiale Dekompensation mit sichtbaren peripheren Ödemen ebenfalls zu intestinalen Ödemen und somit zu mesenterialem Venenstau kommen kann, wodurch die Zellintegrität der Darmwand-Zellen in Mitleidenschaft gezogen werden kann. Dies könnte zu einer Erhöhung der Darmwand-Permeabilität führen und eine vermehrte bakterielle Translokation sowie Endotoxin (LPS)- Freisetzung nach sich ziehen. Die vermehrte LPS-Exposition verursacht möglicherweise eine Immunaktivierung mit Erhöhung von proinflammatorischen Zytokinen und deren Rezeptoren.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Darmwand-Permeabilität und -Resorption mit Hilfe von oral verabreichten Zuckerlösungen untersucht. Anschließend wurden die Ergebnisse der Urinausscheidung der Zucker mit Plasmakonzentrationen von LPS und Serumkonzentrationen von Tumornekrosefaktor α (TNF- α), löslichen Tumornekrosefaktor-Rezeptoren 1 und 2 (sTNF-R1/2) sowie Interleukin-6 (IL-6) in Beziehung gesetzt.

Nach Auswertung der Daten aus den angewendeten Zuckertests konnte bei den Studienteilnehmern keine Erhöhung der Darmwand-Permeabilität festgestellt werden. Allerdings zeigt diese Studie, daß der aktive (3-O-Methyl-D-Glukose) und der passive (D-Xylose) Carrier-vermittelte intestinale Transport von Sacchariden durch die Wand des Dünndarms bei ödematösen Patienten, die an CHI leiden, verglichen mit nicht-ödematösen Patienten und gesunden Probanden vermindert ist. Da diese beiden Saccharide als geeignete Testsubstanzen gelten, Darmwand-Ischämie zu erfassen (8, 70), liegt bei den ödematösen Patienten wahrscheinlich eine Sauerstoffunterversorgung der Darmwand vor.

Möglicherweise führt diese Veränderung der Darmwand zu einer erhöhten Translokation von Endotoxin. Die systemischen Zytokinkonzentrationen stehen in enger inverser Beziehung zu der Urinexkretion dieser Zucker, jedoch nicht die peripher gemessene LPS- Konzentration. Außerdem scheint es eine enge Beziehung zwischen TNF- α sowie dem sTNF-R1 zu der Aktivität von LPS zu geben. Im Gegensatz dazu gab es keine signifikante Beziehung zwischen LPS und IL-6.

Die ebenfalls in dieser Arbeit durchgeführte Körperwiderstandsmessung, mit der ein quantitatives Maß für die Überwässerung von dekompensierten CHI-Patienten gefunden werden sollte, zeigt, daß die Körperimpedanz bei ödematösen Patienten am geringsten war und daß mit erhöhtem Körperwassergehalt der Widerstand vermindert ist.

5.1 Darmwand-Permeabilität

Das Konzept der Darmwand-Permeabilität (DP) bezieht sich auf die Eigenschaft einer Membran, die eine Passage von Molekülen durch nicht-Carrier-vermittelte Diffusion ermöglicht. In ihrem weitesten Sinn ist die Permeabilität mit zwei physiologischen Gegebenheiten, der „Resorption“ und der „Barrierefunktion“ in Zusammenhang zu bringen, im Unterschied zu verdauender und sekretorischer Funktion. Durch eine große Vielfalt an physiologischen, pathologischen und therapeutischen Situationen erfährt die DP (para- und transzellulär) viele Veränderungen.

Um die Resorption und DP zu messen, wurde in dieser Studie ein Test gewählt, der in der Gastroenterologie bereits Verbreitung gefunden hat, jedoch bisher noch nicht in der Kardiologie angewandt wurde. Man bediente sich eines Exkretionstest für verschiedene Saccharide im Urin, mit dem *in vivo* durch nicht invasive Verabreichung von unterschiedlichen Kohlenhydraten als Testsubstanzen die Enterozytenfunktion und die DP beurteilt werden können (8). Melibiose (Mel) durchdringt die Darmwand parazellulär über seltener vorkommende große (Radius größer als 0,5 nm) Mukosaporen und L-Rhamnose (Rham) transzellulär über häufig vorkommende kleine (Radius kleiner als 0,4 nm) wasserhaltige Mukosaporen (56). Folglich können diese

Zuckerexkretionen ermittelt werden, um die Dünndarm-Permeabilität zu messen, die sich in dem Mel/Rham-Quotienten widerspiegelt und zum größten Teil nicht von der prä- und postmukosalen Funktion betroffen ist. Nach Verbrennungen (101), aorto-koronarem Venenbypass (86), Gefäßchirurgie (68, 80) und bei Patienten, die ein Multi-Organversagen entwickelten (23), konnte gezeigt werden, daß dieser Quotient erhöht ist. Interessanterweise konnten im Rahmen dieser Studie keine signifikanten Differenzen in der Urinexkretion von Mel/Rham zwischen den unterschiedlichen Studienteilnehmern festgestellt werden (siehe Tabelle 2). Außerdem war das Verhältnis von Mel zu Rham weder mit der systemischen Konzentration von proinflammatorischen Zytokinen (siehe Tabelle 3) noch mit der peripher gemessenen LPS-Konzentration in Beziehung zu setzen.

Im Vergleich zu Standardwerten bei gesunden kaukasoiden erwachsenen Personen (Alter < 60 Jahre: 0,030%) (11) war der Mel/Rham-Quotient in dieser Studie bei den gesunden Probanden (0,043%) und bei Patienten mit CHI (0,035%) nicht signifikant höher, entsprechend der Aussage der vorangehenden Studie, daß Alter keinen beeinflussenden Faktor darstelle (11). Im Gegensatz dazu stellte sich die Exkretion von 3-O-Methyl-D-Glukose (3OMD-Glu) (34,2%) und D-Xylose (Xyl) (18,1%) in der bei der vorliegenden Arbeit untersuchten Kontrollpopulation als geringer heraus, als bei den vorher publizierten Referenzwerten (42,5% für 3OMD-Glu sowie 29,7% Xyl) betreffend ein Durchschnittsalter von < 60 Jahren (11). Die Differenzen der Kontrollwerte sind wahrscheinlich auf altersbedingte Veränderungen der Nierenfunktion zurückzuführen. In den hier durchgeführten Messungen wurde nicht nur eine geringere intestinale Aufnahme von 3OMD-Glu und Xyl gefunden, sondern auch von Rham und Mel, wobei diese Reduktion bei allen vier Zuckerproben eine große Übereinstimmung zeigte. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß extramukosalen Faktoren wie mangelhafte intestinale Blutzirkulation, epitheliale Funktionsstörung und vermehrte Extrazellulärflüssigkeit in der CHI eine wichtige Rolle spielen.

Obwohl die Xyl bis zu 50 % in der Leber metabolisiert wird, erklärt eine abnormale Leberfunktion nicht die niedrigere Exkretion bei ödematösen Patienten, da ein verminderter Lebermetabolismus die Urinexkretion dieser Probe erhöhen würde (8). Es sollte ebenfalls beachtet werden, daß 3OMD-Glu

aktiv durch die Darmwand transportiert wird und dabei das selbe Natrium-abhängige Transportsystem nutzt wie D-Glukose und D-Galaktose. Deshalb könnte, wenn die CHI ein Insulin-resistenter Status ist (73, 90, 91), bei einer Beeinträchtigung des Glukose-Insulin-Stoffwechselweges zusätzlich der aktive, Carrier-vermittelte Transport gestört sein.

Nimmt man also an, daß der im Rahmen dieser Studie ermittelte Quotient der Urinexkretion von Mel und Rham als Marker für intestinale Permeabilität gilt (70), muß festgestellt werden, daß in dieser Arbeit weder bei den untersuchten nicht-ödematösen noch bei den dekompensierten Patienten mit CHI eine Erhöhung der Dünndarm-Permeabilität vorliegt.

Der Sukralose-Test, der die Permeabilität des Dickdarmes messen soll (58), ergab ebenfalls keine signifikant unterschiedlichen Werte bei allen beteiligten Gruppen dieser Studie, so daß man nach diesen Ergebnissen nicht von einer erhöhten Dickdarm-Permeabilität ausgehen kann. Demnach konnte mit den in der vorliegenden Arbeit angewandten Zuckertests bei den hier untersuchten Studienteilnehmern besonders bei Patienten mit dekompensierter CHI keine Erhöhung der Darmwand-Permeabilität nachgewiesen werden.

5.2 Intestinale epitheliale Funktionsstörung

Bei Patienten mit CHI wurde eine endotheliale Funktionsstörung beobachtet. (25). Wenn der periphere Blutfluß in der CHI reduziert ist, könnten lokale Ischämie und Hypoxie eine Stimulation von Monozyten und/oder Makrophagen hervorrufen (2). Zur Unterstützung dieser Annahme konnte gezeigt werden, daß es bei der CHI eine inverse Beziehung zwischen peripherer vasodilatatorischer Kapazität und der Plasmakonzentration von TNF- α , sTNF-R1 und sTNF-R2 gibt (3).

Die vorliegende Studie war in der Lage, eine signifikante Korrelation zwischen einer verminderten Urinausscheidung von 3OMD-Glu und Xyl mit einer erhöhten Serumkonzentration an proinflammatorischen Zytokinen und deren Rezeptoren nachzuweisen, was die Frage nach Ursache oder Folge aufwirft.

Die Urinexkretion dieser beiden Zucker reflektiert die Enterozytenfunktion (69), welche bei den untersuchten Patienten beeinträchtigt zu sein scheint (siehe

Tabelle 2). Ein reduzierter intestinaler Blutfluß und/oder intestinale Stauung kann zu einer epithelialen Funktionsstörung führen. Dies könnte eine erhöhte Produktion von freien Sauerstoffradikalen und dadurch eine weitere Enterozytenschädigung verursachen (54, 98). In Hinblick auf die freien Sauerstoffradikale steht Harnsäure, die ein Substrat der Xanthinoxidase ist, welche zu einem großen Teil im Darm lokalisiert ist (54), bei CHI in Beziehung zu einem beeinträchtigten Sauerstoffmetabolismus (50) und einer erhöhten Zytokinkonzentration (49). Aus diesem Grund könnten therapeutische Interventionen, die auf die Wichtigkeit der intestinalen Funktion bei Patienten mit CHI zielen, neue adjuvante Behandlungsstrategien eröffnen. Die Frage, ob ein verminderter Blutfluß oder eine Flüssigkeitsüberladung die intestinale Funktionsstörung verursacht, könnte einen wichtigen Einfluß auf die Therapie haben. Basierend auf der Annahme, daß Ödeme des Darmes die Ursache sind - was wegen des Vorhandenseins von peripheren Venenstauungen zu vermuten ist - könnte eine intensive Diuretikabehandlung helfen (64). Sollte es der reduzierte Blutfluß im Darm sein, könnte eine inotrope Therapie oder eine Einstellung der Patienten auf Substanzen, die die Endothelfunktion verbessern, erforderlich sein. Interessanterweise konnte gezeigt werden, daß die Hemmung des Angiotensin-konvertierenden Enzyms (bekannt dafür, die vaskuläre Endothelfunktion bei Patienten mit CHI zu verbessern (25)) im Tiermodell die bakterielle Translokation und Mortalität bei einer vom Darm abgeleiteten Sepsis reduziert (29). Zusätzliche therapeutische Ziele, die es wert sind, untersucht zu werden, sind unter anderem der Einsatz von Antibiotika. Hier wurde bereits in anderen Studien über die Prävention von Infektionen bei Patienten der Intensivstation berichtet, wodurch die Überlebenszeit überzeugend verbessert werden konnte (96). Auch Medikamente, mit denen es möglich wäre, die Darmwand-Integrität wiederherzustellen, wie z. B. Allopurinol (81), könnten eingesetzt werden. Bei den an der vorliegenden Studie teilnehmenden Patienten mit dekompensierter CHI wurde durch die hier angewandten Zuckertests eine mögliche Beeinträchtigung der Enterozytenfunktion festgestellt.

5.3 Bakterielle Translokation und intestinale Barrierefunktion

Bei Patienten, an denen eine aorto-koronare Bypass-Operation durchgeführt wurde und eine Erhöhung der Darmwand-Permeabilität meßbar war, korrelierte die Endotoxinämie nicht mit der Darmpermeabilität (78). Eine Möglichkeit ist, daß die bakterielle Translokation nicht über den parazellulären Weg erfolgt, da Bakterien und LPS relativ große amphiphile Moleküle sind (83). Die im Zuckertest angewendete Mel durchdringt die Darmwand selektiv parazellulär. So hätte sich dieser mögliche Weg der bakteriellen Translokation in einer Erhöhung der Mel-Exkretion widerspiegeln müssen.

Die hier gezeigte reduzierte Resorptionskapazität für 3OMD-Glu und Xyl, reflektiert wahrscheinlich eine Abnormalität der Enterozyten bei Patienten mit dekompensierter CHI. Die verminderte Permeation dieser Monosaccharide könnte eine Folge der Ischämie sein, welche als erstes die Spitzen der Darmzotten betreffen würde, wo der Carrier-vermittelte Transport stattfindet (21, 42, 43). Sollte die bakterielle Translokation transzellulär vonstatten gehen, ist es wahrscheinlich, daß sich durch die epitheliale Funktionsstörung die Endotoxinämie verstärken könnte. Während krisenhafter Zustände bei Krankheiten kann länger anhaltende oder wiederholte Exposition von systemischem LPS oder damit im Zusammenhang stehenden Zytokinen möglicherweise zu einer bedeutenden Gefährdung der Integrität der gastrointestinalen Mukosabarriere führen (67). LPS selber kann ebenfalls direkt die intestinale Funktion durch einen NO-abhängigen Weg verschlechtern (97, 98).

Obwohl die vorliegende Studie nicht die Frage beantworten konnte, ob die bakterielle Translokation die Quelle der erhöhten Zytokinkonzentration bei den Patienten ist, hat diese Arbeit gezeigt, daß die LPS-Spiegel in enger Beziehung zu den Konzentrationen von TNF- α und sTNF-R1 stehen, jedoch nicht zu IL-6 (siehe Abbildung 4). Dies läßt vermuten, daß die Produktion von IL-6 nicht durch LPS ausgelöst wird. Vor kurzem konnte bei *in vitro* Studien an

neonatalen Rattenkardiomyozyten der Nachweis erbracht werden, daß die IL-6-Freisetzung von Noradrenalin verursacht werden kann (63).

Laut der hier vorliegenden univariaten Analyse hat die Nierenfunktion einen gewissen Einfluß auf die Ergebnisse der intestinalen Funktionstests. Da die Beziehungen zwischen 3OMD-Glu und Xyl mit den Zytokinen bei Patienten mit CHI klar unabhängig von der Kreatinin-Clearance sind, wird die Gültigkeit der Vermutung bestätigt, daß intestinale Ischämie bei einigen Patienten mit CHI zu einer Immunaktivierung führen könnte.

Die im Rahmen dieser Studie untersuchten dekompensierten Patienten hatten deutlich erhöhte Plasmakonzentrationen an LPS (siehe Tabelle 2) im Vergleich zu den stabilen CHI-Patienten und den gesunden Kontrollen. Nach einer Hypothese von Wells et al. (99) werden intestinale Bakterien von beweglichen Phagozyten aufgenommen und auf die extraintestinale Seite transportiert. Wenn die Pathogene nicht neutralisiert werden können, kommt es dann zu einer Freisetzung. So werden die intestinalen Bakterien als „fakultativ intrazelluläre Pathogene“ bezeichnet. Diese mögliche Passage der gramnegativen Darmbakterien vom Darmlumen in das Blut konnte mit den in der vorliegenden Dissertation angewandten Zuckertests nicht ermittelt werden, da diese zur Untersuchung des Phagozytoseverhaltens nicht geeignet sind.

Nach den Ergebnissen der hier durchgeführten Zuckertests, wird bei dekompensierten CHI-Patienten eine Ischämie des Intestinums vermutet, die mit einer verstärkten Translokation von gramnegativen Bakterien, deren Bruchstücken oder isolierten Endotoxinen aus der Darmflora (dem Haupt-Endotoxin-Reservoir des Menschen) in das portale Stromgebiet einhergehen könnte.

5.4 Körperimpedanz

Auch in anderen Bereichen außerhalb der Arbeiten zur Herzinsuffizienz besteht ein wachsendes Interesse daran, die Körperfett-Analyse zu nutzen (14, 52), um die Zusammensetzung des menschlichen Körpers zu untersuchen. Dies ist unter anderem im Sport und in der Ernährungsforschung von Interesse, wobei die Validität dieser Methode für diese Bereiche nachgewiesen ist (66).

In der Forschung zur Herzinsuffizienz wurde dieses Analyseprinzip zu Hilfe genommen, um Untersuchungen mit kachektischen Patienten durchzuführen und deren Körperfettgehalt festzustellen (76).

Von der beschriebenen Untersuchungsmethode ist bekannt, daß Elektrolyt-enthaltende Flüssigkeiten einen relativ geringen Widerstand haben, während Gewebe mit wenig Flüssigkeit wie z. B. Knochen eine hohe Impedanz aufweisen (6, 45). Mit Erhöhung des Körperwassergehaltes nimmt also der Widerstand ab. In der vorliegenden Studie zeigen die Ergebnisse der Körperwiderstandsmessung, daß dekompensierte Patienten mit schwerer Herzinsuffizienz und klinisch sichtbaren Ödemen signifikant verringerte Körperimpedanzwerte aufwiesen. Bei den CHI-Patienten, die klinisch keine Ödeme hatten, wurden ähnliche Werte wie bei der Kontrollgruppe gemessen. Die Körperwiderstandsmessung könnte als ein Maß für Überwässerung bei dekompensierten Patienten angewendet werden und hätte hier besondere Bedeutung, um Veränderungen des ödematösen Status bei jedem einzelnen Patient zu erfassen.

6 **Schlußfolgerungen**

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie lassen vermuten, daß bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und akut aufgetretenen Ödemen eine intestinale epitheliale Funktionsstörung existiert, die entweder ein Ergebnis der Darmwand-Ischämie und/oder der Darmwand-Stauung ist, und daß die funktionale Verschlechterung des Darmepithels in Beziehung zu einer Erhöhung der Zytokinkonzentration im Serum steht. Im Rahmen dieser Arbeit konnten signifikant erhöhte Endotoxin-Spiegel im Plasma bei akut dekompensierten Patienten gemessen werden, die möglicherweise auf die Sauerstoff-unterversorgung der Darmwand zurückzuführen sind. Die Frage, ob und vor allem wie die bakterielle Translokation durch die Darmwand bei Patienten, wie den hier untersuchten, stattfindet, bleibt Diskussionsgrundlage, da die angewandten unterschiedlichen Zuckerresorption-Tests nur bedingt als Marker für bakterielle Translokation geeignet sind. Zur endgültigen Klärung dieser Frage müßten noch weitere spezifische Studien und Methoden angewandt werden. Interventionen, die die Wiederherstellung der gestörten Darmwandfunktion zum Ziel haben, könnten sich günstig auf die Immunfunktion von Patienten mit Herzinsuffizienz auswirken.

7 Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wird zum ersten Mal die resorbierende Funktion des Darmes von Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI) beurteilt.

Im Rahmen dieser Studie konnten die Untersuchungsergebnisse von Niebauer et al. (64) bestätigt werden, daß bei akut dekompensierten CHI-Patienten erhöhte Endotoxin-Spiegel (LPS) in Verbindung mit einer Erhöhung von proinflammatorischen Zytokinen bzw. -Rezeptoren auftreten.

Diese Arbeit überprüfte die Hypothese von Anker et al. (2), daß eine Veränderung der Darmwand-Permeabilität (DP) mit gesteigerter bakterieller Translokation und Endotoxämie bei Patienten mit akut aufgetretenen Ödemen sekundär zu einer Kreislaufüberlastung bei Herzinsuffizienz zu finden sein könnte. Weiterhin wurde vermutet, daß bei diesen Patienten eine LPS-Erhöhung im Blut zu einer Immunaktivierung führt (siehe Abb. 2).

Zur Analyse dieser Hypothese wurden bei stabilen und akut dekompensierten Patienten mit CHI sowie bei einem gesunden Kontrollkollektiv die Plasmaspiegel auf Endotoxin und proinflammatorische Zytokine sowie deren Rezeptoren überprüft. Die Darmwand-Permeabilität und -Resorption wurden mit Hilfe von Standard-Zuckertests untersucht, zu denen unter anderem Indikatoren für intestinale Ischämie gehörten. Für die Beurteilung der DP des Dünndarm nutzte man den Quotienten der Urinexkretionen von Melibiose/L-Rhamnose, für den Dickdarm die Sukralose-Ausscheidung. 3-O-Methyl-D-Glukose (3OMD-Glu) und D-Xylose (Xyl) unterliegen einer Carrier-vermittelten Resorption und gelten als geeignete Testsubstanzen, um vorübergehende Darmwand-Ischämie zu erfassen (8, 70).

Akut dekompensierte Patienten wiesen höhere Plasmakonzentrationen an LPS ($0,55 \pm 0,05$ EU/ml, $p = 0,0008$), TNF- α ($6,7 \pm 1,2$ pg/ml, $p = 0,002$) und sTNF-R1/2 (3353 ± 367 pg/ml, $p < 0,0001$; 4063 ± 312 pg/ml, $p = 0,0002$; ANOVA) auf als nicht-ödematöse Patienten mit CHI und die gesunden Studienteilnehmer. Die Ausscheidung von 3OMD-Glu und Xyl im Urin war bei Patienten mit Ödemen am geringsten ($12,5 \pm 1,9$ vs $23,7 \pm 2,5$ vs $34,2 \pm 4,7\%$, $p = 0,0001$ und $10,4 \pm 1,7$ vs $19,0 \pm 1,9$ vs $18,1 \pm 2,5\%$, $p = 0,006$), was auf intestinale Ischämie hinweist. Unabhängig von Alter und Kreatinin-Clearance

ergab sich eine negative Korrelation der Serumkonzentrationen von TNF- α und sTNF-R1 mit der Urinausscheidung von 3OMD-Glu ($R^2 = 0,58$, $p = 0,008$; $R^2 = 0,65$, $p = 0,005$) bzw. von Xyl ($R^2 = 0,48$, $p = 0,015$; $R^2 = 0,71$, $p = 0,001$). Die Urinexkretion der Marker für die DP des Dün- und Dickdarms unterschieden sich zwischen den untersuchten Gruppen nicht signifikant und korrelierten nicht mit zirkulierendem LPS. Patienten mit erhöhtem LPS-Spiegel ($>0,50$ EU/ml) hatten ebenfalls die höchsten Serumkonzentrationen an TNF- α und sTNF-R1, wobei sich die Plasmakonzentrationen von IL-6 nicht signifikant unterschieden, was auf einen abweichenden Induktionsmechanismus hindeutet.

Im Rahmen der vorliegenden Studie zur Untersuchung von Patienten mit CHI wird durch die Verminderung der Ischämie-Marker (Carrier-vermittelter Saccharidtransport) im durchgeführten Zuckertest vermutet, daß die Darmwand der Patienten während der akuten ödematösen Exazerbation einer Ischämie unterliegt. Die dadurch entstehende intestinale Funktionsstörung könnte entweder durch eine mesenteriale Venenstauung, worauf die peripher zu erkennenden Ödeme hindeuten, oder durch einen allgemein reduzierten Blutfluß (38) verursacht sein. Die Schädigung der Darmwand kann möglicherweise zur bakteriellen Translokation führen und den erhöhten Endotoxin-Spiegel bei den dekompenzierten Patienten erklären. Die Urinexkretionen der beiden Carrier-vermittelt transportierten Zucker stehen in enger inverser Beziehung zu systemischen Zytokinkonzentrationen. Intestinale Ischämie könnte bei einigen Patienten mit CHI zu Immunaktivierung führen. Außerdem scheint es eine enge Beziehung zwischen TNF- α und dem sTNF-R1 zu der Aktivität von Endotoxin zu geben. Diese Daten lassen vermuten, daß Endotoxin ein Auslöser der Immunaktivierung bei Patienten mit CHI während einer ödematösen Episode ist.

8 Literaturverzeichnis

1. Anker SD, Chua TP, Ponikowski P, Harrington D, Swan JW, Kox WJ, Poole-Wilson PA, Coats AJ: Hormonal changes and catabolic/anabolic imbalance in chronic heart failure and their importance for cardiac cachexia. *Circulation* 96 (1997) 526-534
2. Anker SD, Egerer KR, Volk HD, Kox WJ, Poole-Wilson PA, Coats AJ: Elevated soluble CD14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure. *Am J Cardiol* 79 (1997) 1426-1430
3. Anker SD, Volterrani M, Egerer KR, Felton CV, Kox WJ, Poole-Wilson PA, Coats AJ: Tumour necrosis factor alpha as a predictor of impaired peak leg blood flow in patients with chronic heart failure. *QJM* 91 (1998) 199-203
4. Guideline for the diagnosis of heart failure. The Task Force on Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 16, (1995) 741-751
5. Barnett MI, Cosslett AG: Endotoxin-a clinical challenge. *British Journal of Intensive Care* (1998) 78-87
6. Baumgartner RN, Chumlea WC, Roche AF: Bioelectrical impedance for body composition. *Exerc Sport Sci Rev* 18 (1990) 193-224
7. Beaglehole R, Stewart AW, Jackson RT, Dobson AJ, McElduff P, D'Este K, Heller RF, Jamrozik KD, Hobbs MS, Parsons R, Broadhurst R: Declining rates of coronary heart disease in New Zealand and Australia, 1983-1993. *Am J Epidemiol* 145 (1997) 707-713
8. Bjarnason I, MacPherson A, Hollander D: Intestinal permeability: an overview. *Gastroenterology* 108 (1995) 1566-1581
9. Bjarnason I, Peters TJ: Intestinal permeability, non-steroidal anti-inflammatory drug enteropathy and inflammatory bowel disease: an overview. *Gut* 30 (1989) 22-28

10. Bjarnason I, Peters TJ, Levi AJ: Intestinal permeability: clinical correlates. *Dig Dis* 4 (1986) 83-92
11. Bjarnason I, Sharpstone DR, Francis N, Marker A, Taylor C, Barrett M, MacPherson A, Baldwin C, Menzies IS, Crane RC, Smith T, Pozniak A, Gazzard BG: Intestinal inflammation, ileal structure and function in HIV. *AIDS* 10 (1996) 1385-1391
12. Brandtzaeg P, Kierulf P, Gaustad P, et al: Plasma endotoxin as a predictor of multiple organ failure and death in systemic meningococcal disease. *J Infect Dis* 159 (1989) 195-204
13. Bundschuh G: *Lexikon der Immunologie*. Medical Service München, Akademie Verlag Berlin, München, 1992, S. 277-278
14. Chumlea WC, Guo SS: Bioelectrical impedance and body composition: present status and future directions. *Nutr Rev* 2 (1994) 123-131
15. Cleland JGF: Screening for left ventricular dysfunction and chronic heart failure: should it be done and if so, how? *Dis Management Health Outcomes* 1 (1997) 169-184
16. Cleland JGF: Heart failure:a medical hydra. *Lancet* 352 (Suppl I) (1998) 1-2
17. Coats AJ: The "muscle hypothesis" of chronic heart failure. *J Mol Cell Cardiol* 28 (1996) 2255-2262
18. Coats AJ, Clark AL, Piepoli M, Volterrani M, Poole-Wilson PA: Symptoms and quality of life in heart failure: the muscle hypothesis. *Br Heart J* 72 (1994) 236-239
19. Cowie MR, Mosterd A, Wood DA, Deckers JW, Poole-Wilson PA, Sutton GC, Grobbee DE: The epidemiology of heart failure. *Eur Heart J* 18 (1997) 208-225

20. Da Silva AMT, Kaulbach HC, Chuidian FS: Brief report: shock and multiple-organ dysfunction after self-administration of Salmonella endotoxin. *N Engl J Med* 328 (1994) 1457-1460
21. Debbenham ES, Ebrahim HY, Swaine DJ: Diabetes mellitus and sugar transport across the brush border and basolateral membranes of rat jejunal enterocytes. *J Physiol (Lond)* 424 (1990) 13-25
22. Deswal A, Petersen NJ, Feldman AM, Young JB, White BG, Mann DL: Cytokines and Cytokine Receptors in Advanced Heart Failure : An Analysis of the Cytokine Database from the Vesnarinone Trial (VEST). *Circulation* 103 (2001) 2055-2059
23. Doig CJ, Sutherland LR, Sandham JD, Fick GH, Verhoef M, Meddings JB: Increased intestinal permeability is associated with the development of multiple organ dysfunction syndrome in critically ill ICU patients. *Am J Respir Crit Care Med* 158 (1998) 444-451
24. Drexler H, Hornig B: Importance of endothelial function in chronic heart failure. *J Cardiovasc Pharmacol* 27 (1996) 9-12
25. Drexler H, Kurz S, Jeserich M, Munzel T, Hornig B: Effect of chronic angiotensin converting enzyme inhibition on endothelial function in patients with chronic heart failure. *Am J Cardiol* 76 (1995) 13-18
26. Engelberts I, Stephens S, Francot GJ, van der Linden CJ, Buurman WA: Evidence for different effects of soluble TNF-receptors on various TNF measurements in human biological fluids. *Lancet* 338 (1991) 515-516
27. Eriksson H: Heart failure: a growing public health problem. *J Intern Med* 237 (1995) 135-141
28. Fine J: Current status of the problem of traumatic shock. *Surg Gynecol Obstet* 120 (1965) 537-544
29. Gennari R, Alexander JW, Boyce ST, Lilly N, Babcock GF, Conaggia M: Effects of the angiotensin converting enzyme inhibitor enalapril on

- bacterial translocation after thermal injury and bacterial challenge. *Shock* 6 (1996) 95-100
30. Ghali JK, Cooper R, Ford E: Trends in hospitalisation rates for heart failure in the United States. *Arch Intern Med* 150 (1990) 769-773
 31. Givertz MM, Colucci WS: New targets for heart-failure therapy: endothelin, inflammatory cytokines, and oxidative stress. *Lancet* 352 (1998) 34-38
 32. Hall EJ, Batt RM: Abnormal permeability precedes the development of a gluten sensitive enteropathy in Irish setter dogs. *Gut* 32 (1991) 749-753
 33. Hall EJ, Batt RM: Differential sugar absorption for the assessment of canine intestinal permeability: the cellobiose/mannitol test in gluten-sensitive enteropathy of irish setters. *Res Vet Sci* 51 (1991) 83-87
 34. Hegewisch S, Weh HJ, Hossfeld DK: TNF-induced cardiomyopathy. *Lancet* 335 (1990) 294-295
 35. Hunink MG, Goldman L, Tosteson AN, Mittleman MA, Goldman PA, Williams LW, Tsevat J, Weinstein MC: The recent decline in mortality from coronary heart disease. *JAMA* 277 (1997) 535-542
 36. Jacob S, Weizel H, Gordon E, Korman H, Schweinburg FB, Frank HA, Fine J: Bacterial action in the development of irreversibility to transfusion in hemorrhagic shock in the dog. *Am J Physiol* 179 (1954) 523-540
 37. Jenkins RT, Ramage JK, Jones DB, Collins SM, Goodacre RL, Hunt RH: Small bowel and colonic permeability to ⁵¹Cr-EDTA in patients with active inflammatory bowel disease. *Clin Invest Med* 11 (1988) 151-155
 38. Just H: Peripheral adaptations in congestive heart failure: a review. *Am J Med* 90 (Suppl) (1991) 23-26
 39. Kannel WB, Ho K, Thom T: Changing epidemiological features of cardiac failure. *Eur Heart J* 72 (Suppl) (1994) 3-9

40. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM: Zellwand der gramnegativen Bakterien. In: Medizinische Mikrobiologie; Immunologie, Bakteriologie, Mykologie, Virologie, Parasitologie. 10. Aufl. Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York, 2001, S. 165
41. Khabar KS, Barbary MA, Khouqeer F, Devol E, al-Gain S, al Halees Z: Circulating endotoxin and cytokines after cardiopulmonary bypass: differential correlation with duration of bypass and systemic inflammatory response/multiple organ dysfunction syndromes. Clin Immunol Immunopathol 85 (1997) 97-103
42. King IS, Sepulveda FV, Smith MW: Cellular distribution of neutral and basic amino acid transport systems in rabbit mucosa. J Physiol (Lond) 319 (1981) 355-368
43. Knickelbein RG, Aronson PS, Dobbins JW: Membrane distribution of sodium-hydrogen and chloride-bicarbonate exchanges in crypt and villus cell membranes from rabbit ileum. J Clin Invest 82 (1988) 2158-2163
44. Kober L, Torp Pedersen C, Carlsen JE, Bagger H, Eliassen P, Lyngborg K, Videbaek J, Cole DS, Auclert L, Pauly NC: A clinical trial of the angiotensin-converting-enzyme inhibitor tradolapril in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction. N Engl J Med 333 (1995) 1670-1676
45. Kushner RF: Bioelectrical impedance analysis: a review of principles and applications. J Am Coll Nutr 11 (1992) 199-209
46. Lenfant C: Report of the Task Force on Research in Heart Failure. Circulation 90 (1994) 1118-1123
47. Lequier LL, Nikaidoh H, Leonard SR, Bokovoy JL, White ML, Scannon PJ, Giroir BP: Preoperative and postoperative endotoxemia in children with congenital heart disease. Chest 117 (2000) 1706-1712

48. Levine B, Kalman J, Mayer L, Fillit HM, Packer M: Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med* 323 (1990) 236-241
49. Leyva F, Anker SD, Godsland IF, Teixeira M, Hellewell PG, Kox WJ, Poole-Wilson PA, Coats AJ: Uric acid in chronic heart failure: a marker of chronic inflammation. *Eur Heart J* 19 (1998) 1814-1822
50. Leyva F, Anker SD, Swan JW, Godsland IF, Wingrove CS, Chua TP, Stevenson JC, Coats AJ: Serum uric acid as an index of impaired oxidative metabolism in chronic heart failure. *Eur Heart J* 18 (1997) 858-865
51. Lim SG, Menzies IS, Lee CA, Johnson MA, Pounder RE: Intestinal permeability and function in patients infected with human immunodeficiency virus. A comparison with coeliac disease. *Scand J Gastroenterol* 28 (1993) 573-580
52. Lukaski H, Johnson PE, Bolonchuk WW, Lykken GI: Assessment of fat-free mass using bioelectrical impedance measurements of the human body. *Am J Clin Nutr* 41 (1985) 810-817
53. Mann DL, Young JB: Basic mechanisms in congestive heart failure: recognizing the role of proinflammatory cytokines. *Chest* 105 (1994) 897-904
54. Marston A: Gut rot. *Lancet* 353 (1999) 1875-1877
55. Martinez-Pellus AE, Merino P, Bru M, Canovas J, Sellar G, Sapina J, Fuentes T, Moro J: Endogenous endotoxemia of intestinal origin during cardiopulmonary bypass. Role of type of flow and protective effect of selective digestive decontamination. *Intensive Care Med* 23 (1997) 1251-1257
56. Maxton DG, Bjarnason I, Reynolds AP, Catt SD, Peters TJ, Menzies IS: 51 Cr-labelled ethylenediaminetetraacetate, L-rhamnose and

- polyethyleneglycol 400 as probe markers for assessment in vivo of human intestinal permeability. *Clin Sci* 71 (1986) 71-80
57. McMurray J, McDonagh T, Morrison CE, Dargie HJ: Trends in hospitalisation for heart failure in Scotland 1980-1990. *Eur Heart J* 14 (1993) 1158-1162
 58. Meddings JB, Gibbons I: Discrimination of site-specific alterations in gastrointestinal permeability in the rat. *Gastroenterology* 114 (1998) 83-92
 59. Menzies IS: Transmucosal passage of inert molecules in health and disease. *Intestinal absorption and secretion* MTP Press (1984) 527-543
 60. Menzies IS, Mount JN, Wheeler MJ: Quantitative estimation of clinically important monosaccharides in plasma by rapid thin layer chromatography. *Ann Clin Biochem* 15 (1978) 65-76
 61. Mielants H, De Vos M, Goemaere S, Schelstraete K, Cuvelier C, Goethals K, Maertens M, Ackerman C, Veys EM: Intestinal mucosal permeability in inflammatory rheumatic diseases. *J Rheumatol* 18 (1991) 394-400
 62. Mielants H, Goemaere S, De Vos M, Schelstraete K, Goethals K, Maertens M, Ackerman C, Veys EM: Intestinal mucosal permeability in inflammatory rheumatic diseases. I. Role of antiinflammatory drugs. *J Rheumatol* 18 (1991) 389-393
 63. Müller-Werdan U, Jacoby J, Loppnow H, Werdan K: Noradrenalin stimulates cardiomyocytes to produce interleukin-6, indicative of a proinflammatory action, which is suppressed by carvedilol. *Eur Heart J* 20 (Suppl) (1999) 322 (abstract)
 64. Niebauer J, Volk HD, Kemp M, Dominguez M, Schumann RR, Rauchhaus M, Poole-Wilson PA, Coats AJ, Anker SD: Endotoxin and immune activation in chronic heart failure: a prospective cohort study. *Lancet* 353 (1999) 1838-1842

65. Noone C, Menzies IS, Banatvale JE, Scopes JW: Intestinal permeability and lactose hydrolysis in human rotaviral gastroenteritis assessed simultaneously by non-invasive differential sugar permeation. *Eur J Clin Invest* 16 (1986) 217-225
66. Nunez C, Gallagher D, Visser M, Pi-Sunyer FX, Wang Z, Heymsfield SB: Bioimpedance analysis: evaluation of leg-to-leg system based on pressure contact footpad electrodes. *Medicine and Science in Sports and Exercise* 1997) 524-531
67. O'Dwyer ST, Michie HR, Ziegler TR, Revhaug A, Smith RJ, Wilmore DW: A single dose of endotoxin increases intestinal permeability in healthy humans. *Arch-Surg* 123 (1988) 1459-1464
68. Ohri SK, Bjarnason I, Pathi V, Somasundaram S, Bowles CT, Keogh BE, Khaghani A, Menzies IS, Yacoub MH, Taylor KM: Cardiopulmonary bypass impairs small intestinal transport and increases gut permeability. *Ann Thorac Surg* 55 (1993) 1080-1086
69. Ohri SK, Bowles CW, Mathie RT, Lawrence DR, Keogh BE, Taylor KM: Effect of cardiopulmonary bypass perfusion protocols on gut tissue oxygenation and blood flow. *Ann Thorac Surg* 64 (1997) 163-170
70. Ohri SK, Somasundaram S, Koak Y, MacPherson A, Keogh BE, Taylor KM, Menzies IS, Bjarnason I: The effect of intestinal hypoperfusion on intestinal absorption and permeability during cardiopulmonary bypass. *Gastroenterology* 106 (1994) 318-323
71. Olaison G, Sjodahl R, Leandersson P, Tagesson C: Abnormal intestinal permeability pattern in colonic Crohn's disease. Absorption of low molecular weight polyethylene glycols after oral or colonic load. *Scand J Gastroenterol* 24 (1989) 571-576
72. Packer M: The neurohormonal hypothesis: a theory to explain the mechanism of disease progression in heart failure. *J Am Coll Cardiol* 20 (1992) 248-254

73. Paolisso G, DeRiu S, Marazzo G, Verza M, Varricchio M, O'Onofrio: Insulin resistance and hyperinsulinaemia in patients with chronic congestive heart failure. *Metabolism* 40 (1991) 972-977
74. Parrillo JE, Parker MM, Natanson C, et al: Septic shock in humans: advances in the understanding of pathogenesis cardiovascular dysfunction, and therapy. *Ann Intern Med* 113 (1990) 227-242
75. Ramage JK, Stanisz A, Scicchitano R, Hunt RH, Perdue MH: Effect of immunologic reactions on rat intestinal epithelium. Correlation of increased permeability to chromium 51-labeled ethylenediamine-tetraacetic acid and ovalbumin during acute inflammation and anaphylaxis. *Gastroenterology* 94 (1988) 1368-1375
76. Rauchhaus M, Carroll PV, Coats AJ, Anker SD: Cardiac cachexia: a pilot study for the assessment of protein and fat tissue metabolism. *Europ J Heart Fail* 1 (Suppl) (1999) 72 (abstract)
77. Rauchhaus M, Doehner W, Francis DP, Davos C, Kemp M, Liebenthal C, Niebauer J, Volk HD, Coats AJ, Anker SD: Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation* 102 (2000) 3060-3067
78. Riddington-DW, Venkatesh-B, Boivin-CM, Bonser-RS, Elliott-TS, Marshall-T, Mountford-PJ, Bion-JF: Intestinal permeability, gastric intramucosal pH, and systemic endotoxemia in patients undergoing cardiopulmonary bypass. *JAMA* 275 (1996) 1007-1012
79. Roubenoff R: Applications of bioelectrical impedance analysis for body composition to epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 64 (1996) 459-462
80. Roumen RM, van der Vliet JA, Wevers RA, Goris RJ: Intestinal permeability is increased after major vascular surgery. *J Vasc Surg* 17 (1993) 734-737
81. Schimpl G, Pesendorfer P, Steinwender G, Geierl G, Ratschek M, Hollwarth ME: Allopurinol reduces bacterial translocation, intestinal

- mucosal lipid peroxidation, and neutrophil-derived myeloperoxidase activity in chronic portal hypertensive and common bile duct-ligated growing rats. *Pediatr Res* 40 (1996) 422-428
82. Schönauer M, Anker SD, Volk HD, Kemp M, Peschel T, Ziegenbalg K, Niebauer J: Endotoxemia as a cause of inflammatory cytokine activation in severe heart failure: higher levels in hepatic vein than in left ventricle. *Circulation* 100 (Suppl 1) (1999) 18 (abstract)
 83. Schumann RR, Rietschel ET, Loppnow H: The role of CD14 and lipopolysaccharide-binding protein (LBP) in the activation of different cell types by endotoxin. *Med Microbiol Immunol* 183 (1994) 279-297
 84. Schweinburg FB, Seligman AM, Fine J: Transmural migration of intestinal bacteria: study based on the use of radioactive *Escherichia coli*. *N Engl J Med* 242 (1950) 747-751
 85. Seta Y, Shan K, Bozkurt B, Oral H, Mann DL: Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis. *J Card Fail* 2 (1996) 243-249
 86. Sinclair DG, Haslam PL, Quinlan GJ, Pepper JR, Evans TW: The effect of cardiopulmonary bypass on intestinal and pulmonary endothelial permeability. *Chest* 108 (1995) 718-724
 87. Sinclair DG, Houldsworth PE, Keogh B, Pepper J, Evans TW: Gastrointestinal permeability following cardiopulmonary bypass: a randomised study comparing the effects of dopamine and dopexamine. *Intensive Care Med* 23 (1997) 510-516
 88. Stevenson LW, Hamilton MA, Tillisch IH, Morigucchi JD, Kobashigawa JA, Creaser JA, Drinkwater D, Laks H: Decreasing survival benefit from cardiac transplantation for outpatients as the waiting list lengthens. *J Am Coll Cardiol* 18 (1991) 919-925
 89. Stewart S, MacIntyre K, Hole DJ, Capewell S, McMurray JJ: More 'malignant' than cancer? Five-year survival following a first admission for heart failure. *Europ J Heart Fail* 3 (2001) 315-322

90. Swan JW, Anker SD, Walton C, Godsland IF, Clark AL, Leyva F, Stevenson JC, Coats AJ: Insulin Resistance in Chronic Heart Failure: Relation to Severity and Etiology of Heart Failure. *J Am Coll Cardiol* 30 (1997) 527-532
91. Swan JW, Walton C, Godsland IF, Clark AL, Coats AJ, Oliver MF: Insulin resistance in chronic heart failure. *Eur Heart J* 15 (1994) 1528-1532
92. Tancrede CH, Andreumont AO: Bacterial translocation and gramnegative bacteremia in patients with hemotologic malignancies. *J Infect Dis* 152 (1985) 99-103
93. Teahon K, Smethurst P, Levi AJ, Menzies IS, Bjarnason I: Intestinal permeability in patients with Crohn`s disease and their first degree relatives. *Gut* 33 (1992) 320-323
94. Thompson JS: The intestinal response to critical illness. *Am J Gastroenterol* 90 (1995) 190-200
95. Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Durand JB, Bies RD, Young JB, Mann DL: Tumor necrosis factor- α and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. *Circulation* 93 (1996) 704-711
96. Ulrich D, Harinck-de Weerd JE, Bakker NC, Jacz K, Doornbos L, de Ridder VA: Selective decontamination of the digestive tract with norfloxacin in the prevention of ICU-acquired infections: a prospective randomized study. *Intensive Care Med* 15 (1989) 424-431
97. Unno N, Menconi MJ, Smith M, Aguirre DE, Fink MP: Hyperpermeability of intestinal epithelial monolayers is induced by NO: effect of low extracellular pH. *Am J Physiol* 272 (1997) 923-934
98. Unno N, Wang H, Menconi MJ, Tytgat SH, Larkin V, Smith M, Morin MJ, Chavez A, Hodin RA, Fink MP: Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorates endotoxin-induced gut mucosal barrier dysfunction in rats. *Gastroenterology* 113 (1997) 1246-1257

99. Wells CL, Maddaus MA, Simmons RL: Proposed mechanisms for the translocation of intestinal bacteria. *Rev Infect Dis* 10 (1988) 958-979
100. Wells CL, Podzorski RP, Peterson PK, Ramsay MK, Simmons RL, Rhame FS: Incidence of trimethoprim-sulfamethoxazole resistant *Enterobacteriaceae* among transplant recipients. *J Infect Dis* 150 (1984) 699-706
101. Wicks C, Somasundaram S, Bjarnason I, Menzies IS, Routley D, Potter D, Tan KC, Williams R: Comparison of enteral feeding and total parenteral nutrition after liver transplantation. *Lancet* 344 (1994) 837-840
102. Wolochow H, Hildebrand GJ, Lammanna C: Translocation of microorganisms across the intestinal wall in rats: effect of microbial size and concentration. *J Infect Dis* 116 (1966) 523-528

9 Thesen

1. Die Herzinsuffizienz ist das häufigste kardiale Erkrankungsbild mit weltweit mehreren Millionen Patienten und wachsender Prävalenz. Mit Ausnahme des Bronchialkarzinoms hat die Herzinsuffizienz eine schlechtere 5-Jahres-Überlebensrate als die vier am häufigsten vorkommenden malignen Tumoren bei beiden Geschlechtern. Dies zeigt, daß die Pathophysiologie und die Therapiemöglichkeiten noch nicht ausreichend erfaßt sind.
2. Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz wurden wiederholt erhöhte Plasmaspiegel von proinflammatorischen Zytokinen wie TNF- α beschrieben, die mit einer gesteigerten Mortalität im Zusammenhang stehen. Die Ursache der Zytokinproduktion ist nicht bekannt.
3. Mit der vorliegenden Arbeit wurde eine Hypothese untersucht, die annimmt, daß bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz im Stadium der Dekompensation eine mesenteriale Venenstauung auftritt. Dabei kommt es durch Veränderungen der Darmwand zu einer bakteriellen Translokation, wobei die Endotoxin-Freisetzung zur Immunaktivierung führt.
4. Zur Beurteilung der Darmwand-Permeabilität des Dünndarms wurde der Quotient aus der Urinausscheidung von Melibiose/L-Rhamnose herangezogen, für die Dickdarm-Permeabilität die Sukraloseausscheidung. 3-O-Methyl-D-Glukose und D-Xylose werden Carrier-vermittelt resorbiert und gelten als geeignete Testsubstanzen, eine vorübergehende Darmwand-Ischämie zu erfassen.
5. Die Plasmakonzentrationen von Endotoxin, TNF- α und löslichen TNF-Rezeptoren 1 und 2 liegen bei dekompensierten Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz verglichen mit den anderen untersuchten Studiengruppen am höchsten.

6. Endotoxin korreliert signifikant mit TNF- α und löslichen TNF-Rezeptoren 1 und 2, jedoch nicht mit IL-6, was auf einen unterschiedlichen Induktionsmechanismus hindeutet.
7. Aus den ermittelten Daten der angewandten Zuckertests können bei den teilnehmenden Gruppen keine Veränderungen der Darmwand-Permeabilität des Dün- und Dickdarms festgestellt werden.
8. Der aktiv und der passiv Carrier-vermittelte Saccharidtransport bei ödematösen Patienten ist signifikant vermindert und es besteht eine negative Korrelation mit der systemischen Zytokinkonzentration.
9. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Darmwand der Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz während einer ödematösen Episode einer Ischämie unterliegt, die entweder durch eine mesenteriale Venenstauung oder einen allgemein reduzierten Blutfluß verursacht sein kann.
10. Die Schädigung der Darmwand führt möglicherweise zu einer vermehrten bakteriellen Translokation mit systemischer Endotoxin-Erhöhung. Diese gesteigerte Endotoxin-Exposition könnte ein wichtiger Stimulus für die Immunaktivierung sein.
11. Die vorliegende Arbeit deutet auf Interventionsmöglichkeiten hin, mit denen sich eine Therapie zur Wiederherstellung der gestörten Darmwandfunktion günstig auf die Immunaktivierung von Patienten mit Herzinsuffizienz auswirken könnte. Diese Studie kann als Ausgangspunkt für weitere Untersuchungen genutzt werden.

Tabellarischer Lebenslauf

Name: Veronika Astler, geb. Koloczek

Geburtsdatum: 22. Januar 1973

Geburtsort: Magdeburg

Wohnung: Thomas-Müntzer-Platz 3, 06114 Halle

Familienstand: verheiratet, eine Tochter

Ausbildung: -Polytechnische Oberschule 1979-1989
-Erweiterte Oberschule „W. v. Humboldt“ 1989-1991
-Ausbildung zur Arzthelferin an der
Medizinischen Fachschule Nordhausen
1991-1994
-Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg 1993-2002
-Ärztliche Vorprüfung 09/1995
-Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 08/1996
-Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung 09/1999

Dissertation: „Entotoxin in der chronischen Herzinsuffizienz:
Beziehung zur intestinalen Permeabilität und
Immunaktivierung.“ (Pathophysiologie-Institut,
MLU, Leiter: Professor Dr. med. J. Holtz) ab 04/1997

Ausland: -Famulatur, Chirurgie und Gynäkologie,
Sheffield, GB 09-12/1996
-Forschungsassistentin im National Heart
and Lung Institute, London, GB 03-09/1998

Stipendium: Förderung gemäß Graduiertenförderungsgesetz 03-09/1998

Veröffentlichungen:

Koloczek V, Rauchhaus M, Kemp M, Bjarnanson I, Menzies IS, Crane R, Holtz J, Poole-Wilson PA, Coats AJS, Anker SD. Body impedance, small bowel wall permeability, and immune activation in chronic heart failure. J Am Coll Cardiol 1999;33 (Suppl A):206A, oral presentation.

Rauchhaus M, Koloczek V, Henein M, Holtz J, Poole-Wilson PA, Coats AJS, Anker SD. The relationship between tumor necrosis factor-alpha, brain natriuretic peptide and atrial natriuretic peptide in chronic heart failure. Eur Cytokine Netw 1999;10: 447.

Koloczek V, Rauchhaus M, Crane R, Bjarnanson I, Menzies IS, Kemp M, Holtz J, Poole-Wilson PA, Coats AJS, Anker SD. Edema, body impedance and endotoxin in chronic heart failure: relationship to small bowel wall permeability and immune activation. Eur Cytokine Netw 1999;10: 448.

Rauchhaus M, Koloczek V, Kemp M, Coats AJS, Anker SD. Immune activation in chronic heart failure: the possible functional and prognostic importance of lipoproteins. Europ J Heart Fail 1999;1(Suppl.):11.

Rauchhaus M, Koloczek V, Henein M, Poole-Wilson PA, Coats AJS, Anker SD. The relationship between tumor necrosis factor-alpha and natriuretic peptides in chronic heart failure. Europ J Heart Fail 1999;1(Suppl.):72.

Rauchhaus M, Koloczek V, Kemp M, Coats AJS, Anker SD. Does high-density lipoprotein act as an endotoxin-binding protein with potential regulatory impact for immune activation in chronic heart failure? Europ J Heart Fail 1999;1(Suppl.):73.

Koloczek V, Rauchhaus M, Crane R, Bjarnanson I, Menzies IS, Kemp M, Holtz J, Poole-Wilson PA, Coats AJS, Anker SD. Endotoxin in chronic heart failure: relation to immune activation, small bowel wall permeability, body impedance and peripheral congestion. Europ J Heart Fail 1999;1(Suppl.):72.

Florea VG, Henein MY, Rauchhaus M, Koloczek V, Poole-Wilson PA, Gibson DG, Coats AJS, Anker SD. Cardiac structure and function in patients with cardiac cachexia: comparison with non-cachectic patients with heart failure. Europ J Heart Fail 1999;1(Suppl.):51.

Rauchhaus M, Koloczek V, Kemp M, Werdan K, Poole-Wilson PA, Coats AJS, Anker SD. Does high-density lipoprotein act as an endotoxin-binding protein with a potential regulatory impact for immune activation in chronic heart failure? Europ Heart J 1999;20(Suppl):197.

Rauchhaus M, Koloczek V, Kemp M, Coats AJS, Anker SD. Immune activation in chronic heart failure: the possible functional and prognostic importance of lipoproteins. Europ Heart J 1999;20(Suppl):199.

Rauchhaus M, Koloczek V, Coats AJS, Anker SD. Immune activation and lipoprotein levels – a functional relationship? X. European Students Conference 1999, oral presentation.

Anker SD, Rauchhaus M, Doehner W, Francis DP, Davos C, Koloczek V, Varney S, Kemp M, Ponikowski P, Leyva F, Coats AJS. Uric acid and survival in chronic heart failure: a validation study. *Circulation* 1999;100(Suppl):I-297.

Koloczek V, Rauchhaus M, Crane R, Bjarnanson I, Menzies IS, Kemp M, Holtz J, Poole-Wilson PA, Coats AJS, Anker SD. Markers of intestinal ischemia relate to immune activation in chronic heart failure. *Circulation* 1999;100(Suppl):I-206.

Rauchhaus M, Doehner W, Koloczek V, Niebauer J, Francis DP, Coats AJS, Anker SD. Systemically measured cytokines are independently predictive for increased mortality in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2000;35(Suppl):224A.

Rauchhaus M, Koloczek V, Volk HD, Niebauer J, Coats AJS, Anker SD. Low serum cholesterol levels independently predict heart failure mortality: immunological importance of lipoproteins? *J Am Coll Cardiol* 2000;35(Suppl):330A.

Rauchhaus M, Doehner W, Niebauer J, Koloczek V, Volk H-D, Anker SD. Plasma cytokine parameters are predictive for increased mortality in patients with chronic heart failure. *Eur Cytokine Netw* 2000;11: 528.

Koloczek V, Rauchhaus M, Bjarnason I, Volk H-D, Poole-Wilson PA, Coats AJS, Anker SD. Endotoxin, intestinal permeability and immune activation in patients with chronic heart failure. *Z Kardiol* 2000;89(Suppl 5):238.

Koloczek V, Rauchhaus M, Kemp M, Bjarnason I, Coats AJS, Anker SD. Markers of intestinal ischaemia relate to proinflammatory cytokines in patients with congestive heart failure. *Europ Heart J* 2000.

Rauchhaus M, Doehner W, Koloczek V, Kemp M, Volk H-D, Coats AJS, Anker SD. Cytokines and cytokine receptors are predictive for increased mortality in chronic heart failure. *Europ J Heart Fail* 2000;2(Suppl 2):102.

Rauchhaus M, Koloczek V, Volk H-D, Kemp M, Niebauer J, Francis DP, Coats AJS, Anker SD. Inflammatory cytokines and the possible immunological role for lipoproteins in chronic heart failure. *Int J Cardiol* 2000; 76: 125-133.

Selbständigkeitserklärung

Hiermit erkläre ich, daß ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe. Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter der Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Halle, den 11. 11. 2001

Veronika Astler

Erklärung

Hiermit erkläre ich wahrheitsgemäß, daß ich nur diesen Antrag zur Eröffnung eines Promotionsverfahrens gestellt habe.

Halle, den 11. 11. 2001

Veronika Astler

Danksagung

Herrn Professor Holtz gilt mein besonderer Dank. Er hat mir durch seine Kooperation mit dem National Heart and Lung Institute in London ermöglicht, den praktischen Teil der Dissertation in England durchzuführen und mir dann geholfen, die Studie in seinem Institut auszuarbeiten. Herr Professor Holtz hat mich über die gesamte Zeit unterstützt und bei vielen Fragestellungen die richtigen Empfehlungen gegeben.

Ich möchte mich voller Anerkennung bei Frau Dr. Darmer für ihren Rat und ihre Hilfe bedanken. Basierend auf ihrer Erfahrung hat sie mir bei der Vortragsvorbereitung und der Dissertation selbst sehr viel geholfen.

Mein spezieller Dank geht an Herrn Dr. Anker. Durch seine Hypothese als Grundlage dieser Arbeit, seine Supervision und Hilfe in London hat er einen großen Anteil an dieser Arbeit.

Herrn Professor Coats und Herrn Professor Poole-Wilson danke ich für die Möglichkeit, daß ich in ihrer Arbeitsgruppe im National Heart and Lung Institute, London (GB) als Forschungsassistentin arbeiten konnte.

Für die gute Zusammenarbeit sowohl in London als auch in Halle möchte ich Herrn Dr. Rauchhaus herzlich danken. Vielen Dank für seine große Unterstützung bei der statistischen Ausarbeitung der Daten und der inhaltlichen Gestaltung der Arbeit.

Mein Dank gilt auch Dr. Bjarnason, Dr. Menzies und Herrn Crane aus dem Kings College Hospital, London (GB), die mir bei dem Erlernen sowie der Auswertung der Zuckertests behilflich waren.

Ich danke der Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg für das Forschungsstipendium nach dem Graduiertenfördergesetz des Landes Sachsen-Anhalt, mit dem ich meinen Auslandsaufenthalt finanzieren konnte. Für die wertvolle Hilfe bei der äußeren Gestaltung der Dissertation und der Vorträge danke ich recht herzlich Herrn Krampitz und Herrn Busath.

Für die tatkräftige Unterstützung und das große Verständnis möchte ich meiner Familie, im besonderen meinem Mann, außerordentlich danken.