

**Matrixmetalloproteinasen und deren Gewebeinhibitoren
unter iv-Immunglobulintherapie
bei neuromuskulären Erkrankungen**

Stephanie Hurnaus

Aus dem Friedrich-Baur-Institut, leitender Arzt: Prof. Dr. med. Dieter Pongratz,
an der Neurologischen Klinik und Poliklinik, Direktor: Prof. Dr. med. Dr. h. c. Thomas Brandt,
der Ludwig-Maximilians-Universität München

**Matrixmetalloproteinasen und deren Gewebeinhibitoren unter
iv-Immunglobulintherapie bei neuromuskulären Erkrankungen**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Stephanie Hurnaus
aus München

2006

**Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Berichterstatter: Priv.-Doz. Dr. med. B. Schoser

Mitberichterstatter: Prof. Dr. M. Meyer
Priv.-Doz. Dr. E. Nößner

Dekan: Prof. Dr. med. D. Reinhardt

Tag der Mündlichen Prüfung: 14.12.2006

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht in:

European Neurology 2006; 55: 204-208

Serum Levels of Matrix Metalloproteinases-2 and -9 and their Tissue Inhibitors
in Inflammatory Neuromuscular Disorders

S. Hurnaus, W. Mueller-Felber, D. Pongratz, B.G.H. Schoser

Abkürzungsverzeichnis

ATP	Adenosintriphosphat
AK	Antikörper
bp	Basenpaare
CIDP	chronisch inflammatorisch demyelinisierende Polyneuropathie
CK	Creatinkinase
CTX	Cyclophosphamid
DM	Dermatomyositis
ECM	extrazelluläre Matrix
ECR	Extrazellulärraum
Ig(s)	Immunglobulin(e)
ivIg	intravenöse Immunglobuline
kb	Kilo Basen
kD	Kilo Dalton
Mittel	Mittelwert
MMN	multifokal motorische Neuropathie
MMP	Matrixmetalloproteinase
MS	Multiple Sklerose
n.s.	nicht signifikant
PM	Polymyositis
StF	Standardfehler
s-IBM	sporadische Einschlusskörpermyositis
TIMP	Tissue Inhibitor of Matrixmetalloproteinases

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Charakterisierung der MMPs und TIMPs	2
1.1.1	Allgemeine Beschreibung der MMPs und TIMPs sowie der ECM	2
1.1.2	Kodierende Gene und chemische Struktur der MMPs und TIMPs	4
1.1.3	Regulation der MMPs und TIMPs	6
1.1.4	Funktion und Vorkommen der MMPs und TIMPs im Organismus	7
1.2	Charakterisierung von ivIg	12
1.2.1	Allgemeine Beschreibung von ivIg	12
1.2.2	Indikationen für ivIg	13
1.2.3	Wirkungsmechanismen von ivIg	13
1.3	Charakterisierung der Creatinkinase (CK)	15
1.3.1	Allgemeine Beschreibung der CK	15
1.3.2	Kodierende Gene und chemische Struktur der CK	16
1.3.3	Funktion und Pathophysiologie der CK	16
1.4	Myositiden (s-IBM, PM, DM)	16
1.4.1	Klinische Merkmale der s-IBM und PM	17
1.4.2	Diagnosefindung (s-IBM, PM)	17
1.4.3	Pathogenese von s-IBM und PM	18
1.4.4	Therapieschemata bei s-IBM und PM	18
1.5	Polyneuropathien (MMN, CIDP)	19
1.5.1	Klinische Merkmale von MMN und CIDP	19
1.5.2	Diagnosefindung (MMN, CIDP)	20
1.5.3	Pathogenese der MMN und CIDP	21
1.5.4	Therapieschemata bei MMN und CIDP	22
2	Zielsetzung der vorliegenden Arbeit	24
3	Material und Methoden	25
3.1	Zusammensetzung der Untersuchungskollektive	25
3.1.1	Patientenkollektiv	25
3.1.2	Kontrollkollektiv	25
3.2	Studienzeitraum	26
3.3	Anamnese der Patienten	26
3.4	Klinische Untersuchung	26
3.4.1	Zeitpunkte der Untersuchung	26
3.4.2	Klinische Scores	27
3.5	Gewinnung und Verarbeitung der Blutproben	28
3.5.1	Zeitpunkte der Blutentnahme	28
3.5.2	Methode der Blutentnahme	29
3.5.3	Weiterverarbeitung zur längerfristigen Aufbewahrung	29
3.6	Durchführung der Enzyme Linked ImmunoSorbent Assays (ELISA)	29
3.7	Auswertung der ELISA Kits	30
3.8	Minimierung von Fehlerquellen	30
3.8.1	Untersuchung von ivIg auf Kontamination mit MMPs und TIMPs	30
3.8.2	Unterschiedliche Behandlung der Blutproben	30
3.9	Statistische Auswertung	31

4	Ergebnisse	32
4.1	ELISA.....	32
4.1.1	Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs bei s-IBM, PM, MMN und CIDP (Tabellen 4, 5 und Diagramm 1).....	32
4.1.2	Beschreibung möglicher Störfaktoren.....	38
4.1.2.1	IvIg	38
4.1.2.2	Behandlung der Blutproben	38
4.1.2.3	Zusätzliche Medikation	38
4.2	Klinische Untersuchung	45
4.2.1	Klinik anhand von MRC, NSS und Angelini bei s-IBM, PM, MMN und CIDP (Tabelle 8 und Diagramm 4).....	45
4.2.2	Beschreibung möglicher Störfaktoren.....	48
4.3	Serum-Creatinkinase (CK).....	54
4.3.1	Aktivität der Serum-CK bei s-IBM und PM (Tabelle 11)	54
4.3.2	Beschreibung möglicher Störfaktoren.....	54
5	Diskussion	56
5.1	Diskussion der Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs bei s-IBM, PM, MMN und CIDP.....	56
5.2	Diskussion der Klinik bei s-IBM, PM, MMN und CIDP.....	62
5.3	Vergleich der Ergebnisse von 5.1 und 5.2	63
5.4	Diskussion der Serum-CK-Aktivität im Vergleich zu MMP-/ TIMP-Serumkonzentrationen und Klinik bei s-IBM und PM	65
5.5	Diskussion von Störfaktoren und Fehlerquellen	68
5.5.1	Fallzahlen	68
5.5.2	Studienverlauf	68
5.5.3	Laborarbeit	68
5.5.4	IvIg	69
5.5.5	Klinische Scores.....	69
5.5.6	Auswirkungen einer zusätzlichen Medikation aus einem Statin oder Immunmodulator	70
6	Zusammenfassung.....	75
	Literaturverzeichnis.....	77
	Danksagung.....	83
	Lebenslauf.....	84
	Ehrenwörtliche Erklärung	85

1 Einleitung

Im Jahre 1890 entwickelte Emil von Behring ein Antiserum gegen das Diphtherietoxin. Ein Meilenstein in der Geschichte der Medizin, da erstmals die Therapie einer Krankheit mit Immunglobulinen möglich gemacht wurde.

Erst Mitte des 20. Jahrhunderts konnte die Entwicklung dieser Therapiemöglichkeit „Immunglobuline“ (Igs) Dank des großen technologischen Fortschritts weitergeführt und ausgedehnt werden [Emmi, 2002]. Ab den 1950er Jahren wurden Immunglobuline intramuskulär bei Patienten mit kongenitalen Antikörper-Mangel-Syndromen angewendet. Bald darauf wurden auch immunmodulatorische Eigenschaften der Igs entdeckt. Seit den 1980ern sind intravenös verabreichbare Immunglobuline auf dem Markt erhältlich. Diese intravenös verabreichbaren Immunglobulin-Zusammensetzungen stellen eine wichtige Möglichkeit der Therapie von Immunmangelkrankheiten, Allergien, Infektionen und autoimmun vermittelten Erkrankungen dar [Emmi, 2002] (vgl. 1.2).

Autoimmun vermittelte Erkrankungen selbst sowie deren Ansprechen auf eine Therapie mit Immunglobulinen werden bis heute nicht ausreichend verstanden und sind Gegenstand intensiver Forschung. Hinsichtlich der Pathogenese wird angenommen, dass sowohl die entzündlichen Myopathien (Polymyositis- PM, sporadische Einschlusskörpermyositis- S-IBM und Dermatomyositis- DM) als auch einige Polyneuropathien (chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyneuropathie- CIDP und multifokal motorische Neuropathie- MMN) zu den autoimmun vermittelten Erkrankungen zählen (vgl. 1.4, 1.5). Als Ursache für den Untergang von Muskelfasern und Nervenzellen beziehungsweise deren Myelinscheiden im Verlauf dieser Erkrankungen werden teilweise ähnliche Mechanismen angenommen wie bei der Streuung maligner Tumorzellen. Hierbei nehmen Matrixmetalloproteinasen (MMPs) als proteolytische Enzyme eine wichtige Rolle ein. Jedes Ungleichgewicht zwischen MMPs und deren Inhibitoren „Tissue Inhibitors of Matrixmetalloproteinasen“ (TIMPs) führt zu gesteigerter Proteolyse und damit beeinträchtigter Integrität von beispielsweise Muskelfasern oder Myelinscheiden von Nervenzellen [Emmi, 2002; Lambert, 2004; Carmeli, 2004].

In der vorliegenden Arbeit wird die Modulation der Serumkonzentrationen der Matrixmetalloproteinasen MMP-2 und -9 sowie ihrer natürlicher Inhibitoren TIMP-2 und -1 und der Verlauf der Klinik unter iv-Immunglobulintherapie bei Patienten mit MMN, CIDP, s-IBM und PM untersucht (vgl. Abschnitt 4). Nur bei den Patienten mit s-IBM und PM wird außerdem noch der Verlauf der Serumcreatininkinase betrachtet. Es stellt sich die Frage, ob die Modulation der Serumkonzentrationen von MMP-9 und -2 sowie von TIMP-1 und -2 einen sensitiven Parameter zur Prüfung der Wirksamkeit einer iv-Immunglobulintherapie bei den vier hier untersuchten Krankheitsbildern darstellt. Diesbezüglich werden Vergleiche der Modulation der MMP-/ TIMP-Serumkonzentrationen mit dem Verlauf der klinischen Symptomatik in allen vier Patientengruppen sowie nur bei Patienten mit s-IBM und PM auch mit dem Verlauf der Aktivität der Serumcreatininkinase vorgenommen (vgl. Abschnitt 5).

1.1 Charakterisierung der MMPs und TIMPs

1.1.1 Allgemeine Beschreibung der MMPs und TIMPs sowie der ECM

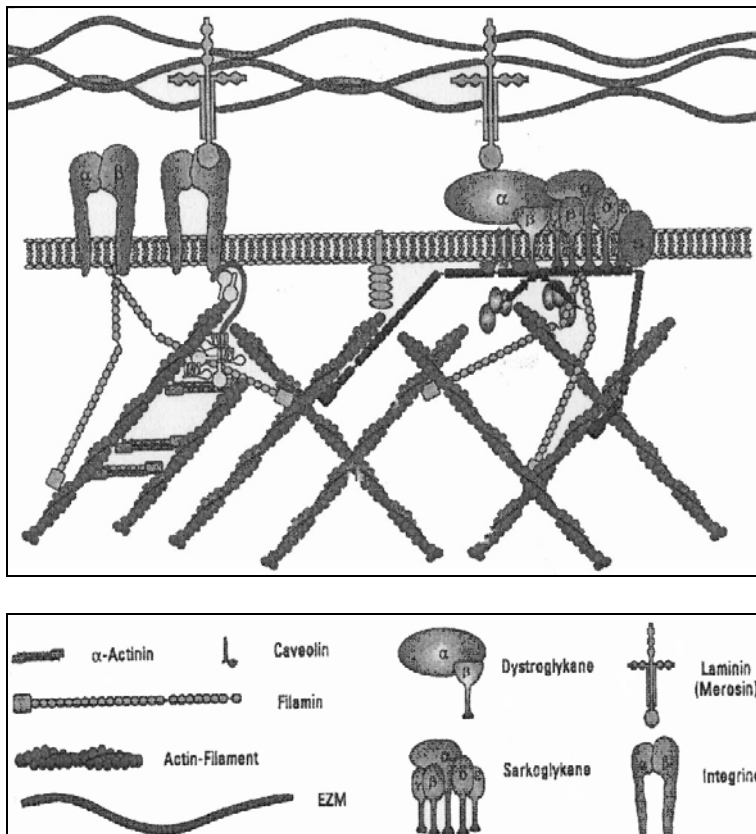
Im Folgenden soll sowohl die Familie der MMPs als auch die Familie der TIMPs jeweils als Gesamtgruppe beschrieben werden. Eine Differenzierung zwischen den einzelnen MMPs beziehungsweise TIMPs erfolgt nur, wenn interessante Unterschiede zwischen den einzelnen Mitgliedern der jeweiligen Familie bestehen. Dann werden aber lediglich MMP-2 und -9 beziehungsweise TIMP-1 und -2 besprochen, die eigentlicher Forschungsgegenstand dieser Studie sind.

Allgemeine Beschreibung der Extrazellulären Matrix (ECM)

Der Organismus wird durch die extrazelluläre Matrix (ECM) in verschiedene Gewebekompartimente unterteilt. Die ECM setzt sich aus der Basalmembran (Bild 2), der auf der einen Seite die basale Epithelzellschicht anliegt, und dem interstitiellen Stroma auf der anderen Seite der Basalmembran zusammen [Löffler, 1997]. Neben den vier Typen von Makromolekülen, nämlich Kollagenen, Elastin, Proteoglykanen und Strukturglykoproteinen, können in der ECM auch verschiedene Zellen nachgewiesen werden [Lambert, 2004; Löffler, 1997].

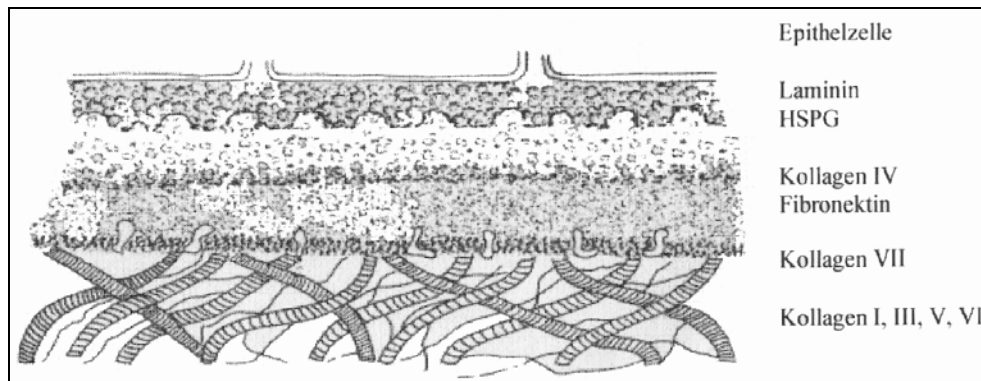
Die ECM der Skelettmuskulatur (Bild 1) beispielsweise enthält neben Muskelfasern noch Fibroblasten, Fibrozyten, Makrophagen, Endothel-, Nerven-, Fett-, Mast- und verschiedene Immunzellen [Carmeli, 2004].

Bild 1: Extrazelluläre Matrix der Skelettmuskulatur [Spuler, 2004]



Die Skelettmuskelfasern sind von Sarkolemm umschlossen. Das Sarkolemm enthält die äußere Basalmembran (Bild 2). Es ist undurchlässig gegenüber extrazellulärer Flüssigkeit und dient der Aufrechterhaltung des Elektrolytgleichgewichtes beziehungsweise der Homöostase der Muskelzellen. Nach Verletzung der Muskulatur oder exzessivem Training ist das Sarkolemm in besonderem Maße an den Reparaturmechanismen der Muskelfasern beteiligt. Die äußere Basalmembran (Basallamina) wird von den Muskelfasern selbst produziert. Sie besteht hauptsächlich aus Typ-IV Kollagenen, Laminin sowie Proteoglykanen und ist reich an Heparansulfat [Carmeli, 2004].

Bild 2: Basalmembran [Nerlich, 1995]



Normalerweise treten die Zellpopulationen dies- und jenseits der Basalmembran nicht miteinander in Wechselwirkung. Wird die begrenzende Basalmembran dennoch überwunden, gewinnt der Zellverband Anschluss an das Blut- und Lymphgefäßsystem des interstitiellen Stromas. Tumorzellen beispielsweise sezernieren proteolytische Enzyme zur Auflösung der Basalmembran, um sich dann über die Blut- und Lymphgefäße des interstitiellen Stromas weiter im Organismus ausbreiten zu können [Löffler, 1997].

Allgemeine Beschreibung der MMPs und TIMPs

Neben der Verbreitung von Tumorzellen existieren noch viele weitere pathologische, aber auch physiologische Prozesse, die mit dem Zusammenbruch und Wiederaufbau der extrazellulären Matrix einhergehen, wie zum Beispiel Entzündung, Wundheilung, Embryogenese, Ovulation und Schwangerschaft [Van den Steen, 2001; Hartung, 2000; Lambert, 2004; Carmeli, 2004; Birkedal-Hansen, 1995; Cawston, 1998; Fujimoto, 1994; Jung, 1996; Schoser, 1999; Kieseier, 1999; Kolb, 1998].

Die Abbauprozesse von Proteinen im Organismus und damit auch der ECM werden von vielen verschiedenen proteolytischen Enzymen (= Proteasen) katalysiert. Man unterscheidet Exo- und Endopeptidasen (-proteasen) sowie extra- und intrazelluläre Proteasen. Matrixmetalloproteinasen (MMPs)- extrazelluläre Endopeptidasen- sind die wichtigste Gruppe Matrix-abbauender Enzyme [Hartung, 2000; Löffler, 1997; Carmeli, 2004]. Es handelt sich um eine stetig wachsende Großfamilie aus über 20 Enzymen [Seiki, 2002] mit unterschiedlicher Substratspezifität. Typ-IV Kollagen wird zum Beispiel nur von MMP-2 und -9 hydrolysiert [Löffler, 1997]. Nach dieser Substratspezifität sowie der jeweiligen chemischen Struktur und somit der genetischen Herkunft werden die Enzyme sechs verschiedenen MMP-Gruppen zugeordnet, den Kollagenasen, Stromelysinen, Metalloelastasen, Gelatinasen, Matrilysininen und MT(membrane type)-MMPs [Birkedal-

Hansen, 1995; Cawston, 1998; Fujimoto, 1994; Jung, 1996; Schoser, 1999; Kieseier, 1999; Kolb, 1998].

MMPs werden von vielen verschiedenen Zellen, wie zum Beispiel Fibroblasten oder Makrophagen, produziert und mit Ausnahme der MT-MMPs, die an die Zelloberfläche gebunden bleiben [Takino, 1995], als inaktive Proenzyme in den Extrazellulärraum (ECR) sezerniert [Hartung, 2000]. Die Aktivierung dieser Proenzyme erfolgt wiederum über verschiedene Proteinase wie zum Beispiel Plasmin oder auch andere MMPs [Birkedal-Hansen, 1995; Cawston, 1998; Fujimoto, 1994; Jung, 1996; Löffler, 1997]. Eine Hemmung der MMPs wird unter anderem über eine 1:1-Komplexbildung mit den spezifischen Tissue Inhibitors of Matrixmetalloproteinases (TIMPs) erreicht.

Bisher konnten vier verschiedene TIMPs im menschlichen Organismus identifiziert werden. TIMPs sind in den meisten Geweben und Körperflüssigkeiten vorhanden und werden von einer großen Anzahl verschiedener Zelltypen exprimiert, wie zum Beispiel Fibroblasten, Epithel- und Endothelzellen, Osteoblasten, Chondrozyten, glatten Muskelzellen und vielen Tumorzellarten. Während TIMP-1, -2 und -4 in gelöster Form vorgefunden werden, ist TIMP-3 an die ECM gebunden. Alle TIMPs hemmen die proteolytische Aktivität der MMPs über eine Komplexbildung sowohl unspezifisch mit aktiven MMPs als auch spezifisch mit Pro-MMPs [Lambert, 2004].

Im Normalfall besteht ein fein reguliertes Gleichgewicht zwischen MMPs und TIMPs, beziehungsweise zwischen Matrixab- und -aufbau. Um dieses für den gesunden Organismus notwendige Gleichgewicht zu bewahren, existieren zahlreiche Regulationsmechanismen für MMPs und TIMPs (vgl. 1.1.3). Nur im Falle des Zusammenbruchs der verschiedenen Kontroll- und Regulationsmechanismen und damit des Gleichgewichts zwischen MMPs und TIMPs kommt es, wie bereits oben erwähnt, über einen unregulierten Zusammenbruch und Wiederaufbau der ECM zu verschiedenen pathologischen Prozessen [Van den Steen, 2001; Carmeli, 2004].

1.1.2 Kodierende Gene und chemische Struktur der MMPs und TIMPs

Kodierende Gene der MMP-2 und MMP-9

Das Gen für MMP-2 liegt auf dem langen Arm von Chromosom 16 (16q13) [Chen, 1991]. Es ist 17 kb lang und enthält 13 Exons mit einer Größe zwischen 110 und 901 bp und 12 Introns in einer Größenordnung zwischen 175 und 4350 bp [Huhtala, 1990].

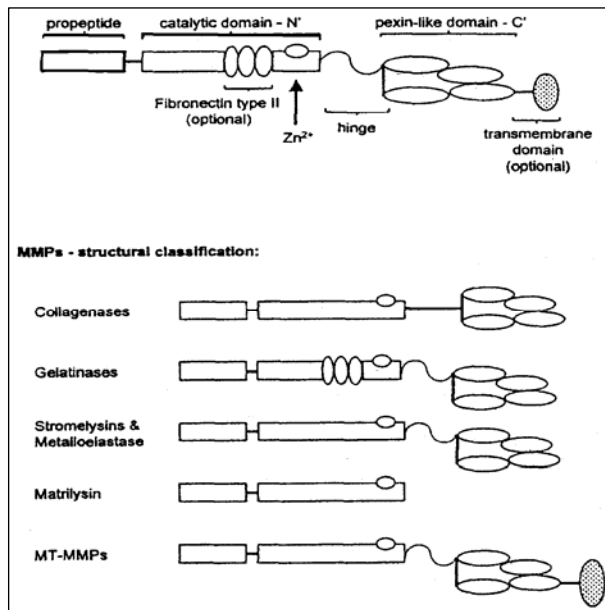
Das Gen für MMP-9 befindet sich auf dem langen Arm von Chromosom 20 (20q11.2-q13.1) [St Jean, 1995]. Es besteht ebenso wie das MMP-2-Gen aus 13 Exons und ähnlichen Introns [Huhtala, 1991].

Chemische Struktur der MMPs

Die verschiedenen MMPs besitzen eine sehr ähnliche chemische Grundstruktur [Hartung, 2000] mit einem Propeptid und einer katalytischen Domäne, die über ein Gelenk mit einer Hämopexin-ähnlichen (PEX) [Seiki, 2002], Kalzium-bindenden Domäne [Van den Steen, 2001] verbunden ist (Bild 3). Die katalytische Domäne setzt sich aus einer aktiven und einer Zink-bindenden Domäne zusammen [Van den Steen, 2001; Seiki, 2002; Hartung, 2000; Kolb, 1998]. Abweichungen von dieser charakteristischen Struktur deuten auf Unterschiede in der

Funktion der verschiedenen MMP-Typen hin. MT-MMPs beispielsweise weisen zusätzlich eine transmembranöse Komponente auf. Folglich beschränkt sich ihre Wirkung auf die Zellen, durch die sie produziert werden und an die sie über ihre transmembranöse Domäne gebunden sind. Die übrigen MMP-Typen, darunter die Gelatinasen, werden gewöhnlich frei in den ECR sezerniert und können an verschiedene Zellen binden [Seiki, 2002]. Eine strukturelle Besonderheit der Gelatinasen stellt die Fibronektindomäne dar, die zwischen Zink-bindender und aktiver Domäne gelegen ist. Hier können Kollagensubstrate, insbesondere Gelatine, gebunden werden [Van den Steen, 2001].

Bild 3: Chemische Struktur der MMPs [Hartung, 2000]



Das Propeptid und die katalytische Domäne sind für den Aktivitätsgrad der MMP verantwortlich. Die Funktion der PEX-Domäne hängt von dem jeweiligen MMP-Mitglied ab. Bei MMP-9 (Gelatinase B) beispielsweise spielt die PEX-Domäne eine Rolle bei der Interaktion mit ihrem spezifischen Inhibitor (TIMP-1) [Van den Steen, 2001], während bei MMP-2 (Gelatinase A) die PEX-Domäne selbst als spezifischer, natürlicher Inhibitor von MMP-2 identifiziert wurde [Brooks, 1998].

MMP-2 hat in seiner inaktiven Proform ein Molekulargewicht von 72 kD. Das Molekulargewicht von MMP-9 beträgt 92 kD [Chen, 1991].

Kodierende Gene der TIMP-1 und TIMP-2

Das Gen für TIMP-1 liegt auf dem kurzen Arm des X-Chromosoms (Xp11.23-11.4). Die mRNA hat eine Länge von 0,9 kb [Lambert, 2004].

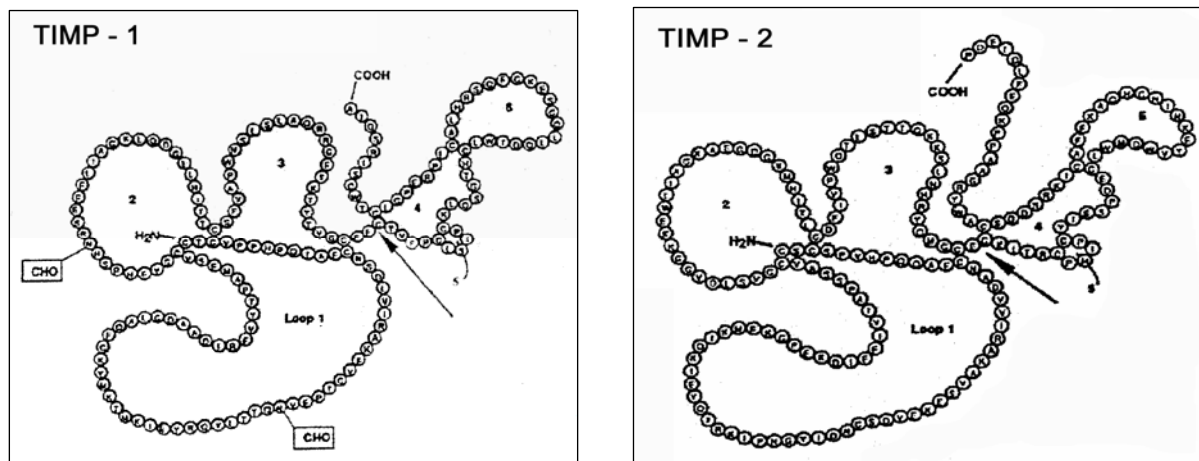
Das TIMP-2-Gen ist auf dem langen Arm von Chromosom 17 (17q23-q25) lokalisiert. Die mRNA besteht aus 3,5- 1,0 kb [Lambert, 2004].

Chemische Struktur der TIMPs

Die verschiedenen TIMPs besitzen eine ähnliche chemischen Struktur: jedes TIMP-Molekül besitzt sechs Disulfidbrücken aus 12 Cysteinresten, wodurch es in eine C- und eine N-terminale Domäne gefaltet wird. Während die C-terminale Domäne wahrscheinlich an der Komplexbildung mit dem jeweiligen Proenzym beteiligt ist, spielt die N-terminale Domäne eine entscheidende Rolle bei der Hemmung der MMPs [Lambert, 2004; Baker, 2002].

Bei genauerer Betrachtung umfassen das TIMP-1- und -2-Molekül jeweils einen fünfsträngigen β -Zylinder, eine C-terminale β -Struktur und eine im Zentrum gelegene helikale Region, die den Schnittpunkt der beiden Domänen bildet. Die Aminosäuresequenzen der N-terminalen Domänen von TIMP-1 und -2 stimmen zu 40% überein [Lambert, 2004].

Bild 4: TIMP-1- und TIMP-2-Molekül [Lambert, 2004]



Alle TIMPs haben ein Molekulargewicht zwischen 21 und 34 kD.

Das Molekulargewicht von TIMP-1, einem glykosylierten Protein, beispielsweise, variiert abhängig vom Glykosylierungsgrad zwischen 28,5 und 34 kD. Das Molekulargewicht von TIMP-2 beträgt 21 kD [Lambert, 2004].

1.1.3 Regulation der MMPs und TIMPs

Zum Schutz des Organismus existieren verschiedene Kontroll- und Regulationsmechanismen für MMPs und TIMPs. Sie greifen sowohl bei der Expression der Proteinasegene beziehungsweise Antiproteinasegene als auch bei der Sekretion und darauf folgenden Aktivierung der MMP-Proenzyme beziehungsweise Proteinaseinhibitoren ein [Hartung, 2000; Van den Steen, 2001; Lambert, 2004; Carmeli, 2004].

Regulation der MMPs

Die MMP-Expression kann auf der Stufe der Transkription direkt durch verschiedene Zytokine, wie zum Beispiel TNF- α , Interleukin-1, TGF- β und Prostaglandin E2, sowohl induziert [Carmeli, 2004; Hartung, 2000] als auch supprimiert werden. Darüber hinaus wird angenommen, dass Corticosteroide und Progesterone einen hemmenden Effekt auf die MMP-Transkription haben [Hartung, 2000].

Die Sekretion von inaktivem Pro-MMPs wird unter anderem durch proinflammatorische Chemokine reguliert. Die Freisetzung von Pro-MMP-9 aus neutrophilen Granulozyten beispielsweise, wird von Interleukin-8 induziert [Van den Steen, 2001; Kieseier, 1999]. Die freigesetzten Pro-MMPs werden über Enzymkaskaden durch Proteolyse in ihre aktive Form überführt. Folglich ist die Pro-MMP-Aktivierung abhängig vom Aktivitätsgrad der anderen an der Kaskade beteiligten proteolytischen Enzyme, wie zum Beispiel Serinproteasen (u-PA, t-PA und Plasmin) [Van den Steen, 2001; Schoser, 2002]. Die Aktivierung der Pro-MMPs erfolgt schließlich über die Abspaltung der aminoterminalen Domäne mit dem entscheidenden Cysteinrest. Dadurch wird die Cystein-Zink-Wechselwirkung zerstört, wodurch die Enzymkonformation eine Änderung erfährt und das aktive, Zink-bindende Zentrum der betreffenden MMP freigelegt wird. Das jeweils spezifische Substrat kann ab sofort gebunden werden [Van den Steen, 2001; Hartung, 2000; Carmeli, 2004]. Bei MMP-9 beispielsweise übernehmen MMP-3 oder MMP-2 diesen letzten Aktivierungsschritt. Die Überführung von MMP-2 wiederum in die aktive Form wird von MT-MMPs katalysiert [Van den Steen, 2001].

Die Kontrollfunktion über die schließlich aktivierten MMPs üben vor allem die verschiedenen, spezifischen Tissue Inhibitors of Matrixmetalloproteinases (TIMPs) aus [Hartung, 2000; Baker, 2002; Kolb, 1998]. Darüber hinaus zeigen auch andere Proteinaseinhibitoren, wie α 2-Makroglobulin [Hartung, 2000; Baker, 2002] und α 1-Antitrypsin, einen hemmenden Effekt auf aktive MMPs [Hartung, 2000].

Regulation der TIMPs

Das TIMP-1-Gen wird in myeloischen, erythrozytären und megaloblastischen, jedoch nicht lymphatischen Zelllinien exprimiert. Es existieren verschiedene Stimuli auf Stufe der Transkription, wie zum Beispiel die Wachstumsfaktoren beta-fibroblast growth factor (β -FGF), platelet derived growth factor (PDGF) und epidermal growth factor (EGF) sowie Phorbolster und Zytokine (IL-1, IL-6, IL-1 β), die die Expression von TIMP-1 in diesen Zelllinien induzieren.

Die basale Expression von TIMP-2 dagegen ist anlagebedingt [Lambert, 2004].

Interessanterweise stimulieren Phorbolster und Interleukine sowohl die TIMP-1- als auch MMP-Expression. TGF- β dagegen hemmt die MMP-Expression, aber fördert die TIMP-1-Expression. In Erythropoetin-abhängigen Zelllinien hat Erythropoetin (Epo) Einfluss sowohl auf die Expression als auch Sekretion von TIMP-1. Gleichzeitig wird die Produktion von Pro-MMP-9 durch Epo gedrosselt. Eine ähnliche Wirkung auf TIMP-1 und MMP-9 wurde für Retinoide und TGF- β 1 gezeigt. Folglich können MMPs, vor allem MMP-9, und TIMP-1 sowohl in die gleiche als auch entgegengesetzte Richtung reguliert werden [Lambert, 2004].

1.1.4 Funktion und Vorkommen der MMPs und TIMPs im Organismus

Funktion der MMPs im Organismus

MMP-2 und -9 spalten in der ECM spezifisch denaturierte Kollagene (Gelatine), Typ-IV Kollagene, Elastin und Fibronektin, weshalb sie neben „Typ-IV Kollagenasen“ auch als „Gelatinase A“ (MMP-2) beziehungsweise „Gelatinase-B“ (MMP-9) bezeichnet werden. Dabei stellt Typ-IV Kollagen die strukturelle Hauptkomponente von Basalmembranen der ECM dar [Carmeli, 2004; Schoser, 1999; Schoser, 2002; Kieseier, 1999]. Mit der Auflösung

der Proteinbestandteile der ECM [Carmeli, 2004] sind die MMPs maßgeblich an der Wanderung verschiedener Zelltypen beteiligt [Van den Steen, 2001; Kieseier, 1999]. Im Falle einer Entzündung beispielsweise, stellt die Einwanderung von neutrophilen Granulozyten in das entzündete Gewebe die schnelle Erstantwort des Immunsystems dar. Neutrophile speichern in ihren Granula Gelatinase B [Kieseier, 1999; Van den Steen, 2001]. Nach der Degranulierung spaltet Gelatinase B (MMP-9) ihre spezifischen Substrate. Die Zerstörung der Basalmembran von Blutgefäßen durch MMP-9 ermöglicht den Übertritt der Neutrophilen vom Blutsystem in das betroffene Gewebe. Monozyten verfügen nicht über einen MMP-Speicher, sondern müssen MMP-9 bei Bedarf de novo synthetisieren. Daher stellt die Migration von Monozyten in das entzündete Gewebe eine Spätantwort des Immunsystems auf einen entzündlichen Prozess dar [Van den Steen, 2001].

Aber auch andere Moleküle, die nicht Bestandteile der ECM sind, werden von MMPs gespalten.

MMP-9 katalysiert die Aktivierung verschiedener Zytokine, darunter Interleukin-1 β und Tumornekrosefaktor- α . Weitere Zielsubstrate der Gelatinase B sind bestimmte Chemokine, wie IL-8, das seinerseits wiederum die Freisetzung von MMP-9 aus Neutrophilengranula induziert (vgl. 1.1.3). Die Degradierung verschiedener Proteaseinhibitoren, wie zum Beispiel α 1-Antitrypsin, durch MMP-9 verschiebt das Gleichgewicht zwischen MMPs und TIMPs zugunsten der MMPs [Van den Steen, 2001].

MMP-2 überführt Pro-MMP-9 durch Proteolyse in ihre aktive Form (vgl. 1.1.3). Darüber hinaus werden ILGFBP-3 (insulin-like growth factor binding protein-3) und MCP-2 (monocyte chemotactic protein-2) von MMP-2 gebunden und prozessiert [Van den Steen, 2001].

Funktion der TIMPs im Organismus

Eine bedeutende Funktion der TIMPs, „Tissue Inhibitors of Matrixmetalloproteinases“, ist die Hemmung der MMPs [Lambert, 2004]. Alle vier TIMPs hemmen unspezifisch die aktiven Formen aller MMPs und bilden spezifisch Komplexe mit den jeweiligen MMP-Proformen. TIMP-1 beispielsweise, bildet nur mit Pro-MMP-9 einen Komplex, während TIMP-2 nur Pro-MMP-2 bindet [Lambert, 2004; Kolb, 1998]. Über diese Komplexbildung wirken TIMPs unter anderem der MMP-vermittelten Lyse der ECM entgegen.

Über die Aufrechterhaltung der ECM, die unter anderem aktiv an der Proliferation und Differenzierung der hämatopoetischen Stammzellen teilnimmt, wirken TIMPs beispielsweise entscheidend an der Proliferation und Differenzierung der erythrozytären Zelllinie mit [Baker, 2002; Lambert, 2004].

Einen Teil ihrer Wirkungen entfalten die TIMPs möglicherweise über die Induktion intrazellulärer Signalketten, indem sie an vermeintlich spezifische TIMP-Rezeptoren binden [Baker, 2002]. Das Wachstum sowohl normaler als auch pathologischer Zellen wird durch TIMPs beeinflusst. Sowohl für TIMP-1 als auch TIMP-2 wurde eine zellwachstumsfördernde Aktivität beschrieben. Dabei soll TIMP-1 wachstumsstimulierend auf unter anderem Keratinozyten oder Endothelzellen einerseits sowie Mammakarzinomzellen und Osteosarkomzellen andererseits wirken [Baker, 2002; Lambert, 2004]. Verschiedene Studienergebnisse weisen darauf hin, dass diese wachstumssteigernden Eigenschaften von TIMP-1 und -2 in keinerlei Zusammenhang mit ihrer Fähigkeit der MMP-Hemmung stehen [Baker, 2002; Hayakawa, 1994; Chesler, 1995; Wingfield, 1999; Lambert, 2004]. Neben diesem wachstumsfördernden wird jedoch auch ein proliferationshemmender Effekt von TIMP-1 und -2 auf Endothelzellen sowie verschiedene Karzinomzellen beschrieben [Lambert,

2004; Guedez, 2001; Bello, 2001]. Dieser antiproliferative Effekt der TIMPs könnte beispielsweise in der Hemmung einer überschießenden Gefäßneubildung zur adäquaten Durchblutung eines wachsenden Karzinoms durch das Binden an MMPs liegen [Baker, 2002; Lambert, 2004].

Obwohl bei einem in vivo Modell mit kolorektalen Karzinomzellen ein Apoptose-fördernder Effekt von TIMP-2 festgestellt werden konnte [Brand, 2000; Baker, 2002], sollen TIMP-1 und -2 jedoch auch zahlreiche Zelltypen vor Apoptose schützen. Hierbei soll die Hemmung der MMPs teilweise durchaus eine Rolle spielen [Lambert, 2004].

Eine Überproduktion von TIMPs verschiebt das MMP/ TIMP-Gleichgewicht zugunsten der TIMPs und könnte an der Entwicklung verschiedener Bindegewebserkrankungen beteiligt sein [Baker, 2002].

Vorkommen der MMPs und TIMPs

Muskulatur und MMPs/ TIMPs

MMPs und TIMPs sind an einer Reihe von Prozessen in der Skelettmuskulatur beteiligt, die Entwicklung, Wachstum, Funktion, Krankheit und Regeneration nach Trauma betreffen. Dabei ist zu beachten, dass Skelettmuskelfasern postmitotisch und daher nur begrenzt zur Regeneration befähigt sind [Carmeli, 2004]. Für Entwicklung sowie Regenerationsfähigkeit des Muskels sind die Umgestaltung der ECM und die Muskelfasermigration Grundvoraussetzungen [Carmeli, 2004]. Die MMP-Expression ist essentiell für die Myoblastenmigration [El Fahime, 2000]. Sowohl MMP-2 als auch MMP-9 sind an den Migrationsprozessen der Muskelfasern beteiligt [Carmeli, 2004]. Lewis et al. beispielsweise konnten die Migration von Muskelzellen des menschlichen Musculus massetericus mit einem spezifischen anti-MMP-9-Antikörper unterbinden [Lewis, 2000]. Die Zusammensetzung und Integrität der ECM der Skelettmuskulatur wird hauptsächlich durch MMP-2 reguliert [Carmeli, 2004].

In normaler Muskulatur befinden sich MMP-2 und -9 an den neuromuskulären Endplatten, in Blutgefäßen und Nervenästen [Carmeli, 2004]. Darüber hinaus konnten verschiedene Studiengruppen zeigen, dass Satellitenzellen des menschlichen Bizepsmuskels MMP-2 anlagebedingt synthetisieren und sezernieren [Guerin, 1995; Schoser, 2002]. Da eine gesteigerte Aktivierung von MMP-2 gleichzeitig mit der Regeneration von Muskelfasern festgestellt werden konnte [Kherif, 1999], wirken die Satellitenzellen über die Sekretion von MMP-2 entscheidend an der Reparatur verletzter oder entzündeter Muskulatur mit [Choi, 2002; Carmeli, 2004].

Während einer Ischämie beispielsweise und der darauf folgenden Reperfusion und damit Regeneration der Skelettmuskulatur konnte eine signifikant gesteigerte Expression von MMP-2 und -9 in der betroffenen Muskulatur gefunden werden [Roach, 2002; Carmeli, 2004]. Die gesteigerte Expression dieser beiden MMPs während einer Ischämie und Reperfusion führt zu einem drastischen Umbau der Muskelfaser-Basallaminae [Roach, 2002; Carmeli, 2004]. Über die Proteolyse der Basallaminae von Endothelzellen ermöglichen MMPs die zur Regeneration der ischämischen Muskulatur notwendige Angiogenese [Carmeli, 2004].

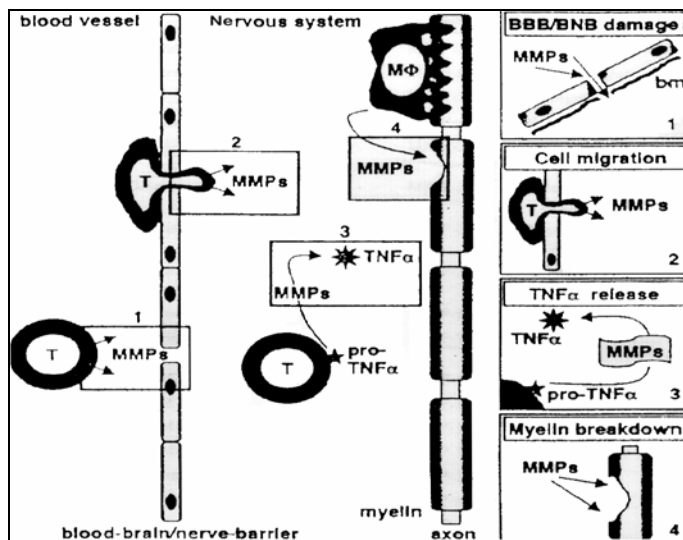
Wie bereits erwähnt, sind MMPs jedoch keineswegs nur in Entwicklungs- oder Regenerationsprozesse der Muskulatur involviert. Während einer Immobilisierung beispielsweise, sind MMPs maßgeblich an der Atrophisierung der Skelettmuskulatur beteiligt [Guerin, 1995; Schoser, 2002]. Schwere Schädigungen der Skelettmuskulatur, wie zum Beispiel bei einer Rhabdomyolyse oder Myositis, gehen ebenfalls mit erhöhten Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs einher [Guerin, 1995; Schoser, 2002].

Verschiedene Studiengruppen konnten feststellen, dass MMPs sogar in fundamentale Schritte der Immunpathogenese entzündlicher Myopathien verwickelt sind [Choi, 2000; Carmeli, 2004; Kieseier, 2001; Schoser, 2002]. Wiederum über die Zerstörung der Basalmembranen von Gefäßen ermöglichen die MMPs verschiedenen Entzündungszellen den Weg aus dem Blut in die Muskulatur [Kieseier, 2001], erleichtern die Adhäsion von Lymphozyten an die betroffenen Muskelfasern und unterstützen die T-Zell-vermittelte Zytotoxizität [Choi, 2000]. Die MMP-9-Expression ist in atrophischen Muskelfasern bei allen inflammatorischen Myopathien stark erhöht [Schoser, 2002]. Dabei ist die mRNA-Expression von MMP-9 bei s-IBM zwar signifikant erhöht, aber noch weniger stark ausgeprägt als bei PM [Kieseier, 2001]. Choi und Dalakas konnten in nicht-nekrotischen, MHC-I exprimierenden Muskelfasern bei PM- und s-IBM-Patienten neben MMP-9 auch MMP-2 finden. Wahrscheinlich wird MMP-9, nicht jedoch MMP-2, von aktivierten, zytotoxischen CD8+-T-Zellen, die die betroffenen Muskelfasern umzingeln und durchsetzen, produziert [Choi, 2000]. Speziell bei s-IBM konnte in vitro gezeigt werden, dass die Expression von MMPs durch Amyloid induziert wird. Umgekehrt erscheint aber durchaus auch eine Beteiligung der MMP-2, die gemeinsam mit Amyloid in den „rimmed vacuoles“ gefunden wurde, an der Amyloidbildung bei s-IBM möglich [Choi, 2000].

Nervensystem und MMPs/ TIMPs

MMPs und TIMPs sind nicht nur an der Regeneration der Muskulatur, sondern auch des Nervensystems beteiligt [Hartung, 2000].

Darüber hinaus spielen MMPs eine wichtige Rolle in der Pathogenese entzündlich demyelinisierender Erkrankungen des zentralen (CNS) und peripheren (PNS) Nervensystems. Kernpunkte in der Pathogenese dieser Erkrankungen sind die Demyelinisierung von Nerven, der Untergang der Blut-Hirn- beziehungsweise Blut-Nerven-Schranke und die Einwanderung mononukleärer Zellen [Kieseier, 1999; Hartung, 2000]. Mononukleäre Zellen vermitteln Entzündungsreaktionen über verschiedene Mediatoren wie Zytokine, Chemokine, Eikosanoide und Sauerstoffradikale [Hartung, 2000]. Am Untergang der Blut-Hirn- beziehungsweise Blut-Nerven-Schranke sowie an der darauf folgenden Migration von Leukozyten aus dem Blut in das CNS beziehungsweise PNS sind maßgeblich die MMPs beteiligt [Kieseier, 1999; Hartung, 2000]. Sie bewirken außerdem die Freisetzung des proinflammatorischen Zytokins TNF α . Darüber hinaus verfügen MMPs über die Fähigkeit P0, eine Proteinkomponente des peripheren Myelins, zu spalten. Es ist jedoch fraglich, ob die Spaltung von P0 eine Bedeutung bei der Zerstörung der Myelinscheiden hat [Hartung, 2000; Kolb, 1998].

Bild 5: MMPs und Blut-Hirn- beziehungsweise Blut-Nerven-Schranke [Kieseier, 1999]

Die bakterielle und virale Meningitis stellen ein Beispiel dar für die Auswirkungen des MMP-vermittelten Untergangs der Blut-Hirn-Schranke über eine Degradierung der ECM und der Basalmembran von Endothelzellen. Die Schädigung der Blut-Hirn-Schranke im Rahmen dieser Erkrankungen führt typischerweise zur Entwicklung eines vasogenen Hirnödems mit einer darauf folgenden Erhöhung des intrakraniellen Drucks sowie der Infiltration von Leukozyten in den Subarachnoidalraum [Kolb, 1998; Kieseier, 1999]. Kolb et al. konnten im Liquor von Patienten mit viraler Meningitis statistisch signifikant erhöhte Konzentrationen von MMP-9 und TIMP-1 messen [Kolb, 1998]. Auch bei Patienten mit bakterieller Meningitis konnten erhöhte MMP-9-Konzentrationen im Liquor nachgewiesen werden [Paul, 1998; Kieseier, 1999]. In Tierversuchen zeigte sich sowohl eine erhöhte proteolytische Aktivität von MMP-9 als auch eine erhöhte mRNA-Expression von MMP-9. Die mRNA-Expression von MMP-2 hingegen blieb unverändert [Kieseier, 1999].

Als Beispiel für die Beteiligung der MMPs an der Pathogenese entzündlich demyelinisierender Erkrankungen des PNS soll die experimentell autoimmune neuritis (EAN) angeführt werden. Die EAN ist eine im Tierexperiment künstlich erzeugte akut inflammatorisch demyelinisierende Erkrankung des PNS, die in ihren Merkmalen dem Guillain-Barré-Syndrom (GBS) des Menschen entspricht. In Nervenbiopsien findet man während der Anlaufphase dieser Erkrankung verschiedene erhöhte MMPs, darunter MMP-9. Gemessene Spitzenwerte der MMPs fallen mit dem Krankheitshöhepunkt zusammen. Der Breit-Spektrum MMP-Inhibitor BB-1101 kann die Schwere des Krankheitsverlaufs in EAN mildern. Analog sind beim GBS in Biopsien des Nervus suralis unter anderem sowohl eine erhöhte proteolytische Aktivität von MMP-9 als auch eine erhöhte mRNA-Expression von MMP-9 nachweisbar. Eine Therapie mit Interferon β oder Steroiden führt über die Hemmung der Produktion von MMP-9 in T-Lymphozyten zu einem Rückgang der MMP-9-Spiegel in den Nervenbiopsien von GBS-Patienten. Die Schwere des Krankheitsverlaufs kann so gemildert werden [Kieseier, 1999].

Auch bei der CIDP, einer, im Unterschied zur EAN/ GBS, chronisch demyelinisierenden Erkrankung des PNS, finden sich MMPs. Im Gegensatz zu EAN/ GBS allerdings, sind bei der CIDP ausschließlich MMP-9 und -2 vertreten. Die bei der CIDP vorkommende MMP-9 stammt fast vollständig aus mononukleären Zellen. Die im Rahmen der CIDP von Endothel- und Stromazellen sezernierte MMP-2 weist nur geringfügig erhöhte Konzentrationen auf. Corticosteroide führen auch bei der CIDP ähnlich wie beim GBS zur klinischen Besserung [Leppert, 1999].

1.2 Charakterisierung von ivlg

1.2.1 Allgemeine Beschreibung von ivlg

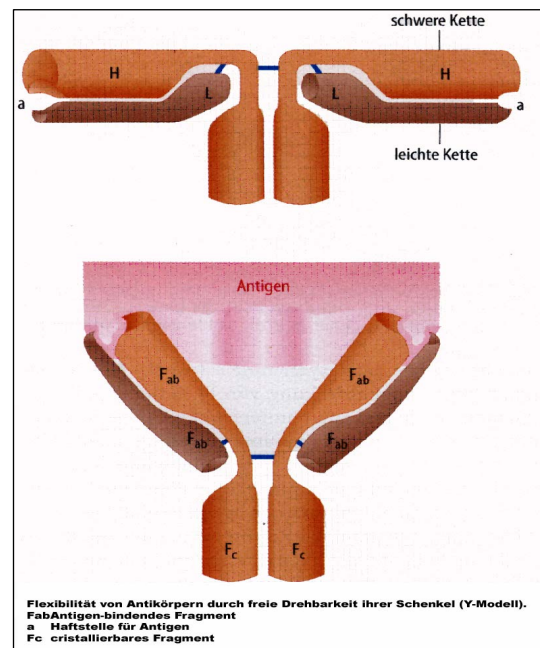
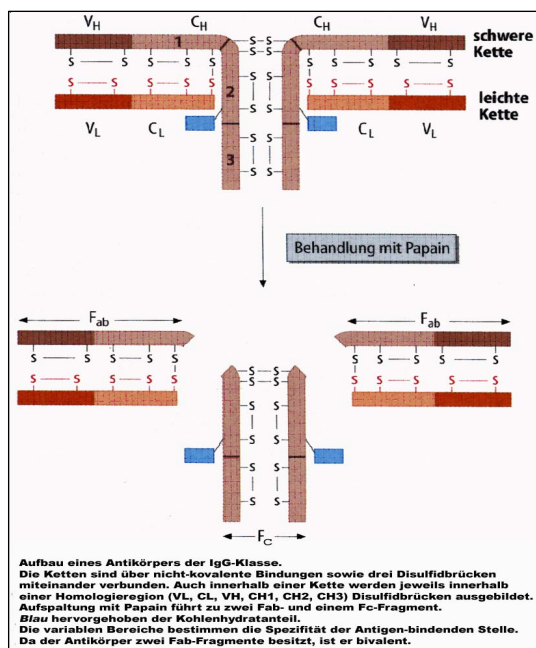
Intravenöse Immunglobuline sind weltweit gängige therapeutisch verabreichte Plasmakomponenten [Knezevic-Maramica, 2003]. IvIg (vor allem IgG [Sewell, 1999]) wird aus menschlichem Plasma von Tausenden von Spendern hergestellt [Sewell, 1999; Lemm, 2002].

Neben den IgGs enthalten ivIg-Produkte, abhängig vom Hersteller, unterschiedliche Mengen an variablen Zuckermolekülen und Natrium [Lemm, 2002], an löslichen CD4-, CD8- und HLA-Molekülen, bestimmten Zytokinen [Mackay, 2001] sowie Spuren von IgA [Lemm, 2002] und niedrige Titer verschiedener anderer Antikörper [Wiles, 2002; Mackay, 2001], zum Beispiel Blutgruppen-Antikörper oder Antikörper gegen Infektionserreger [Lemm, 2002]. Vor allem Zucker, Natrium und höher konzentrierte Immunglobuline erhöhen die Osmolalität der Lösung. Eine erhöhte Osmolalität, aber auch die Infusionsgeschwindigkeit der Lösung können schwere Nebenwirkungen auslösen, wie zum Beispiel Nierenversagen und thrombembolische Ereignisse. Die Verabreichung unterschiedlich osmolaler Lösungen muss daher mit Rücksicht auf Vorerkrankungen und Risikofaktoren des Patienten vorgenommen werden [Lemm, 2002]. Außerdem setzt die intravenöse Gabe von ivIg verschiedene Modifizierungsschritte der Igs voraus, wodurch beispielsweise enthaltene Unreinheiten [Lemm, 2002], die bei intravenöser Gabe unter anderem anaphylaktische Reaktionen auslösen könnten, entfernt werden [Lemm, 2002; Van Schaik, 2002].

IvIg ist in flüssiger Form und als Lyophilisat erhältlich [Lemm, 2002].

Entscheidend für die immunmodulatorischen Eigenschaften der Igs sind sowohl der Fc-Teil von IgG als auch die Vielfalt an variablen Regionen, die in ivIg-Präparaten enthalten sind [Mouthon, 1996; Kaveri, 1996]. Das IgG-Molekül hat eine Y-förmige Gestalt und besteht aus jeweils zwei schweren und zwei leichten Ketten beziehungsweise aus einem Fc-Fragment (= leicht *cr*istallisierbar) und zwei Fab-Fragmenten (= *antigen*bindende Fragmente). Das Fab-Fragment bindet an seinem Ende das Antigen. Das Fc-Fragment bestimmt Klasse (IgG, IgA etc.), Halbwertszeit, Fähigkeit zur Plazentapassage und Komplementfixierung, also die Aktivierung verschiedener Abwehrmechanismen [Löffler, 1997].

Bild 6: Antikörperstruktur [Löffler, 1997]



1.2.2 Indikationen für ivIg

IvIg sind Therapie der Wahl bei primären und sekundären Antikörpermangel-Syndromen. Bei Empfängern allogener Knochenmarkstransplantate vermindern ivIg das Auftreten und die Schwere von Graft-versus-Host-Reaktionen.

Auch bei der Vorbeugung von Infektionskrankheiten werden ivIg eingesetzt.

Darüber hinaus wurden positive Auswirkungen von ivIg auf den Krankheitsverlauf autoimmuner [Yu, 1999; Kaveri, 1996] und systemisch inflammatorischer Krankheiten beobachtet [Kaveri, 1996], wie zum Beispiel beim Guillain-Barré-Syndrom, bei der Myasthenia gravis sowie bei der CIDP, der MMN oder den inflammatorischen Myopathien. Für GBS, akute Myasthenia gravis, CIDP und MMN wurde die Effizienz von ivIg sogar bewiesen [Dalakas, 2004].

Sogar das Wachstum maligner Tumore und deren metastatische Ausbreitung scheint durch ivIg eingedämmt zu werden [Shapiro, 2002; Merimsky, 2002; Fishman, 2002].

1.2.3 Wirkungsmechanismen von ivIg

Die Wirkungsweisen von ivIg sind noch nicht vollständig aufgeklärt [Knezevic-Maramica, 2003; Sewell, 2002; Simon, 2003]. Verschiedene Wirkungsmechanismen der einzelnen Bestandteile von ivIg sind wahrscheinlich, wie zum Beispiel die Erleichterung der Opsonisierung, die Neutralisierung von Toxinen, das Binden an Fc-Rezeptoren, die Beeinflussung der Zytokinsynthese [Sewell, 1999; Teeling, 1998; Nobile-Orazio, 2001] sowie die Hemmung der Expression und Sekretion von Matrixmetalloproteinasen [Shapiro, 2002; Ronda, 1999; Darville, 1997; Mouthon, 1996; Vassilev, 1999].

Yu et al. halten den beschleunigten Katabolismus von IgG für den entscheidenden Wirkungsmechanismus hoch dosierter ivIg in der Therapie autoimmun-vermittelter Krankheiten. Normalerweise werden IgGs, die aus dem Plasma von Zellen aufgenommen werden, durch das Binden an bestimmte Rezeptoren vor ihrem Abbau bewahrt. Nach Verabreichung hoch dosierter Igs liegen hohe Plasmakonzentrationen von IgGs vor. Die Rezeptoren sind daher vollständig gesättigt und überschüssige IgGs, darunter körpereigene pathogene IgGs, werden vermehrt katabolisiert und eliminiert [Yu, 1999; Wiles, 2002]. Folglich werden die Spiegel körpereigener, pathogener Autoantikörper gesenkt [Wiles, 2002; Van Schaik, 2002; Ropper, 2003].

Zirkulierende pathogene Autoantikörper werden darüber hinaus von in ivIg enthaltenen anti-idiotypischen Antikörpern neutralisiert [Mouthon, 1996].

Nach Kaveri et al. beruhen die immunmodulatorischen Eigenschaften von ivIg zu einem großen Teil auf ihrer Fähigkeit, mit Oberflächenmolekülen von Lymphozyten zu interagieren [Kaveri, 1996]. Die Proliferation verschiedenster T-Zell- aber auch nicht-T-Zell-Linien auf bestimmte Stimuli hin wird durch ivIg gehemmt [Kaveri, 1996]. Insgesamt lässt sich sagen, dass ivIg Differenzierung, Aktivierung und Funktion von T- aber auch B-Zellen beeinflussen [Mackay, 2001]. Zum Beispiel konnten in ivIg IgG-Antikörper gegen eine Peptid-Region der HLA Klasse-I Moleküle nachgewiesen werden. Diese Peptid-Region ist wahrscheinlich an den Wechselwirkungen zwischen Klasse-I Molekülen und T-Zell-Rezeptoren beteiligt. Es konnte demonstriert werden, dass die Antikörper gegen diese Peptid-Region spezifisch die HLA Klasse-I abhängige zytotoxische Wirkung menschlicher CD8+-Zellen auf ein Peptid des Influenzavirus hemmen [Kaveri, 1996].

Darüber hinaus konnten Anti-Fas-Antikörper in vitro als Bestandteile von ivIg nachgewiesen werden. Das Fas-Molekül vermittelt die Apoptose verschiedener Zellen. Folglich können ivIg über Anti-Fas-Antikörper die Apoptose-Signalkette blockieren [Wiles, 2002]. Auf der

anderen Seite konnte herausgefunden werden, dass ivIg die Apoptose von Tumorzellen vermitteln und damit antiproliferativ auf Tumorzellen wirken [Merimsky, 2002]. Des Weiteren konnte *in vitro* gezeigt werden, dass ivIg Komplementfaktoren deaktivieren [Wiles, 2002] und damit den Komplement-vermittelten Gewebeuntergang eindämmen können [Mackay, 2001; Ropper, 2003].

IvIg blockieren Fc-Rezeptoren verschiedener Zelltypen, zum Beispiel mononukleärer Phagozyten und können so die Fc-vermittelte Zerstörung Antikörper-sensibilisierter Zellen verhindern [Teeling, 1998; Van Schaik, 2002]. Möglicherweise ist unter anderem der protektive Effekt von ivIg hinsichtlich der Demyelinisierung bei inflammatorischen neurologischen Erkrankungen auf diesen Mechanismus zurückzuführen [Mackay, 2001].

Auf welche Art und Weise ivIg die Synthese und Freisetzung von Zytokinen beeinflussen, ist nicht abschließend geklärt. Die Studiengruppe von Darville et al. beobachtete eine Unterdrückung des MMP-9-Induktionsfaktors TNF- α durch ivIg [Darville, 1997]. Im Gegensatz dazu konnten Sewell et al. *in vivo* zeigen, dass ivIg Lymphozyten zur Synthese von TNF- α und IL-2 stimulieren. Das Vorhandensein signifikanter Mengen von TGF- β 1 und TGF- β 2 in einigen ivIg-Präparaten zeigt, dass sogar die Präparate selbst Zytokine enthalten können, die wiederum die Synthese anderer Zytokine steuern. Die allgemeine Auffassung, dass ivIg ausschließlich anti-entzündlich wirken, könnte durch diese Resultate ins Wanken geraten [Sewell, 1999]. Andererseits zeigte eine *in vitro* Studie, dass IgG über die bereits erwähnte Bindung an Fc-Rezeptoren die Freisetzung des Zytokins IL-1 aus Makrophagen verhindern kann. In Einklang mit diesem Ergebnis steht die klinische Beobachtung, dass nach Behandlung der Kawasaki-Krankheit mit ivIg die Plasmakonzentrationen von IL-1 abfallen, was vermutlich den Rückgang der Vaskulitiden bewirkt [Mackay, 2001; Wiles, 2002].

Besonders bedeutsam für die vorliegende Arbeit ist, dass verschiedene ivIg-Präparate dosisabhängig signifikant die mRNA-Expression und Sekretion von MMP-9 hemmen sollen. Die Gelatinasen MMP-2 und -9 werden unter anderem von Monozyten beziehungsweise Makrophagen sezerniert. Eine gesteigerte Aktivität dieser Monozyten in Autoimmunkrankheiten oder malignen Tumoren führt zu einer vermehrten Sekretion von MMP-9. Die Hemmung dieser Sekretion hätte positive Auswirkungen auf Tumorwachstum und den Verlauf von Autoimmunkrankheiten.

Die Hemmung der anlagebedingten MMP-9-Sekretion menschlicher Endothelzellen wird vermutlich über eine Bindung von Anti-Endothelzell-AK an die Endothelzellen vermittelt, die ebenfalls in ivIg-Präparaten vorhanden sind [Shapiro, 2002].

Insgesamt sollte berücksichtigt werden, dass sogar Zuckermoleküle, wie Maltose und Saccharose, die in ivIg als Stabilisatoren wirken, immunmodulatorische Eigenschaften besitzen [Sewell, 1999].

Tabelle 1: Wirkungsmechanismen von ivIg

Wirkungsmechanismus	Beispiel
Hemmung der Expression und Sekretion von MMPs	- Hemmung der mRNA-Expression und Sekretion von MMP-9 aus Monozyten - Hemmung der MMP-9-Sekretion aus Endothelzellen
Beschleunigter Katabolismus von IgG; Neutralisation pathogener Autoantikörper	
Binden an Fc-Rezeptoren	Blockade von Fc-Rezeptoren mononukleärer Phagozyten → Verhinderung der Fc-vermittelten Zerstörung Antikörper-sensibilisierter Zellen
Auswirkungen auf Apoptose-Signalketten	- Blockade der Apoptose-Signalkette bei verschiedenen Zellen durch Anti-Fas-Antikörper - Förderung der Apoptose von Tumorzellen
Deaktivierung von Komplementfaktoren	Verhinderung des Komplement-vermittelten Gewebeuntergangs
Beeinflussung der Synthese und Freisetzung von Zytokinen	TNF- α , IL-1, IL-2, MMPs
Beeinflussung der Differenzierung, Aktivierung und Funktion von T- und B-Zellen	Proliferationshemmung verschiedener T-Zelllinien; Modifikation der Wirkungsweisen
Erleichterung der Opsonisierung	
Neutralisierung von Toxinen	

1.3 Charakterisierung der Creatinkinase (CK)

1.3.1 Allgemeine Beschreibung der CK

Die im humanen Serum messbare CK-Gesamtaktivität setzt sich überwiegend aus den Einzelaktivitäten drei zytoplasmatischer CK-Isoenzyme zusammen. Diese Isoenzyme CK-MM, CK-MB und CK-BB stellen Dimere dar, die sich aus den Untereinheiten M (M= muscle) und B (B=brain) zusammensetzen [Stein, 1998]. Daneben existieren zwei mitochondriale CK-Isoenzyme [Payne, 1994]. Die CK-Aktivität im Serum Gesunder besteht überwiegend aus dem Isoenzym CK-MM. Die anderen CK-Isoenzyme sind beim Gesunden nur in Spuren oder gar nicht nachweisbar [Stein, 1998].

Aufgrund der Organverteilung wird die CK-MM als Muskeltyp, die CK-MB als Myokardtyp, die CK-BB als Gehirntyp und die CK-MiMi als Mitochondrientyp bezeichnet. Bei der Schädigung eines Organs tritt die jeweilige CK in den Blutkreislauf über. Daher erlauben bei einer erhöhten CK-Aktivität die im Blut gemessenen Isoenzymmuster Rückschlüsse auf die zugrunde liegende Organschädigung [Stein, 1998]. Trotzdem sollten nicht zu hohe Organspezifitäten von den zytoplasmatischen Isoenzymen erwartet werden [Stein, 1998]. Erhöhungen der CK-Aktivität treten vor allem bei Herzmuskel- oder Skelettmuskelschäden auf. Dabei werden akute und chronische Skelettmuskelschäden unterschieden. Die CK-Aktivität bei chronischer Polymyositis beispielsweise ist wesentlich geringer als bei akut verlaufender [Stein, 1998]. Erhöhte CK-Aktivitäten finden sich aber auch bei der Schädigung anderer Gewebe, bei malignen Tumoren oder während der Schwangerschaft [Stein, 1986]. Folglich können erhöhte CK-Aktivitäten auch physiologische Ursachen haben. Innerhalb des Referenzbereichs liegende CK-Aktivitäten jedoch können keinesfalls eine Muskelerkrankung sicher ausschließen [Stein, 1998].

1.3.2 Kodierende Gene und chemische Struktur der CK

Die humane Creatinkinase wird durch verschiedene Gene kodiert. Die Genprodukte werden CK-M, CK-B und CK-Mi genannt. Der Genort der B-Untereinheit liegt auf dem Chromosom 14, der der M-Untereinheit auf dem langen Arm von Chromosom 19 [Stallings, 1988].

Hybridisierungen zwischen den M- und B-Untereinheiten führen zu den drei dimeren zytoplasmatischen Isoenzymen CK-MM, CK-BB, CK-MB (vgl. 1.3.1). Hybridisierungen mit der Mi-Untereinheit (mitochondriale CK) konnten bisher nicht gefunden werden [Payne, 1994].

Die CK-Monomere sind aus ungefähr je 360 Aminosäuren aufgebaut und enthalten SH-Gruppen. Das Molekulargewicht eines Monomers beträgt ungefähr 40 kD [Stallings, 1988; Stein, 1998].

1.3.3 Funktion und Pathophysiologie der CK

Die CK spielt eine wichtige Rolle bei der Energieversorgung der Muskulatur, des Zentralnervensystems und vieler proliferierender Gewebe. Adenosintriphosphat (ATP) stellt eine unmittelbare Energiequelle für Muskulatur, Zentralnervensystem und viele proliferierende Gewebe dar. Bei der Energieversorgung des Muskels katalysiert die mitochondriale CK in den Mitochondrien der Muskelfasern, dem Ort der Energieproduktion, die Synthese von Creatinphosphat (CrP) aus ATP. Das energiereiche CrP wird im „CrP-Shuttle“ aus den Mitochondrien in das Zytoplasma der Muskelfasern transportiert. Dort wird das CrP durch die CK wieder in ATP umgewandelt, das nun als Energiequelle für Kontraktionen, Synthesen und Ionenkanäle an den Membranen der Muskelfasern bereitsteht [Stein, 1998].

1.4 Myositiden (s-IBM, PM, DM)

Entzündliche Myopathien sind akut, subakut oder chronisch erworbene Erkrankungen des Skelettmuskels [Dalakas, 2003]. Sie sind unklarer Ätiologie; eine autoimmune Genese wird angenommen [Walter, 2001].

Nach klinischen sowie histologischen Kriterien werden vor allem drei Formen unterschieden: Dermatomyositis (DM), Polymyositis (PM) und sporadische Einschlusskörpermyositis (s-IBM) [Hohlfeld, 1996]. Gemeinsame Kennzeichen sind klinisch eine mäßige bis schwere Muskelschwäche [Dalakas, 2003] und histologisch der Verlust von Muskelfasern [Choi, 2000; Carmeli, 2004] sowie das Vorliegen von Entzündungsherden in der Muskulatur [Dalakas, 2003] mit der Einwanderung mononukleärer Phagozyten und T-Lymphozyten [Choi, 2000; Carmeli, 2004]. Die s-IBM weist neben der entzündlichen Komponente als einzige unter den entzündlichen Myopathien auch degenerative Merkmale auf [Barohn, 1995].

Da die Diagnose Dermatomyositis während des Untersuchungszeitraumes dieser Arbeit nicht gestellt werden konnte, beschränkt sich diese Arbeit in ihren Ausführungen auf die PM und s-IBM.

1.4.1 Klinische Merkmale der s-IBM und PM

Das Auftreten einer Polymyositis wird bereits bei Jugendlichen ab einem Alter von achtzehn Jahren beobachtet, während die s-IBM vor allem bei über fünfzigjährigen Männern auftritt [Dalakas, 2003]. Beide Erkrankungen zeigen nur selten akute Verläufe und entwickeln sich stattdessen meist langsam über Wochen bis Monate [Dalakas, 2003; Walter, 2001]. Zunächst erscheinen den betroffenen Patienten alltägliche Dinge wie Treppensteigen, Aufstehen von einem Stuhl oder Haarekämmen weit anstrengender und mühevoller als zuvor.

Einschränkungen der Feinmotorik, wie zum Beispiel beim Festhalten einer Flasche oder beim Zuknöpfen einer Bluse sind typisch für frühe Krankheitsstadien der s-IBM, nicht jedoch der PM [Dalakas, 2003]. Kennzeichnend für s-IBM sind außerdem die initiale Beteiligung von Fingerbeugern und Fußhebern sowie asymmetrisch angeordnete Muskelatrophien, besonders der Armbeuger und des Quadrizeps [Walter, 2001], was zu regelmäßigen Stürzen infolge einer Kniegelenkinstabilität bei diesen Patienten führt [Dalakas, 2003]. In späteren Krankheitsstadien treten häufig Schluckstörungen bei sowohl PM- als auch s-IBM-Patienten auf [Dalakas, 2003; Walter, 2001]. Bei der PM sind darüber hinaus extramuskuläre Manifestationen, wie zum Beispiel kardiale Dysfunktionen, Arthralgien, Fieber und Gewichtsverlust durchaus üblich. Ein Teil der PM-Patienten leidet sogar gleichzeitig an einer systemischen Autoimmun- beziehungsweise Bindegewebserkrankung; so entwickeln beispielsweise 5-8% der Lupus-Patienten eine PM [Dalakas, 2003; Walter, 2001].

1.4.2 Diagnosefindung (s-IBM, PM)

Die PM ist eine schwierig zu stellende Diagnose. Besonders s-IBM, aber auch toxische oder endokrine Myopathien und Muskeldystrophien werden häufig als PM fehldiagnostiziert.

Die Diagnose einer PM stellt eine Ausschlussdiagnose dar [Dalakas, 2003].

Die Diagnosefindung im Rahmen der entzündlichen Myopathien besteht aus drei Hauptpfeilern, nämlich aus der Bestimmung der Serum-Creatinkinase, der Elektromyographie und der Muskelbiopsie.

Bei dem Untergang einer Muskelfaser verliert das Sarkolemm der betroffenen Faser die Fähigkeit, die Kontrolle der Membranpermeabilität aufrechtzuerhalten. Dies äußert sich unter anderem als erhöhte Serum-CK-Spiegel [Reznick, 2003]. Folglich dient die Bestimmung der Serum-CK-Aktivität häufig der Einschätzung des Ausmaßes des Muskelfaseruntergangs [Carmeli, 2004]. Eine kritische Betrachtungsweise dieses Parameters ist dabei jedoch unbedingt erforderlich (vgl. 1.3).

Die Elektromyographie ist zwar krankheitsunspezifisch, aber hilfreich zur Diagnosestellung einer aktiven Myopathie.

Der entscheidende Schritt zur Diagnosefindung ist die Muskelbiopsie [Mastaglia, 2003].

Histologisch kennzeichnend für die PM sind multifokale Lymphozyteninfiltrate (CD8-positiv) um und in gesunden MHC Klasse I präsentierenden Muskelfasern mit der Bildung von CD8/MHC-I-Komplexen [Dalakas, 2003]. Für die s-IBM sind „rimmed vacuoles“ mit eosinophilen, zytoplasmatischen Einschlüssen oder mit Kongorot anfärbbaren Amyloidablagerungen sowie elektronenmikroskopisch nachweisbare intranukleäre und intrazytoplasmatische Filamente diagnostisch wegweisend [Dalakas, 2003; Walter, 2001].

1.4.3 Pathogenese von s-IBM und PM

Sowohl bei der PM als auch bei der s-IBM nimmt man eine autoimmune Genese an. Perforin-Granula enthaltende CD8-positive Lymphozyten dringen in Muskelfasern ein [Dalakas, 2003], die MHC-I-Antigen exprimieren [Hohlfeld, 1996]. Diese Expression der Histokompatibilitätsantigene MHC I von Muskelfasern bei s-IBM-, aber auch PM-Patienten ist bemerkenswert, da normale Muskelfasern gewöhnlich weder MHC I noch II exprimieren [Dalakas, 2003]. Die klonartig vermehrten, invasiven, autoaggressiven T-Lymphozyten erkennen vermutlich muskuläre Autoantigene als HLA gebundene Peptide. Diese muskulären Autoantigene sind bisher nicht bekannt. Es werden sowohl genuine als auch virale Antigene in Betracht gezogen [Hohlfeld, 1996]. Vor allem bei der s-IBM könnte man wegen ihrer pathognomonischen intranukleären und intrazytoplasmatischen Filamente, die an Myxoviren erinnern, eine Virusinfektion für den Krankheitsauslöser halten [Walter, 2001]. Eine Assoziation zwischen Retroviren (HIV, HTLV-1) und sowohl s-IBM als auch PM wurde bereits bewiesen; genauere Mechanismen sind jedoch noch nicht bekannt [Dalakas, 1995]. Darüber hinaus sind bei Patienten mit PM bestimmte Zytokine erhöht. Interferon γ und Interleukin 1b beispielsweise wirken myozytotoxisch. TGF- β steht für chronische Entzündung und Muskelfibrose. In dieser Erhöhung der Zytokine liegt wahrscheinlich ein Angriffspunkt der Immuntherapien, die gewöhnlich eine Herunterregulierung der Zytokine bewirken. Auch bestimmte Chemokine scheinen in den Krankheitsprozess involviert zu sein. Die Matrixmetalloproteinasen MMP-2 und -9 finden sich vermehrt sowohl in Muskelfasern als auch autoinvasiven T-Zellen bei Patienten mit inflammatorischen Myopathien [Dalakas, 2003].

Des Weiteren stützt die relativ häufige Assoziation der PM mit anderen Autoimmunopathien wie beispielsweise dem Lupus erythematodes oder Sjögren-Syndrom - sogenannte Overlap-Syndrome - die Theorie einer autoimmunen Genese [Dalakas, 2003].

Die Amyloidablagerungen in den „rimmed vacuoles“ der s-IBM dagegen deuten auf Parallelen mit neurodegenerativen Erkrankungen hin („Muskelalzheimer“) [Walter, 2001].

1.4.4 Therapieschemata bei s-IBM und PM

Ziel der Therapie der idiopathischen entzündlichen Myopathien ist eine Verbesserung der Muskelkraft sowie Linderung der extramuskulären Manifestationen [Dalakas, 2003].

Wirkungsvolle und vielversprechende Therapieformen sind immunmodulatorische oder immunsupprimierende Substanzen [Grogan, 2004].

Bei der PM bringt bis jetzt die Anwendung hoch dosierter Corticosteroide den größten therapeutischen Erfolg ein [Villalba, 1996]. Eine wirkungsvolle Zusatztherapie bei PM zur „Steroideinsparung“ stellt Azathioprin dar [Mimura, 2001]. Mit der „Steroideinsparung“ wird die Minimierung der Nebenwirkungen von Corticosteroiden angestrebt. Erst wenn Azathioprin den gewünschten therapeutischen Effekt nicht erreicht, wird auf Methotrexat zurückgegriffen.

Cyclophosphamid, Cyclosporin A und Chlorambucil werden bei schweren internistischen, extramuskulären Organmanifestationen eingesetzt. Hoch dosierte intravenöse Immunglobuline (ivIg) werden bei PM-Patienten erst bei einem Versagen der Standardtherapie oder beim Auftreten nicht tolerierbarer Nebenwirkungen der konventionellen Therapie über drei bis sechs Monate versucht [Walter, 2001; Walter, 2002]. Bei s-IBM-Patienten sind hoch dosierte intravenöse Immunglobuline aufgrund mangelnder Alternativen infolge eines häufig therapierefraktären Verhaltens Therapie der ersten Wahl [Walter, 2001]. Nur mit ivIg konnte bisher eine Stabilisierung des Krankheitsverlaufs erreicht

werden [Walter, 2001]. In einer kontrollierten Studie mit neunzehn s-IBM Patienten konnte eine signifikante Besserung der Schluckfunktion durch ivIg belegt werden [Dalakas, 1997]. Die Therapie sollte zunächst über sechs Monate erfolgen und abhängig vom Krankheitsverlauf bei Ansprechen über mindestens ein Jahr fortgeführt werden [Walter, 2002]. Steroide und andere Immunsuppressiva erscheinen bei s-IBM nur in Einzelfällen Erfolg versprechend [Dalakas, 2003].

1.5 Polyneuropathien (MMN, CIDP)

Polyneuropathien sind Erkrankungen des peripheren Nervensystems (PNS). Die klinischen Merkmale sind davon abhängig, welche Nervenfasern (motorische, sensible, autonome) und an welcher Stelle (Wurzel, gemischte Nerven, Nervenplexus, einzelne Nerven, Hirnnerven) das periphere Nervensystem geschädigt ist.

Es wird zwischen symmetrischen und asymmetrischen Manifestationstypen differenziert: Beim symmetrisch-sensiblen Typ findet man distal betonte symmetrisch angeordnete strumpf- oder handschuhförmige Sensibilitätsstörungen zusammen mit einem Reflexverlust. Beim symmetrisch-paretischen (oder motorischen) Typ existieren neben den oben erwähnten Sensibilitätsstörungen zusätzlich ebenfalls symmetrisch angeordnete motorische Ausfälle. Beispiele hierfür sind das Guillain-Barré-Syndrom und die chronisch inflammatorische demyelinisierende Polyradikuloneuropathie (CIDP). Der asymmetrische Typ manifestiert sich mit Ausfällen entsprechend des jeweiligen Nervenversorgungsgebietes und eventuell zusätzlich mit distal betonten symmetrisch-paretischen oder selten symmetrisch-sensiblen Ausfällen. Hierunter fällt die multifokal motorische Neuropathie (MMN).

Sowohl CIDP als auch MMN gehören der Gruppe der entzündlichen Polyneuropathien an. Sie sind vermutlich immunvermittelt und weisen beide eine Demyelinisierung von Nervenfasern auf [Köller, 2003; Neundörfer, 2000].

1.5.1 Klinische Merkmale von MMN und CIDP

Die MMN ist eine erworbene, chronisch demyelinisierende und in der Regel rein motorische periphere Neuropathie. Männer sind zwei- bis dreimal so häufig betroffen wie Frauen. Das Erkrankungsalter liegt zwischen dem 20. und 50. Lebensjahr. Es imponiert eine vorwiegend distale und asymmetrische Schwäche der Extremitätenmuskulatur mit zum Beispiel Fallhand oder Fußheberschwäche [Fischer, 2002]. Dabei sind die oberen Gliedmaßen früher und schwerer befallen [Nobile-Orazio, 2001]. Die Nervi radialis, medianus, ulnaris und peroneus communis sind am häufigsten betroffen. Muskelatrophien sind initial verhältnismäßig milde ausgeprägt. Muskeleigenreflexe sind im Bereich der betroffenen Nerven abgeschwächt oder nicht vorhanden. Sensible Störungen konnten bisher nicht objektiviert werden [Fischer, 2002]. Faszikulationen und Krämpfe können bei den betroffenen Patienten relativ häufig beobachtet werden [Nobile-Orazio, 2001].

Auch die CIDP ist eine chronisch demyelinisierende, erworbene Neuropathie [Fischer, 2002]. Sie betrifft alle Altersstufen mit einem Überwiegen des männlichen Geschlechts [Köller, 2003]. Im Unterschied zur MMN manifestiert sich die CIDP symmetrisch und betrifft nicht ausschließlich die Motorik, sondern auch die Sensibilität [Van Schaik, 2002; Fischer, 2002]. Folglich zeigen sich bei der CIDP sowohl symmetrisch angeordnete Ausfälle der Sensibilität

als auch eine symmetrisch ausgeprägte Muskelschwäche, die zunächst vor allem die unteren Extremitäten erfasst und proximal stärker ausgeprägt ist als distal [Fischer, 2002]. Die Reflexe sind ebenfalls symmetrisch abgeschwächt oder nicht auslösbar [Van Schaik, 2002; Fischer, 2002]. Allerdings werden inzwischen auch Untergruppen definiert, die asymmetrische Paresen und Sensibilitätsstörungen aufweisen können [Köller, 2003].

1.5.2 Diagnosefindung (MMN, CIDP)

Die Elektrophysiologie nimmt die entscheidende Rolle ein in der Diagnostik der Neuropathien. Zur Diagnosestellung einer primär demyelinisierenden Neuropathie sollten mindestens zwei der folgenden vier Punkte in mindestens zwei (mit Ausnahme des partiellen Leitungsblocks) motorischen Nerven erfüllt sein:

1. Das Vorhandensein persistierender multifokaler partieller motorischer Leitungsblöcke infolge fokaler Demyelinisierungen (Definition „Leitungsblock“: Reduktion der Amplitude und/ oder der Fläche des motorischen Summenaktionspotentials (MSAP) über einen kurzen Nervenabschnitt) oder abnormer temporaler Dispersion des MSAP.
2. Fokale Verzögerungen der motorischen Nervenleitungsgeschwindigkeit.
3. Verlängerung der distalmotorischen Latenzen.
4. Verlängerung oder Fehlen von F-Wellen-Latenzen.

Haben diese elektrophysiologischen Zeichen ein asymmetrisches Muster und finden sich zusätzlich eine unauffällige sensible Neurographie sowie klinisch asymmetrische distal betonte Paresen, ist die Diagnose einer MMN wahrscheinlich [Fischer, 2002].

Um eine CIDP diagnostizieren zu können, muss zusätzlich zu diesen elektrophysiologischen Zeichen klinisch eine Muskelschwäche seit zwei Monaten oder länger bestehen. Die Muskelschwäche sollte sich möglichst symmetrisch proximal und distal sowie sowohl in den oberen als auch unteren Gliedmaßen manifestieren [Van Schaik, 2002; Donofrio, 2003; Köller, 2003].

Einige Laboruntersuchungen können eine kleine Hilfestellung bei der Diagnosefindung leisten.

Liquordiagnostisch weisen maximal ein Drittel der Patienten mit MMN eine leichtgradige Eiweißerhöhung infolge einer Schrankenstörung auf [Fischer, 2002]. Im Gegensatz dazu ist die Liquoreiweißkonzentration bei 80-90% der Patienten mit CIDP deutlich erhöht [Van Schaik, 2002]. Eine zytoalbuminäre Dissoziation ist charakteristisch für CIDP [Donofrio, 2003].

Daneben finden sich Serum-Antikörper der Gruppe IgM gegen GM1-Ganglioside bei 30-60% der Patienten mit MMN, bei Patienten mit CIDP dagegen nur sehr selten [Fischer, 2002].

Mit Hilfe der magnetresonanztomographischen Bildgebung des Plexus brachialis konnte bei 50% der MMN-Patienten das Vorhandensein asymmetrisch angeordneter Demyelinisierungsherde durch fokale Signalanhebungen in T2 gewichteten Aufnahmen bestätigt werden [Fischer, 2002]. Ähnliche Befunde finden sich bei CIDP, allerdings in symmetrischer Verteilung [Nobile-Orazio, 2001].

Die histopathologische Untersuchung von einer Nerven- oder Muskelbiopsie ist zur Diagnosestellung einer MMN nicht notwendig. Es wäre lediglich eine faszikuläre, gruppenförmige Atrophie der betroffenen Muskulatur als Ausdruck eines neurogenen Gewebesyndroms zu erkennen [Fischer, 2002].

Auch bei der Diagnostik der CIDP tritt die Histopathologie in den Hintergrund. Wie bei den meisten sich multifokal manifestierenden Neuropathien, zeigen auch bei der CIDP viele der

entnommenen Probebiopsien eine völlig normale Morphologie [Van Schaik, 2002]. In einer Nervenbiopsie der betroffenen Areale eines CIDP-Patienten zeigen sich neben multifokalen Demyelinisierungsherden, umgeben von mononukleären Zellen, auch Remyelinisierungsherde, ein Untergang von Muskelfasern und Zwiebelschalenformationen [Van Schaik, 2002], die wiederum ein Zeichen für wiederholte De- und Remyelinisierungsvorgänge sind [Fischer, 2002]. In 10% der Fälle findet man perivaskuläre oder im Endoneurium gelegene Lymphozyteninfiltrate, die gleichzeitig ein Ausschlusskriterium für das Vorliegen einer MMN darstellen [Fischer, 2002].

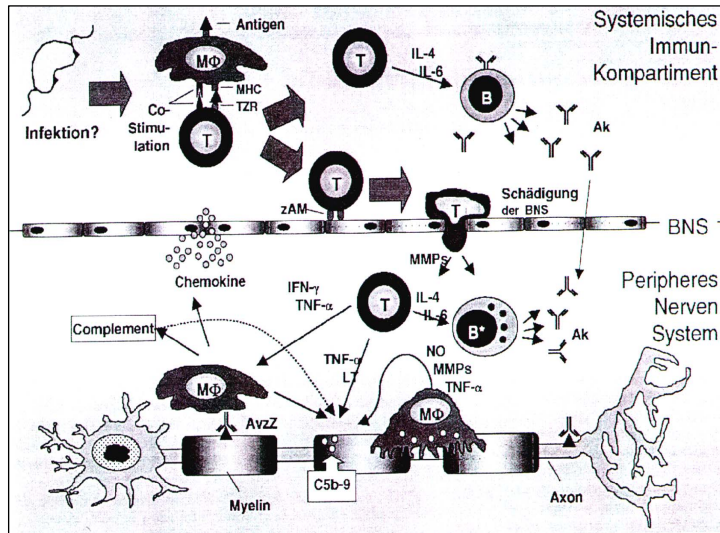
1.5.3 Pathogenese der MMN und CIDP

Bei der MMN deuten sowohl das klinische Ansprechen auf immunmodulatorische Therapien als auch die Assoziation mit GM1-Antikörpern auf einen immunvermittelten Prozess hin. Trotzdem ist die genaue Pathogenese der MMN nicht bekannt [Nobile-Orazio, 2001]. Eine der Theorien zur Entstehung von Autoimmunerkrankungen ist das „molekulare Mimikry“. Hierbei weist ein Infektionserreger die gleichen antigenen Epitope auf wie bestimmte körpereigene Zellen, woraus eine fehlgeleitete Immunantwort gegen diese körpereigenen Zellen resultieren kann [Köller, 2003]. GM1-Ganglioside werden in hoher Konzentration im Myelin des peripheren Nervensystems, vor allem der motorischen Wurzeln, an Ranvier'schen Schnürringen und an den Endplattenregionen, exprimiert [O'Hanlon, 1998]. Aufgrund struktureller Gemeinsamkeiten zwischen diesen GM1-Gangliosiden und Lipopolysacchariden des Bakteriums *Campylobacter jejuni*, könnte eine vorausgegangene gastrointestinale Infektion mit *C. jejuni* über „molekulares Mimikry“ eine GM1-Antikörperbildung auslösen [Nobile-Orazio, 2001]. Folglich könnten GM1-Antikörper eventuell über eine Antigen-Antikörperreaktion eine demyelinisierende Neuropathie [Fischer, 2002] mit partiellen Leitungsblöcken induzieren [Nobile-Orazio, 2001]. Bei MMN-Patienten, die klinisch auf eine Therapie mit Cyclophosphamid ansprechen, wird von einem Rückgang der GM1-Antikörper berichtet. Allerdings finden sich GM1-Antikörper, wie bereits erwähnt, nur bei 30-60% der MMN-Patienten und nur selten bei Patienten mit anderen Neuropathien wie zum Beispiel Guillain-Barré-Syndrom oder Miller Fisher Syndrom [Nobile-Orazio, 2001].

Die klinische Ähnlichkeit zwischen CIDP und Guillain-Barré-Syndrom (GBS) sowie die klinische Besserung der CIDP auf eine immunmodulatorische Therapie machen auch für die CIDP eine Immunpathogenese wahrscheinlich. Für eine zelluläre Immunkomponente sprechen die bereits erwähnten entzündlichen T-Zell-Infiltrate. Im Serum finden sich erhöhte Spiegel proinflammatorischer Zytokine (TNF- α , IL-2), die Ausdruck einer systemischen Aktivierung dieser T-Zellen sind. Chemokine und MMPs, die entscheidend an der T-Zell-Migration beteiligt sind, sind in Nervenbiopsien sowie im Liquor von CIDP-Patienten erhöht [Köller, 2003]. T-Zellen und ihre Zytokine sowie MMPs bewirken durch die Zerstörung der Blut-Nerven-Schranke eine lokale Immunantwort im Nerven mit der Einwanderung von Makrophagen sowie der Sekretion toxischer Faktoren, die schließlich das Myelin und die Axone schädigen. Darüber hinaus stimulieren die aktivierten T-Zellen vermutlich B-Zellen zur Produktion von Antikörpern gegen Nerven sowie Myelin [Rezania, 2004]. Im Serum von CIDP-Patienten konnten beispielsweise zirkulierende Autoantikörper gegen das Myelinprotein P0 gefunden werden, die möglicherweise eine entscheidende Rolle bei der Entwicklung einer CIDP einnehmen [Köller, 2003]. Die Möglichkeit der Krankheitsinduktion durch „molekulares Mimikry“ besteht auch im Falle der CIDP. Einige CIDP-Patienten berichten von Infektionen der oberen Atemwege, des Gastrointestinaltraktes oder einer gerade

zurückliegenden Impfung, die zeitlich in Zusammenhang mit der Erstmanifestation ihrer Erkrankung stehen könnten [Donofrio, 2003; Köller, 2003].

Bild 7: „Molekulares Mimikry“ [Köller, 2003]



1.5.4 Therapieschemata bei MMN und CIDP

Therapie der ersten Wahl bei MMN sind intravenöse Immunglobuline. In mehreren randomisierten, placebokontrollierten Doppelblindstudien wurde eine klinische Besserung durch ivIg bei 80% der MMN-Patienten bestätigt [Feldmann, 1991]. Bei den meisten Patienten tritt die positive Wirkung von ivIg bereits innerhalb einer Woche nach Verabreichung von ivIg ein. Allerdings ist mit einem raschen Wirkungsverlust nach einigen Wochen zu rechnen [Nobile-Orazio, 2001], weshalb regelmäßig wiederholte Gaben von ivIg notwendig sind [Donofrio, 2003].

Nach van den Berg-Vos et al. bewirkt eine Langzeittherapie mit ivIg eine Verbesserung der Muskelkraft sowie der Einsatzfähigkeit der oberen Extremität bei Patienten mit MMN. Eine leichte Abnahme der Muskelkraft über einen langen Zeitraum hinweg kann bei diesen Patienten durch ivIg jedoch nicht verhindert werden. IvIg beeinflusst positiv Reinnervierung und Remyelinisierung. Leitungsblöcke im Rahmen der MMN bilden sich gelegentlich unter Therapie mit ivIg zurück. Der Axonverlust hingegen kann nicht verhindert werden [Van den Berg-Vos, 2002].

Allerdings haben ivIg keine oder nur sehr geringe Auswirkungen auf Anti-Gangliosid-Antikörper, die wahrscheinlich eine Rolle in der Pathogenese der MMN spielen (vgl. 1.5.3) [Nobile-Orazio, 2001]. Im Gegensatz dazu führt Cyclophosphamid (CTX) zu einem stetigen Rückgang von GM1-Antikörpern [Donofrio, 2003]. Die Kombination von oral verabreichtem CTX mit ivIg ermöglicht eine Vergrößerung des zeitlichen Abstands zwischen zwei ivIg-Infusionen [Donofrio, 2003; Nobile-Orazio, 2001]. Aufgrund seiner schweren Nebenwirkungen wird CTX, das auch als Monotherapie bei 50% der MMN-Patienten Wirkung gezeigt hat, bei jungen Patienten und Patienten mit mildem bis mäßigem Krankheitsverlauf jedoch nicht empfohlen [Nobile-Orazio, 2001].

Die MMN spricht im Gegensatz zur CIDP nicht auf Corticosteroide an [Fischer, 2002]. Es wird sogar von dramatischen Verschlechterungen der MMN unter Corticosteroidtherapie berichtet [Nobile-Orazio, 2001].

Patienten mit CIDP sprechen auf eine Corticosteroidtherapie ähnlich gut an wie auf Plasmaaustausch oder eine Therapie mit ivIg [Ropper, 2003; Van Schaik, 2002; Köller, 2003]. Zwei Drittel der CIDP-Patienten weisen eine klinische Besserung nach einer dieser Therapien auf [Ropper, 2003], die übrigen 30% sind noch nicht suffizient behandelbar [Köller, 2003]. Bei der Mehrzahl der initial behandelbaren CIDP-Patienten treten allerdings regelmäßig Rückfälle auf. IvIg müssen alle zwei bis acht Wochen wiederholt infundiert werden, um ihre positiven Wirkungen aufrechterhalten zu können. Corticosteroide sind als Langzeittherapeutikum weniger geeignet, da in den meisten Fällen schwere Nebenwirkungen eintreten. Plasmaaustausch kann nur an speziell ausgestatteten Zentren durchgeführt werden [Ropper, 2003].

Donofrio hat ein festes Behandlungsschema für Patienten mit CIDP erstellt. Danach soll zunächst ein Therapieversuch mit Prednison durchgeführt werden. Ist das Ergebnis nach sechs bis acht Wochen nicht zufriedenstellend, werden ivIg eingesetzt. Erst bei einem Versagen von ivIg soll Plasmaaustausch versucht werden [Donofrio, 2003]. Bei ungenügendem Ansprechen auf eines dieser drei Therapeutika oder häufigen Rückfällen zwischen den Behandlungszyklen plädieren Donofrio, Köller et al. für die Anwendung von Immunsuppressiva wie Azathioprin, Cyclosporin oder Cyclophosphamid [Donofrio, 2003; Köller, 2003].

2 Zielsetzung der vorliegenden Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wird die Modulation der Serumkonzentrationen von MMP-2 und -9 sowie TIMP-2 und -1 als auch der Verlauf der klinischen Symptomatik bei Patienten mit MMN, CIDP, s-IBM und PM unter iv-Immunglobulintherapie untersucht. Bei den Patienten mit PM und s-IBM wird darüber hinaus der Verlauf der Serumcreatinkinase über einen ivIg-Zyklus dokumentiert (vgl. Abschnitt 4).

Bisher existieren keine objektivierbaren Erfolgskontrollen für eine iv-Immunglobulintherapie bei Patienten mit CIDP, MMN, s-IBM und PM. Der Erfolg einer Therapie mit ivIg wird an dem subjektiven Befinden und an der regelmäßigen klinischen Beurteilung der betroffenen Patienten mit der maschinellen oder manuellen Kraftprüfung verschiedener Muskelgruppen, meist durch unterschiedliche Untersucher, festgemacht. Dies sind subjektive und daher mangelhafte Erfolgskontrollen.

Dabei sollte bedacht werden, dass die Herstellung von ivIg sowie die mit den ivIg-Zyklen einhergehenden, regelmäßig erforderlichen Klinikaufenthalte einen enormen Kostenfaktor darstellen. Zudem müssen die Patienten die nicht unerheblichen Nebenwirkungen und Risiken einer Therapie mit ivIg tragen. Offensichtlich ist es von großer Bedeutung, für die Zukunft eine objektive Kontrollmöglichkeit für den Therapieerfolg von ivIg zu schaffen, um eine Vielzahl unnötiger Therapieversuche zu vermeiden.

In dieser prospektiven Studie wird untersucht, ob die Modulation der Serumkonzentrationen von MMP-9 und -2 sowie TIMP-1 und -2 einen sensitiven Parameter zur Prüfung der Wirksamkeit einer iv-Immunglobulintherapie bei den vier hier betrachteten Krankheitsbildern darstellt.

Zielsetzung dieser Studie ist es daher zunächst, herauszufinden, ob MMP-2 und -9 sowie TIMP-1 und -2 verlässlich mittels ELISA im Serum der hier betrachteten Patientengruppen mit entzündlichen Neuro- (MMN, CIDP) oder Myopathien (s-IBM, PM) nachweisbar sind. Ist dies der Fall, wird in dieser Studie untersucht, ob ivIg bei einer oder mehreren der hier betrachteten Patientengruppen Auswirkungen auf die Serumkonzentrationen von sowohl MMP-9 und MMP-2 als auch von TIMP-1 und -2 haben (vgl. 4.1).

Gleichzeitig wird untersucht, ob ivIg bei den in diese Studie eingeschlossenen Patienten nachvollziehbare Auswirkungen auf die klinische Symptomatik haben, im Sinne einer Verbesserung der Muskelkraft sowie der Fähigkeit zur Verrichtung von Alltagsaktivitäten (vgl. 4.2).

Um eine objektivierbare Erfolgskontrolle darzustellen, müssten sich relevante Parallelen zwischen der Modulation der Serumkonzentrationen von MMP-9 und -2 beziehungsweise TIMP-1 und -2 und dem klinischen Verlauf während einer Therapie mit ivIg ergeben (vgl. Abschnitt 5).

Bei den Patienten mit PM und s-IBM wird außerdem untersucht, ob sich Parallelen im Verlauf der Aktivität der Serumcreatinkinase verglichen mit der Modulation der MMP-/TIMP-Serumkonzentrationen sowie mit dem Verlauf der klinischen Symptomatik ergeben (vgl. Abschnitt 5).

Die Möglichkeit einer Veränderung der Ergebnisse von Patienten, die zu ivIg zusätzliche Therapien in Form eines Statins oder Immunmodulators erhalten, wird bei der Bewertung der Gesamtergebnisse berücksichtigt.

3 Material und Methoden

3.1 Zusammensetzung der Untersuchungskollektive

3.1.1 Patientenkollektiv

Das Patientenkollektiv dieser Studie umfasst insgesamt 33 Patienten. Die Patienten konnten im Rahmen wiederholter stationärer Aufenthalte in der Friedrich-Baur-Stiftung, anlässlich durchschnittlich vier- bis fünftägiger Therapiezyklen mit intravenösen Immunglobulinen, in das Patientenkollektiv der Studie aufgenommen werden. Zuvor erfolgte eine mündliche Aufklärung der Patienten über die Studie. Alle Patienten erklärten sich einverstanden mit der Teilnahme an dieser Studie.

Bei keinem der in diese Studie eingeschlossenen 33 Patienten handelte es sich um einen erstmaligen Therapieversuch mit ivIg. Die Gesamtdosis hoch dosierter intravenöser Immunglobuline betrug bei jedem Patienten zwischen 120 und 160 Gramm (2g/ kg Körpergewicht).

15 Patienten des Kollektivs leiden an sporadischer Einschlusskörpermyositis (s-IBM), 4 an Polymyositis (PM), 11 an multifokal motorischer Neuropathie (MMN) und 3 an chronisch inflammatorisch demyelinisierender Polyneuropathie (CIDP). Die Diagnose der s-IBM beziehungsweise PM ist bei allen betreffenden Patienten histologisch verifiziert. Bei den 11 Patienten mit MMN konnte das Vorliegen einer MMN elektrophysiologisch verifiziert werden. Die drei CIDP-Patienten erfüllten sowohl elektrophysiologisch als auch klinisch die Kriterien zur Diagnosestellung einer CIDP und wiesen zudem einen für die CIDP typischen Liquorbefund auf.

Bei den 15 s-IBM-Patienten handelt es sich um fünf Frauen und zehn Männer, die zwischen 59 und 82 Jahren alt waren. Das Durchschnittsalter betrug 68,4 Jahre. Die mittlere Krankheitsdauer dieser Patientengruppe lag bei 5,1 Jahren.

Die Gruppe der an PM Erkrankten lässt sich in drei weibliche und einen männlichen Patienten aufgliedern, die sich in einem Altersbereich zwischen 46 und 73 Jahren aufhielten. Das mittlere Alter entsprach 58 Jahren. Die mittlere Krankheitsdauer lag hier bei 3,6 Jahren. Die elf Patienten mit MMN lassen sich in vier Frauen und sieben Männer aufspalten. Sie waren zwischen 48 und 71 Jahre, durchschnittlich 57,7 Jahre, alt. Die mittlere Krankheitsdauer belief sich in dieser Gruppe auf 2,8 Jahre.

Die Gruppe der Patienten mit CIDP besteht aus zwei Männern und einer Frau im Alter zwischen 40 und 72 Jahren. Das durchschnittliche Alter lag bei 58 Jahren, die mittlere Krankheitsdauer bei 4,2 Jahren.

Bei jedem Patienten wurden eine Krankenanamnese und mehrfach klinische Untersuchungen sowie Blutentnahmen zur Untersuchung des Krankheitsverlaufs durchgeführt.

Alle Patienten wurden darüber hinaus wiederholt elektrophysiologisch untersucht. Diese Resultate sind jedoch nicht Teil der vorliegenden Arbeit.

3.1.2 Kontrollkollektiv

Das Kontrollkollektiv setzt sich aus insgesamt 15 gesunden, freiwilligen Probanden zusammen. Alter und Geschlecht der Probanden ist ähnlich verteilt wie im Patientenkollektiv. Die acht Frauen und sieben Männer waren zwischen 34 und 82 Jahren alt, mit einem Altersdurchschnitt von 59,4 Jahren.

Die Annahme, dass es sich bei diesem Kollektiv um Gesunde handelte, basiert auf einer detaillierten Anamnese bezüglich bekannter aktueller oder früherer Erkrankungen sowie der

Einnahme von Medikamenten. Keine der Kontrollpersonen erhielt eine immunmodulierende Therapie. Lediglich eine Kontrollperson gab ein Prostata-Carcinom in der Vorgeschichte an, jedoch ohne aktuelle gesundheitliche oder therapeutische Konsequenzen.

Bei jedem Probanden des Kontrollkollektivs wurde eine einmalige Blutentnahme durchgeführt.

3.2 Studienzeitraum

Der Studienzeitraum erstreckte sich bei jedem Patienten über vier Termine: Tag 0, 8, 30 und 60.

Tag 0 war der Tag der stationären Aufnahme des jeweiligen Patienten, an dem sowohl die Anamnese als auch die erste klinische Untersuchung sowie die erste Blutentnahme durchgeführt wurden. Die Blutentnahme an Tag 0 musste vor Beginn der mehrtägigen Therapiephase mit ivIg erfolgen.

Nach Beendigung der Phase, durchschnittlich an Tag 8, wurden vor Entlassung des jeweiligen Patienten erneut eine klinische Untersuchung sowie eine Blutentnahme durchgeführt.

Mindestens acht Stunden mussten zwischen der letzten ivIg-Infusion und dieser Blutentnahme liegen.

22 Tage nach der Entlassung, an Tag 30, wurde zur Untersuchung des klinischen Verlaufs eine weitere klinische Untersuchung bei jedem Patienten vorgenommen.

Tag 60 entsprach der stationären Wiederaufnahme des jeweiligen Patienten und dem erneuten Beginn einer Therapiephase mit ivIg. Vor Beginn der neuen Therapiephase mit ivIg wurden zum letzten Mal im Rahmen dieser Studie sowohl eine klinische Untersuchung als auch eine Blutentnahme durchgeführt.

3.3 Anamnese der Patienten

Die ausführliche Anamnese jedes einzelnen Patienten des Patientenkollektivs erfolgte am Aufnahmetag (Tag 0). Hierbei wurden frühere oder aktuelle maligne Erkrankungen sowie neben ivIg zusätzlich verabreichte Therapien als mögliche Einflussgrößen für den Krankheitsverlauf und Erfolg der Therapie mit ivIg erfragt.

Dabei gab nur ein Patient mit CIDP in der Krankengeschichte ein Gaumensegel-Carcinom an, jedoch ohne aktuelle therapeutische und gesundheitliche Konsequenzen.

Zwei Patienten mit s-IBM, ein Patient mit PM und zwei Patienten mit MMN erhielten während des gesamten Studienzeitraumes eine Therapie mit Lipidsenkern vom Statintyp.

Darüber hinaus erhielten zwei Patienten mit s-IBM und ein Patient mit CIDP eine zusätzliche Therapie mit Corticosteroiden sowie je ein Patient mit PM und s-IBM eine zusätzliche Therapie mit Azathioprin während des gesamten Studienzeitraumes.

3.4 Klinische Untersuchung

3.4.1 Zeitpunkte der Untersuchung

Die klinische Untersuchung jedes einzelnen Patienten erfolgte insgesamt viermal innerhalb des Studienzeitraumes: an Tag 0, 8, 30 und 60 (vgl. 3.2).

3.4.2 Klinische Scores

Der klinische Verlauf unter ivIg-Therapie jedes einzelnen Patienten wurde mit Hilfe von drei verschiedenen, validierten neuromuskulären Punkteskalen („Scores“) dokumentiert.

MRC

Die Medical Research Council Scale (MRC) dient der Beurteilung der groben Muskelkraft bestimmter Muskelgruppen. Der Untersucher beurteilt im Rahmen der manuellen Kraftmessung auf einer Skala von 0-5 den Kraftgrad der jeweils geprüften Muskelgruppe.

0 Punkte bedeuten, dass keine Muskelkontraktion erfolgt, der Muskel ist plegisch.

1 Punkt entspricht einer fühlbaren Muskelkontraktion, jedoch ohne sichtbare Bewegung des Muskels.

2 Punkte erhält ein Muskel, wenn eine Bewegung erst nach Eliminierung der Schwerkraft ausgeführt werden kann.

3 Punkte bedeuten, dass eine aktive Bewegung des jeweiligen Muskels gegen die Schwerkraft möglich ist.

4 Punkte entsprechen einer kräftigen aktiven Bewegung gegen die Schwerkraft und gegen Widerstand.

5 Punkte werden bei normalem, alters- und geschlechtsentsprechendem Kraftgrad der geprüften Muskelgruppe vergeben.

Auf diese Art und Weise wurden in der vorliegenden Arbeit sechs Muskelgruppen jedes Beines (Musculi quadriceps femoris, iliopsoas, tibialis anterior, gastrocnemius, gluteus maximus, ischiocrurale Muskulatur) und sieben Muskelgruppen jedes Armes (Musculi deltoideus, biceps brachii, triceps brachii, Handflexoren/ -extensoren, Fingerflexoren/ -extensoren) untersucht.

Folglich beträgt die bei voller Kraft maximale Punktzahl insgesamt 130 Punkte.

NSS

Der Neuromuscular Symptoms Score (NSS) nach Dalakas beinhaltet Fragen nach dem subjektiven, vom Patienten selbst empfundenen Grad der Behinderung bei der Bewältigung von Aufgaben des alltäglichen Lebens, wie zum Beispiel beim Öffnen von Marmeladegläsern, Ausziehen eines Pullovers oder beim Kauen und Schlucken.

Bei der Beurteilung des Behinderungsgrades werden 0 bis 3 Punkte vergeben. Null Punkte sprechen für eine subjektiv vom Patienten empfundene schwere Behinderung bei der Ausübung der jeweils gefragten Tätigkeit. Ein Punkt spricht für eine mäßiggradige, zwei Punkte für eine nur geringgradige und drei Punkte für keine Behinderung.

Bei den insgesamt 14 Fragen können maximal 42 Punkte erreicht werden.

Tabelle 2: NSS nach Dalakas

<u>Subjektive Beurteilung durch den Patienten</u>	<u>Grad der Behinderung</u>			
	schwer	mäßig	gering	keine
Punkte:	0	1	2	3
Arme über Kopf				
Ausziehen eines Pullovers				
Öffnen von Marmeladegläsern				
Drehen von Schlüsseln				
Knöpfen				
Aufsetzen aus Rückenlage				
Kauen				
Schlucken				
Pfeifen (Backenaufblasen)				
Kopfheben aus Rückenlage				
Erschöpfung nach geringer Belastung				
Erschöpfung nach längerer Belastung				
Schreiben				
Anziehen von Schuhen und Socken				

Angelini

Die Punkteskala nach Angelini gibt ebenfalls, wie der NSS, Auskunft über den Grad der Behinderung des jeweiligen Patienten.

Der Untersucher hat die Aufgabe, die Einsatzfähigkeit der unteren (0 bis 3 Punkte) und oberen Extremitäten (0 bis 2 Punkte) beziehungsweise die Funktionstüchtigkeit von Nacken- (0 oder 1 Punkt), Atemmuskulatur (0 bis 2 Punkte) sowie von Schluckmuskulatur und Stimmbildnern (je 0 oder 1 Punkt), teilweise unter Berücksichtigung der Angaben des jeweiligen Patienten, mit Punkten zu bewerten. Je höher die Zahl der erreichten Punkte desto geringer ist der Grad der Behinderung. Maximal können 10 Punkte erreicht werden.

Tabelle 3: Angelini Score

<i>Kraft - untere Extremität</i>			<i>Kraft - obere Extremität</i>		
	0	Bewegung nur im Liegen möglich		0	plegisch
	1	Bewegung nur im Sitzen möglich		1	schwach
	2	Gehen nur mit Unterstützung		2	normal
	3	Gehen ohne Hilfe möglich			
<i>Kraft- Nackenmuskulatur</i>			<i>Atemmuskulatur</i>		
	0	Verringert		0	Beatmung nötig
	1	Normal		1	geringe bis mäßige Insuffizienz
				2	normal
<i>Dysphagie</i>			<i>Dysphonia</i>		
	0	Vorhanden		0	vorhanden
	1	nicht vorhanden		1	nicht vorhanden

3.5 Gewinnung und Verarbeitung der Blutproben

3.5.1 Zeitpunkte der Blutentnahme

Blutentnahmen wurden bei jedem Patienten mit dem Ziel der späteren Bestimmung der Serumkonzentrationen von MMP-2 und -9 sowie TIMP-1 und -2 insgesamt dreimal durchgeführt: an Tag 0 vor Beginn der ivIg-Therapie, an Tag 8 unmittelbar nach Abschluss der Therapie mit ivIg sowie an Tag 60 vor dem Beginn eines neuen Therapiezyklus mit ivIg.

An Tag 0 und 60 wurde im Rahmen des notwendigen stationären Aufenthaltes zusätzlich der CK-Wert jedes Patienten bestimmt. Der Referenzbereich für im Folgenden hier aufgeführte CK-Werte liegt bei Frauen bei <155 U/l, bei Männern <180 U/l.

3.5.2 Methode der Blutentnahme

Die Blutproben wurden mittels peripherer Venenpunktion gewonnen. Bei jeder Blutentnahme wurde pro Patient ein Serumröhrchen Vollblut entnommen. Unmittelbar nach Abnahme wurde diese Vollblutprobe im Serumröhrchen auf Eis gelegt und maximal vier Stunden bis zur Weiterverarbeitung im Kühlschrank aufbewahrt.

3.5.3 Weiterverarbeitung zur längerfristigen Aufbewahrung

Nach maximal vier Stunden Kühlung wurden die Blutproben zur Gewinnung von Serum zehn Minuten bei 4000 Umdrehungen pro Minute, einer RZB von 50377 x g und einer Temperatur von 4 °C in der Biofuge stratos von Heraeus zentrifugiert. Anschließend wurde das Serum jeweils einer Probe in mehrere Eppendorfgefäße pipettiert und bis zur Durchführung der ELISAs bei -80 °C tiefgefroren.

3.6 Durchführung der Enzyme Linked ImmunoSorbent Assays (ELISA)

Zur Bestimmung der Konzentrationen von MMP-2, MMP-9, TIMP-1 und TIMP-2 im Serum der Untersuchungskollektive wurde das handelsübliche Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELSA) „Quantikine“ für MMP-9, MMP-2, TIMP-1 und TIMP-2 des Herstellers R&D Systems verwendet. Es handelt sich hierbei um Festphasen-ELISAs mit Sandwichtechnik, die besonders der Detektion eines speziellen Proteins aus einem umfangreichen Proteingemisch dienen. Das Prinzip der Sandwich Immuno Assays basiert auf zwei verschiedenen Antikörpern, die spezifisch für verschiedene Epitope jedoch ein und desselben Proteins sind. Zu Beginn des Assays ist nur einer der beiden Antikörper an die Mikrotiterplatte fixiert. Nach Zugabe der zu untersuchenden Probe werden alle Proteine mit dem passenden Epitop an diesen Antikörper gebunden. Die übrigen Proteine werden ausgewaschen. Der zweite Antikörper, der mit einem Enzym markiert ist, bindet anschließend an ein anderes Epitop des bereits am ersten Antikörper fixierten gesuchten Proteins. Als letzter Schritt kann mittels Enzymreaktion das Zielprotein farblich nachgewiesen und quantifiziert werden. Nach eben diesem Prinzip wurden in vorliegender Studie alle Assays gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt. Zur Überprüfung der Genauigkeit der eigenen Arbeitsweise wurden Standardreihe sowie Patienten- und Kontrollproben auf jedem Assay jeweils doppelt angelegt und ausgewertet.

MMP-2-, MMP-9-Immunoassay

Der „Quantikine“ MMP-2 beziehungsweise MMP-9 Immunoassay dient der Erfassung der Konzentration sowohl der Proform als auch der aktiven Form von menschlichem MMP-2 beziehungsweise MMP-9 sowie der an die jeweilige TIMP gebundenen MMP-2

beziehungsweise -9 in menschlichem Zellkulturüberstand, Serum, Plasma, Speichel, Urin und Mausserum.

Auf der ELISA Mikroplatte mit 96 Löchern ist ein polyklonaler für MMP-2 beziehungsweise -9 spezifischer Antikörper fixiert. Nach Herstellen einer Standardreihe und Auftauen sowie gegebenenfalls Verdünnen der Kontroll- und Patientenproben wurde jede Probe aus der Standardreihe, Kontroll- und Patientengruppe in jeweils zwei Löchern der Mikrotiterplatte pipettiert. Nach zweistündiger Inkubation auf einem Mikroplattenshaker und viermaligem Waschvorgang wurde der Enzym-gebundene, polyklonale, ebenfalls für MMP-2 beziehungsweise MMP-9 spezifische Antikörper den Löchern zugefügt. Nach erneuter zweistündiger Inkubation und viermaliger Waschung wurde die Enzym- beziehungsweise Farbreaktion gestartet. Die Farbe entwickelte sich proportional zum Gesamt-MMP-2- beziehungsweise -MMP-9-Gehalt.

TIMP-1-, TIMP-2-Immunoassay

Der TIMP-1 beziehungsweise TIMP-2 „Quantikine“ Immunoassay misst die Konzentration an menschlichem TIMP-1 beziehungsweise -2 in Zellkulturüberstand, Serum, Plasma und Speichel.

Die „Quantikine“ Immunoassays für TIMP-1 und TIMP-2 wurden entsprechend den „Quantikine“ MMP-2 beziehungsweise -9 Immunoassays durchgeführt.

3.7 Auswertung der ELISA Kits

Die Auswertung der verwendeten Mikrotiterplatten, also die Farbabsorbionsmessung in den einzelnen Löchern der Mikrotiterplatten, erfolgte durch das Gerät „Sunrise“ von Tecan.

3.8 Minimierung von Fehlerquellen

3.8.1 Untersuchung von ivIg auf Kontamination mit MMPs und TIMPs

Zu Beginn dieser Studie wurde die Möglichkeit, dass ivIg selbst Spuren von Matrixmetalloproteinasen und deren Inhibitoren (TIMPs) enthalten könnten in Betracht gezogen. Aus diesem Grunde wurde eine ivIg Charge mittels den „Quantikine“ Immunoassays nach demselben Prinzip wie die Serumproben der Untersuchungskollektive auf einen Gehalt an MMP-2, MMP-9 und TIMP-2 hin untersucht. Dadurch sollte ausgeschlossen werden, dass die bei den Patienten gemessenen Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs durch die Verabreichung von kontaminierten ivIg verfälscht worden sind.

3.8.2 Unterschiedliche Behandlung der Blutproben

Darüber hinaus war Gegenstand dieser Arbeit, herauszufinden, ob die Behandlung der entnommenen Blutproben Auswirkungen auf die Konzentrationen beziehungsweise sogar auf die Messbarkeit von MMPs und TIMPs haben könnte. Aus diesem Anlass wurde einem Patienten mit s-IBM an einem der drei Blutentnahmetermine die vierfache Blutmenge abgenommen. Eine der vier Serumproben wurde studiengerecht, wie oben beschrieben, behandelt. Die anderen drei Serumproben wurden nach Entnahme ungekühlt zentrifugiert und

danach für 2, 4 beziehungsweise 21 Stunden bei Raumtemperatur stengelassen bevor sie bei -80 °C bis zur weiteren Verarbeitung tiefgefroren wurden.

3.9 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Daten erfolgte durch den gepaarten T-Test.

Der Mann-Whitney Test diente dem Vergleich der Ergebnisse zwischen Patientengruppe und Kontrollgruppe.

Zum Vergleich zwischen den an Tag 0 und an Tag 8 beziehungsweise 30 oder 60 gewonnenen Daten wurde ein multivarianter Wilks-Test der Signifikanz angewendet.

Als statistisch signifikant wurde $p < 0,05$ angesehen.

4 Ergebnisse

4.1 ELISA

4.1.1 Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs bei s-IBM, PM, MMN und CIDP (Tabellen 4, 5 und Diagramm 1)

S-IBM

Serumkonzentrationen von MMP-9, TIMP-1 und MMP-9/ TIMP-1

Bei den fünfzehn untersuchten s-IBM-Patienten fanden sich an Tag 0 im Durchschnitt statistisch signifikant erhöhte Serumkonzentrationen von MMP-9 und TIMP-1, verglichen mit den entsprechenden Serumkonzentrationen der gesunden Kontrollgruppe. Dabei war auch das Verhältnis von MMP-9 zu TIMP-1 statistisch signifikant erhöht und damit zugunsten von MMP-9 verschoben.

Verglichen mit Tag 0 zeigte sich an Tag 8 eine statistisch signifikant erhöhte Serumkonzentration von TIMP-1. Die durchschnittliche Serumkonzentration von MMP-9 sowie das Verhältnis von MMP-9 zu TIMP-1 waren an Tag 8 im Vergleich zu Tag 0 statistisch nicht signifikant erniedrigt.

An Tag 60 zeigte sich eine Zunahme der durchschnittlichen Serumkonzentration von MMP-9 über den Wert von Tag 0 hinaus sowie eine Abnahme der Serumkonzentration von TIMP-1 in Richtung des an Tag 0 gemessenen Wertes; beide Veränderungen waren im Vergleich zu Tag 0 statistisch nicht signifikant. Die daraus folgende Erhöhung des Verhältnisses von MMP-9 zu TIMP-1 war ebenfalls nicht von statistischer Signifikanz.

Serumkonzentrationen von MMP-2, TIMP-2 und MMP-2/ TIMP-2

Die durchschnittliche Serumkonzentration von MMP-2 an Tag 0 war bei den s-IBM-Patienten verglichen mit der Kontrollgruppe statistisch signifikant erniedrigt. Ebenso das Verhältnis von MMP-2 zu TIMP-2. Hiermit besteht die Tendenz einer Verschiebung des MMP-2/ TIMP-2-Gleichgewichtes zu Gunsten von TIMP-2. Die Serumkonzentration von TIMP-2 war zwar im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt, jedoch nicht statistisch signifikant.

Verglichen mit Tag 0 zeigte sich an Tag 8 eine statistisch signifikant erhöhte Serumkonzentration von MMP-2. Die Zunahme der durchschnittlichen Serumkonzentrationen von TIMP-2 sowie des Verhältnisses von MMP-2 zu TIMP-2 waren im Vergleich zu Tag 0 statistisch nicht signifikant.

Die durchschnittliche MMP-2-Serumkonzentration an Tag 60 war unverändert im Vergleich zu Tag 8 und damit nach wie vor statistisch signifikant erhöht. Die Abnahme der Serumkonzentration von TIMP-2 an Tag 60 im Vergleich zu Tag 0 war statistisch nicht signifikant. Die weitere Zunahme des Verhältnisses von MMP-2 zu TIMP-2 war ebenfalls statistisch nicht signifikant.

PM

Bei den vier hier untersuchten PM-Patienten wird bei der Beschreibung der durchschnittlichen Serumkonzentrationen von MMP-9, MMP-2, TIMP-1, TIMP-2 sowie der Verhältnisse MMP-

9/ TIMP-1 und MMP-2/ TIMP-2 an Tag 0, 8 und 60 aufgrund der niedrigen Fallzahl auf Aussagen bezüglich der statistischen Signifikanz verzichtet.

Serumkonzentrationen von MMP-9, TIMP-1 und MMP-9/ TIMP-1

Die durchschnittlichen Serumkonzentrationen von MMP-9 und TIMP-1 sowie das Verhältnis von MMP-9 zu TIMP-1 im Serum der vier PM-Patienten an Tag 0 waren im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht.

Die durchschnittliche Serumkonzentration von MMP-9 nahm an Tag 8 im Vergleich zu Tag 0 ab, wohingegen die von TIMP-1 zunahm. Das Verhältnis von MMP-9 zu TIMP-1 nahm folglich zugunsten von TIMP-1 ab.

An Tag 60 nahm die MMP-9-Konzentration im Serum wieder zu und die Serumkonzentration von TIMP-1 ab, wobei sowohl die MMP-9- als auch die TIMP-1-Konzentration an Tag 60 höher lagen als an Tag 0. Das Verhältnis von MMP-9 zu TIMP-1 nahm an Tag 60 zwar wieder zu, war aber weiterhin im Vergleich zu Tag 0 erniedrigt.

Serumkonzentrationen von MMP-2, TIMP-2 und MMP-2/ TIMP-2

Die durchschnittlichen Serumkonzentrationen von MMP-2 und TIMP-2 sowie das Verhältnis von MMP-2 zu TIMP-2 im Serum der vier PM-Patienten an Tag 0 waren im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt.

Die durchschnittliche Serumkonzentration von MMP-2 nahm an Tag 8 im Vergleich zu Tag 0 ab, wohingegen die von TIMP-2 zunahm. Das Verhältnis von MMP-2 zu TIMP-2 nahm zugunsten von TIMP-2 ab.

An Tag 60 nahm die MMP-2-Konzentration wieder zu und die Konzentration von TIMP-2 ab. Beide, sowohl die MMP-2- als auch TIMP-2-Serumkonzentration, erreichten an Tag 60 höhere Serumspiegel als an Tag 0. Das Verhältnis von MMP-2 zu TIMP-2 war an Tag 60 im Vergleich zu Tag 0 erhöht.

MMN

Serumkonzentrationen von MMP-9, TIMP-1 und MMP-9/ TIMP-1

Bei den elf MMN-Patienten waren an Tag 0 im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe sowohl die durchschnittliche Serumkonzentration der MMP-9 als auch des Verhältnisses MMP-9/ TIMP-1 statistisch signifikant erhöht. Die Serumkonzentration von TIMP-1 war zwar ebenfalls im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht, jedoch nicht statistisch signifikant.

Verglichen mit Tag 0 zeigten sich an Tag 8 eine statistisch nicht signifikante Abnahme der durchschnittlichen Serumkonzentration von MMP-9 sowie eine ebenfalls statistisch nicht signifikante Zunahme der durchschnittlichen Serumkonzentration von TIMP-1. Das Verhältnis von MMP-9 zu TIMP-1 war im Vergleich zu Tag 0 statistisch nicht signifikant vermindert.

An Tag 60 zeigte sich eine statistisch nicht signifikante Zunahme der durchschnittlichen Serumkonzentration von MMP-9 beziehungsweise Abnahme der von TIMP-1. Dabei lag die Serumkonzentration von TIMP-1 an Tag 60 oberhalb der von Tag 0. Die Zunahme des Verhältnisses von MMP-9 zu TIMP-1 an Tag 60 war ebenfalls nicht von statistischer Signifikanz.

Serumkonzentrationen von MMP-2, TIMP-2 und MMP-2/ TIMP-2

Die Serumkonzentration von MMP-2 an Tag 0 war bei den MMN-Patienten verglichen mit der Kontrollgruppe im Durchschnitt statistisch signifikant erniedrigt. Ebenso das Verhältnis von MMP-2 zu TIMP-2. Hiermit besteht die Tendenz einer Verschiebung des MMP-2/ TIMP-2-Gleichgewichtes zugunsten von TIMP-2. Die Serumkonzentration von TIMP-2 war im Vergleich zur Kontrollgruppe statistisch nicht signifikant erniedrigt.

Verglichen mit Tag 0 zeigte sich an Tag 8 eine statistisch signifikant erhöhte Serumkonzentration sowohl von MMP-2 als auch TIMP-2. Die Abnahme des Verhältnisses von MMP-2 zu TIMP-2 an Tag 8 war im Vergleich zu Tag 0 ebenfalls statistisch signifikant. An Tag 60 fand sich eine weitere statistisch signifikante Zunahme der durchschnittlichen Serumkonzentration von MMP-2. Die Abnahme der Serumkonzentration von TIMP-2 an Tag 60 in Richtung der TIMP-2-Serumkonzentration von Tag 0, war statistisch nicht signifikant. Die Zunahme des Verhältnisses von MMP-2 zu TIMP-2 war statistisch nicht signifikant.

CIDP

Bei den drei hier untersuchten CIDP-Patienten wird aufgrund der niedrigen Fallzahl ebenso wie bei den PM-Patienten auf Aussagen bezüglich der statistischen Signifikanz verzichtet.

Serumkonzentrationen von MMP-9, TIMP-1 und MMP-9/ TIMP-1

Die durchschnittlichen Serumkonzentrationen von MMP-9 und TIMP-1 sowie das Verhältnis von MMP-9 zu TIMP-1 im Serum der drei CIDP-Patienten an Tag 0 waren im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht.

An Tag 8 nahm die durchschnittliche Serumkonzentration von MMP-9 im Vergleich zu Tag 0 ab, wohingegen die von TIMP-1 zunahm. Das Verhältnis von MMP-9 zu TIMP-1 nahm zugunsten von TIMP-1 ab.

An Tag 60 nahm die MMP-9-Konzentration wieder zu und die TIMP-1-Konzentration ab. Das Verhältnis von MMP-9 zu TIMP-1 war an Tag 60 im Vergleich zu Tag 0 erhöht.

Serumkonzentrationen von MMP-2, TIMP-2 und MMP-2/ TIMP-2

Die durchschnittlichen Serumkonzentrationen von MMP-2 und TIMP-2 sowie das Verhältnis von MMP-2 zu TIMP-2 im Serum der drei CIDP-Patienten an Tag 0 waren im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt.

Die durchschnittliche Serumkonzentration von MMP-2 nahm sowohl an Tag 8 als auch 60 im Vergleich zu Tag 0 zu. Die Serumkonzentration von TIMP-2 nahm an Tag 8 zu und an Tag 60 wieder ab. Das Verhältnis von MMP-2 zu TIMP-2 nahm an Tag 8 zugunsten von TIMP-2 ab, an Tag 60 hingegen zugunsten von MMP-2 über den Ausgangswert von Tag 0 zu.

Tabelle 4:

MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen bei Patienten mit inflammatorischen neuromuskulären Krankheiten vor Therapie mit ivIg (Tag 0) im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe

	Patienten								Kontrollen	
	s-IBM		PM		MMN		CIDP			
Anzahl der Proben	15		4		11		3		15	
	Mittel	StF	Mittel	StF	Mittel	StF	Mittel	StF	Mittel	StF
MMP-9	11,24	10,04	8,56	8,33	9,31	5,66	19,20	17,90	4,50	1,27
p-Wert	<u>0,015</u>				<u>0,0038</u>					
TIMP-1	1,33	0,34	1,06	0,26	1,27	0,43	1,24	0,17	1,02	0,28
p-Wert	<u>0,0011</u>				n.s.					
MMP-9/ TIMP-1	8,51		8,06		7,38		15,61		4,44	
p-Wert	<u>0,0001</u>				<u>0,0001</u>					
MMP-2	20,65	4,89	23,53	6,35	18,52	3,82	18,86	3,41	28,39	7,19
p-Wert	<u>0,0018</u>				<u>0,0004</u>					
TIMP-2	2,12	0,25	2,01	0,45	1,96	0,27	1,88	0,26	2,24	0,45
p-Wert	n.s.				n.s.					
MMP-2/ TIMP-2	9,74		11,70		9,45		10,03		12,67	
p-Wert	<u>0,0001</u>				<u>0,0001</u>					

n.s. = nicht signifikant

Mittel = Mittelwert

StF = Standardfehler

Tabelle 5:

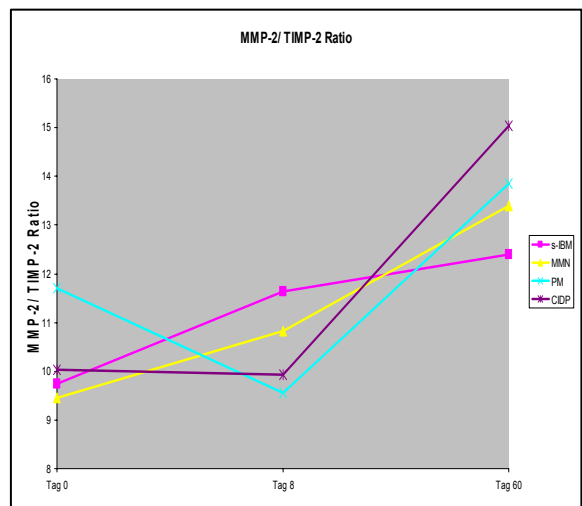
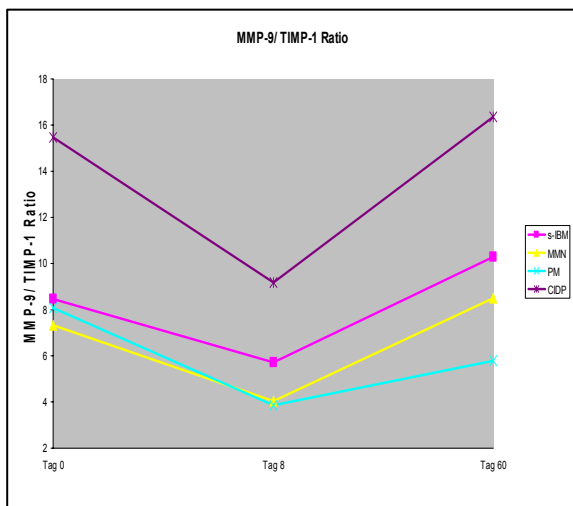
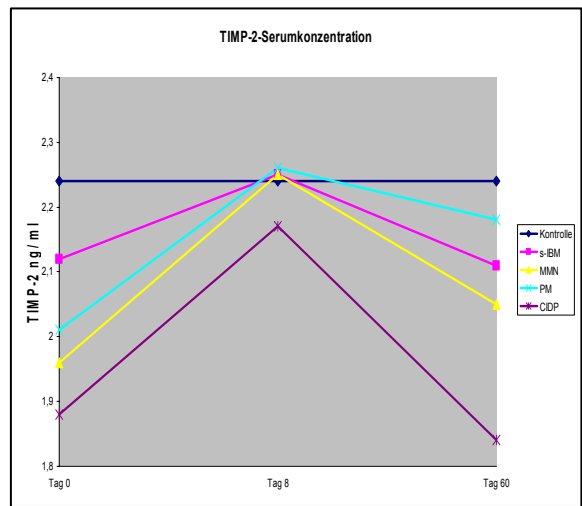
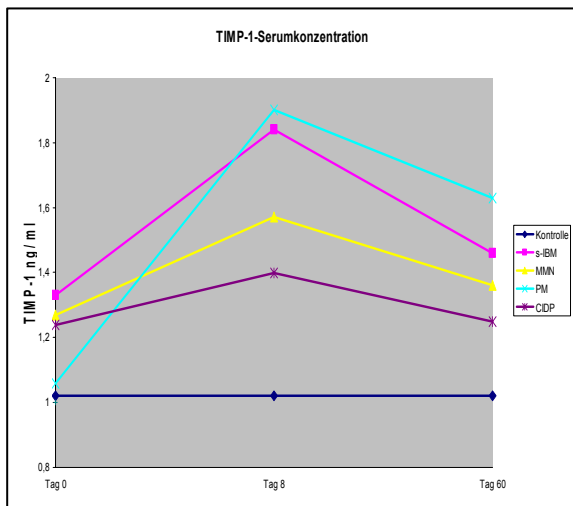
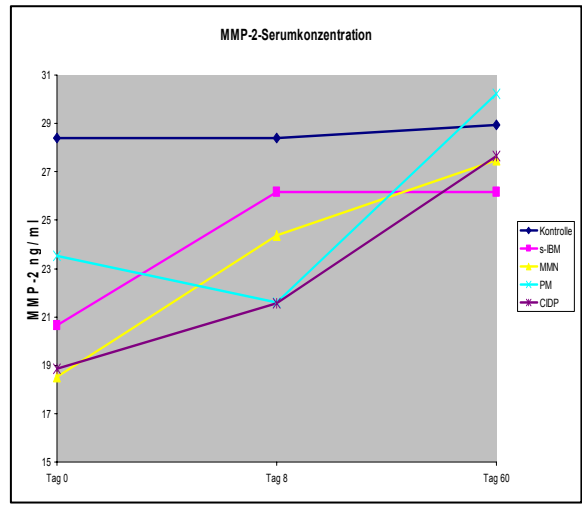
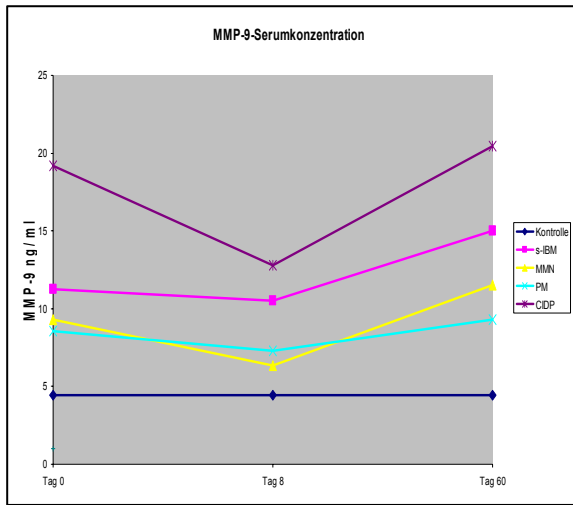
MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen an Tag 8 und 60 nach Therapie mit ivIg bei Patienten mit inflammatorischen neuromuskulären Krankheiten im Vergleich zu Tag 0

Krankheit	Anzahl der Proben	MMP-9		MMP-2		TIMP-1		TIMP-2		MMP-9/ TIMP-1	MMP-2/ TIMP-2
		Mittel	StF	Mittel	StF	Mittel	StF	Mittel	StF	Mittel	Mittel
s-IBM	15										
Tag 0		11,24	10,04	20,65	4,89	1,33	0,34	2,12	0,25	8,51	9,74
Tag 8		10,54	10,13	26,17	5,68	1,84	0,21	2,25	0,35	5,73	11,63
p-Wert		n.s.		<u>0,0081</u>		<u>0,0001</u>		n.s.		n.s.	n.s.
Tag 60		15,04	13,28	26,17	7,79	1,46	0,23	2,11	0,26	10,00	12,40
p-Wert		n.s.		<u>0,0276</u>		n.s.		n.s.		n.s.	n.s.
PM	4										
Tag 0		8,56	8,33	23,53	6,35	1,06	0,26	2,01	0,45	8,06	11,70
Tag 8		7,30	8,20	21,59	7,63	1,90	0,42	2,26	0,44	3,84	9,55
Tag 60		9,30	1,54	30,21	9,53	1,63	0,11	2,18	0,64	5,70	13,86
MMN	11										
Tag 0		9,31	5,66	18,52	3,82	1,27	0,43	1,96	0,27	7,38	9,45
Tag 8		6,34	4,88	24,38	3,68	1,57	0,59	2,25	0,35	4,04	8,49
p-Wert		n.s.		<u>0,0015</u>		n.s.		<u>0,0417</u>		n.s.	<u>0,018</u>
Tag 60		11,55	7,56	27,47	4,26	1,36	0,50	2,05	0,17	9,55	13,86
p-Wert		n.s.		<u>0,0001</u>		n.s.		n.s.		n.s.	n.s.
CIDP	3										
Tag 0		19,20	17,90	18,86	3,41	1,24	0,17	1,88	0,26	15,61	10,03
Tag 8		12,85	2,74	21,55	7,65	1,40	0,18	2,17	0,10	9,18	9,93
Tag 60		20,44	8,40	27,65	1,63	1,25	0,25	1,84	0,38	16,40	15,00

n.s. = nicht signifikant, Mittel = Mittelwert, StF = Standardfehler

Diagramm 1:

MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen an Tag 0, 8 und 60



4.1.2 Beschreibung möglicher Störfaktoren

4.1.2.1 IvIg

Wie im Methodenteil unter Punkt 3.8.1 beschrieben, wurde eine ivIg Charge mittels der „Quantikine“ Immunoassays nach demselben Prinzip wie die Serumproben der Untersuchungskollektive auf einen Gehalt an MMP-2, MMP-9 und TIMP-2 hin untersucht. Das Vorhandensein von Spuren von MMP-9, MMP-2 sowie TIMP-2 in der untersuchten ivIg Charge konnte daraufhin ausgeschlossen werden.

4.1.2.2 Behandlung der Blutproben

Wie bereits im Methodenteil unter 3.8.2 beschrieben, wurde in dieser Studie ebenfalls untersucht, ob die spezielle Behandlung der Blutproben in dieser Studie ab dem Zeitpunkt der Entnahme Auswirkungen auf die Konzentrationen beziehungsweise sogar auf die Messbarkeit von MMP-2, MMP-9 und TIMP-2 hat.

Dabei wurde festgestellt, dass sich die MMP-9-Konzentration in der Serumprobe eines s-IBM-Patienten bereits nach zweistündiger Lagerung der Serumprobe bei Raumtemperatur im Vergleich zur sofort gekühlten, sonst identischen Probe um fünf Prozent steigerte.

Die Lagerung der Probe bei Raumtemperatur um weitere zwei beziehungsweise neunzehn Stunden brachte keine weiteren Veränderungen der MMP-9-Serumkonzentration mit sich. Die Serumkonzentrationen von MMP-2 und TIMP-2 blieben sowohl nach zwei-, vier- als auch einundzwanzigstündiger Lagerung der Serumprobe bei Raumtemperatur auf demselben Level wie in der sofort gekühlten Probe.

4.1.2.3 Zusätzliche Medikation

Zusätzliche Statintherapie (Tabelle 6 und Diagramm 2)

Unter diesem Punkt werden die durchschnittlichen Serumkonzentrationen der fünf Patienten, die während der gesamten Studienperiode zusätzlich zu ivIg eine Statintherapie erhielten, mit den durchschnittlichen Serumkonzentrationen der jeweiligen Patientengesamtgruppe verglichen.

MMN

Die durchschnittliche MMP-9-Serumkonzentration bei den beiden MMN-Patienten mit einer zusätzlichen Statintherapie lag an Tag 0 über, an Tag 8 deutlich unter und an Tag 60 nur wenig über der durchschnittlichen MMP-9-Serumkonzentration der gesamten MMN-Patientengruppe. Die an Tag 8 erreichte MMP-9-Serumkonzentration entsprach nahezu der MMP-9-Serumkonzentration der Kontrollgruppe.

Die durchschnittliche Konzentration von TIMP-1 im Serum der beiden MMN-Patienten überschritt an Tag 0, 8 sowie 60 nur geringfügig die TIMP-1-Konzentration im Serum der MMN-Patientengesamtgruppe.

Die Konzentration des Verhältnisses von MMP-9 zu TIMP-1, aus dem die Konzentration der nicht an TIMP-1 gebundenen und damit freien, aktiven MMP-9 hervorgeht, lag an Tag 0 etwas oberhalb des Wertes der Gesamtgruppe. An Tag 8 und 60 jedoch lag die

Serumkonzentration der aktiven MMP-9 unterhalb des jeweiligen Wertes der Gesamtgruppe. Dabei unterschritt die Serumkonzentration der aktiven MMP-9 an Tag 8 nicht nur den Wert der Gesamtgruppe, sondern sogar den der Kontrollgruppe.

Die Modulation der MMP-9- und TIMP-1-Serumkonzentrationen sowie des Verhältnisses von MMP-9 zu TIMP-1 von Tag 0 bis 60 entsprach der der MMN-Gesamtgruppe.

Die durchschnittliche MMP-2-Serumkonzentration der beiden MMN-Patienten erreichte weder an Tag 0, 8 noch 60 eine Konzentration in Höhe der Gesamt-MMN-Gruppe.

Die Modulation der MMP-2-Konzentration ähnelte mit einer stetigen Zunahme von Tag 0 bis 60 der der Gesamtgruppe.

Die Serumkonzentration von TIMP-2 der beiden hier untersuchten Patienten unterschied sich kaum von der des Gesamtkollektivs von MMN-Patienten. Lediglich an Tag 60 kam es bei diesen beiden Patienten nicht zu einem Abfall der TIMP-2-Konzentration im Vergleich zu Tag 8. Allerdings erreichte die TIMP-2-Konzentration bei diesen beiden Patienten, anders als beim MMN-Gesamtkollektiv, nie das Niveau der Kontrollgruppe.

Das Verhältnis von MMP-2 zu TIMP-2 nahm stetig zu und erreichte an Tag 60 nahezu den Wert der gesunden Kontrolle. Dabei lag die Serumkonzentration des Verhältnisses von MMP-2 zu TIMP-2 an Tag 8 geringfügig ober- und an Tag 60 geringfügig unterhalb der Serumkonzentration von MMP-2/ TIMP-2 der Gesamt-MMN-Gruppe.

PM

Die Patientin mit PM, die zusätzlich zu ivIg eine Therapie mit einem Statin sowie mit Azathioprin erhielt, konnte eine MMP-9-Konzentration im Serum vorweisen, die die durchschnittliche MMP-9-Konzentration der PM-Patienten weit überschritt und die Grenze des mittels ELISA Messbaren erreichte. Die Modulation von Tag 0 bis 60 mit einem beachtlichen Rückgang der MMP-9-Konzentration nach dem Erhalt von ivIg an Tag 8 entsprach dem Durchschnitt.

Die Werte sowie die Modulation von TIMP-1 entsprachen sowohl an Tag 0, 8 als auch an Tag 60 ungefähr den Werten und der Modulation der durchschnittlichen TIMP-1-Serumkonzentrationen der gesamten PM-Patientengruppe.

Auch die Modulation des Quotienten MMP-9/ TIMP-1 ähnelte der des Gesamtdurchschnitts der PM-Patienten. Der Quotient war jedoch aufgrund der stark erhöhten MMP-9 beachtlich erhöht im Vergleich zur Gesamt-PM-Gruppe.

Die Höhe und die Modulation der Serumkonzentrationen von MMP-2 waren mit den durchschnittlichen MMP-2-Serumkonzentrationen aller PM-Patienten vergleichbar.

Die TIMP-2-Serumkonzentration unterschied sich lediglich in der Modulation durch eine kontinuierliche Abnahme ab Tag 0 an Stelle einer Zunahme nach ivIg an Tag 8 von der Gesamtgruppe. Die Modulation und die Höhe der Serumkonzentrationen der nicht an TIMP-2 gebundenen und damit aktiven MMP-2 entsprachen der Gesamtgruppe.

S-IBM

Die durchschnittlichen Werte der Serumkonzentrationen von MMP-9 lagen bei den beiden statintherapierten s-IBM-Patienten deutlich unterhalb des Durchschnitts der gesamten Patientengruppe mit s-IBM. Die Modulation war ungefähr gleich. Die an Tag 8 gemessene MMP-9-Konzentration unterschritt die der gesunden Kontrollgruppe beachtlich.

Die Höhe sowie die Modulation der Serumkonzentrationen von TIMP-1 unterschieden sich kaum vom Durchschnitt der gesamten s-IBM-Gruppe.

Die Modulation des MMP-9/ TIMP-1-Verhältnisses und damit der Konzentration der aktiven MMP-9 unterschied sich kaum von der des Gesamtkollektivs. Die Höhe der Serumkonzentration der aktiven MMP-9 entsprach jedoch sowohl an Tag 0 als auch 60 dem Kontrollwert und lag damit unter dem Durchschnitt der s-IBM-Gesamtgruppe. An Tag 8 wurde der Kontrollwert sogar unterschritten.

Anders als in der gesamten s-IBM-Patientengruppe nahm bei diesen beiden s-IBM-Patienten die durchschnittliche Serumkonzentration von MMP-2 von Tag 0 bis 60 geringfügig ab anstatt deutlich zuzunehmen. Die Höhe der MMP-2-Serumkonzentration entsprach weitgehend der der Gesamtpatientengruppe.

Die Höhe sowie die Modulation der Konzentrationen von TIMP-2 ähnelten dem Durchschnitt der Gesamt-s-IBM-Gruppe.

Das Verhältnis von MMP-2 zu TIMP-2 war an Tag 0 dem der gesunden Kontrollgruppe gleichzusetzen, lag also etwas höher als das der s-IBM-Patientengesamtgruppe. An Tag 8 nahm das MMP-2/ TIMP-2-Verhältnis unter den Gesamtdurchschnitt ab, um bis Tag 60 weit über das durchschnittliche Verhältnis der s-IBM-Patientengruppe zuzunehmen.

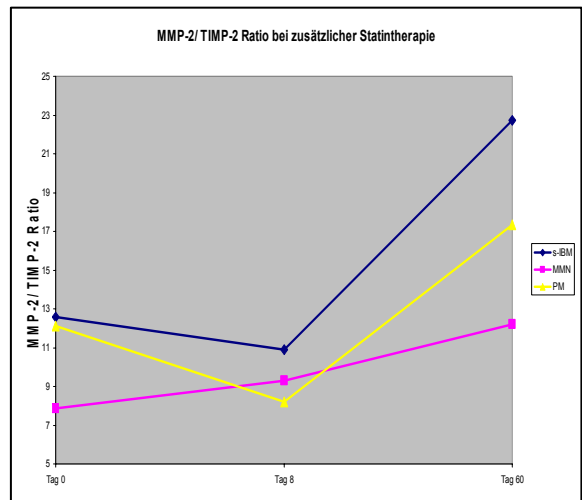
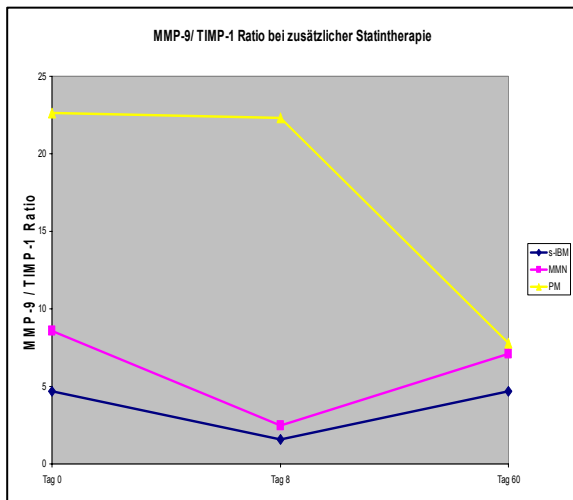
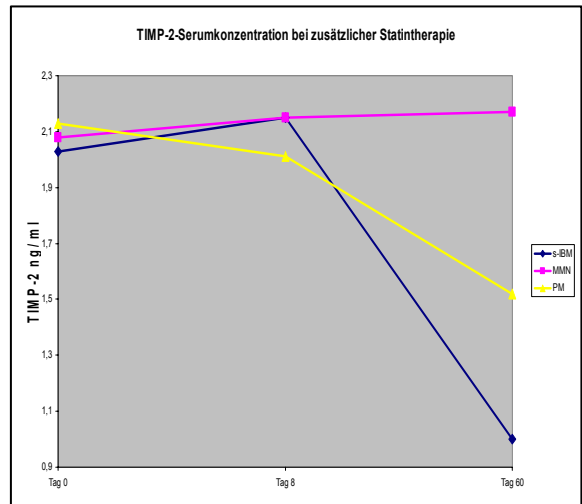
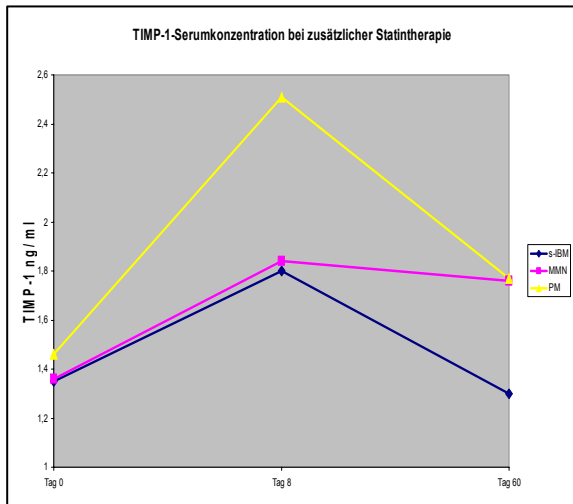
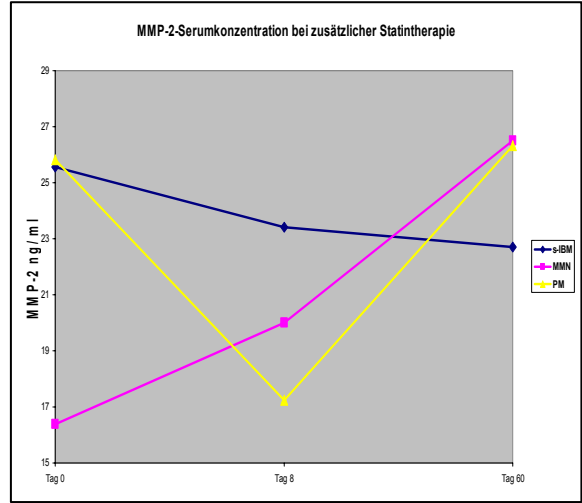
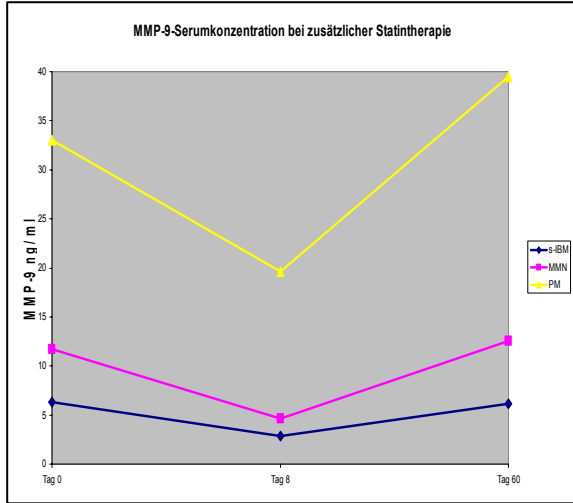
Tabelle 6:

MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen bei Patienten mit zusätzlicher Statintherapie

Krankheit	MMP-9	MMP-2	TIMP-1	TIMP-2	MMP-9/ TIMP-1	MMP-2/ TIMP-2
	Mittel	Mittel	Mittel	Mittel	Mittel	Mittel
s-IBM (2 Patienten)						
Tag 0	6,29	25,56	1,35	2,03	4,66	12,60
Tag 8	2,88	23,41	1,80	2,15	1,60	10,89
Tag 60	6,12	22,71	1,30	1,00	4,71	22,71
PM (1 Patient)						
Tag 0	33,02	25,81	1,46	2,13	22,62	12,12
Tag 8	19,58	17,24	2,51	2,01	7,80	8,21
Tag 60	39,50	26,32	1,77	1,52	22,32	17,32
MMN (2 Patienten)						
Tag 0	11,69	16,38	1,36	2,08	8,60	7,88
Tag 8	4,59	20,00	1,84	2,15	2,49	9,30
Tag 60	12,51	26,50	1,76	2,17	7,11	12,21

Diagramm 2:

MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen bei Patienten mit zusätzlicher Statintherapie



Zusätzliche Therapie mit Immunmodulatoren (Tabelle 7 und Diagramm 3)

Im Folgenden wird dargestellt, ob die gemessenen Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs bei den fünf Patienten, die zusätzlich zu ivIg eine Therapie mit Corticosteroiden beziehungsweise Azathioprin erhielten, entscheidend von den bei der jeweiligen Gesamtguppe gemessenen Serumkonzentrationen abwichen.

CIDP

Einer der Patienten mit CIDP erhielt eine zusätzliche Therapie mit Corticosteroiden. Die Höhe und die Modulation der MMP-9-Serumkonzentrationen dieses Patienten waren vergleichbar mit der Höhe und der Modulation der MMP-9-Serumkonzentrationen der CIDP-Gesamtpatientengruppe. Lediglich an Tag 0 war die MMP-9-Serumkonzentration stark erhöht im Vergleich sowohl zur gesunden Kontrolle als auch zum Durchschnitt der CIDP-Patienten an Tag 0.

Die Höhe der Serumkonzentration von TIMP-1 hielt sich bei dem CIDP-Patienten im Bereich des Gesamtdurchschnitts auf, nahm jedoch kontinuierlich von Tag 0 bis 60 leicht ab, anstatt wie bei der CIDP-Gesamtpatientengruppe an Tag 8 nach ivIg kurzzeitig zuzunehmen.

Der Quotient MMP-9/ TIMP-1 entsprach in seiner Höhe und in seiner Modulation dem Gesamtdurchschnitt. Nur an Tag 0 war das Verhältnis stark zugunsten von MMP-9 verschoben aufgrund der beachtlichen Erhöhung der MMP-9-Konzentration an Tag 0.

Die Höhe der Serumkonzentrationen von MMP-2 und TIMP-2 sowie deren Quotient waren durchschnittlich. In Hinsicht auf die Modulation war an Tag 8 eine Zunahme der Konzentration der aktiven MMP-2 an Stelle einer Abnahme bemerkenswert.

PM

Die PM-Patientin mit zusätzlicher immunmodulatorischer Therapie wurde bereits weiter oben beschrieben. Es ist die einzige Patientin der Studie, die sowohl eine zusätzliche Therapie mit einem Statin als auch Azathioprin erhielt.

S-IBM

Die Modulation der durchschnittlichen Serumkonzentrationen von MMP-9 unterschied sich bei den drei hier betrachteten s-IBM-Patienten nur wenig von der des Gesamtkollektivs der s-IBM-Patienten. Allerdings lagen die Werte an allen drei Messtagen zwei- bis dreimal höher als beim Gesamtkollektiv von s-IBM-Patienten und damit sechs- bis siebenmal höher als bei der gesunden Kontrollgruppe. An dieser beachtlichen durchschnittlichen Erhöhung der MMP-9-Serumkonzentrationen waren maßgeblich die beiden s-IBM-Patienten mit zusätzlicher Corticosteroidtherapie beteiligt. Der s-IBM-Patient mit zusätzlicher Azathioprintherapie wies weitgehend dem Gesamtdurchschnitt entsprechende MMP-9-Serumkonzentrationen auf. Die Modulation und die Höhe der TIMP-1-Serumkonzentrationen entsprachen ungefähr dem Gesamtdurchschnitt.

Die Modulation des Verhältnisses von MMP-9 zu TIMP-1 war an allen drei Messtagen vergleichbar mit der des Gesamtdurchschnitts, jedoch aufgrund der stark erhöhten MMP-9-Konzentrationen beachtlich in Richtung MMP-9 verschoben. Die aktive MMP-9 wies an allen drei Messtagen zwei- bis dreifach erhöhte Serumkonzentrationen auf im Vergleich zur Gesamt-s-IBM-Gruppe.

Die MMP-2-Konzentrationen sowie die Quotienten MMP-2/ TIMP-2 im Serum der drei Patienten verhielten sich weitgehend wie die der Gesamt-s-IBM-Gruppe. Die TIMP-2-Serumkonzentrationen unterschieden sich lediglich in der Modulation von der Gesamtgruppe durch eine kontinuierliche Abnahme ab Tag 0 an Stelle einer vorübergehenden Zunahme nach ivIg an Tag 8.

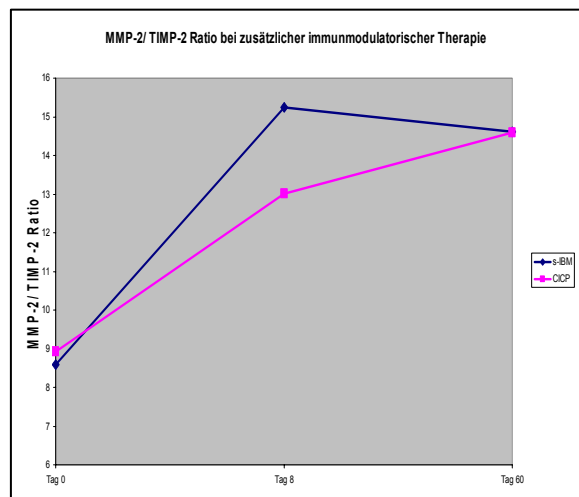
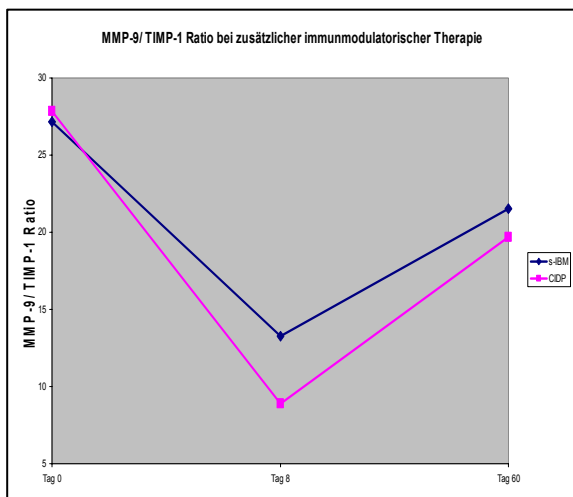
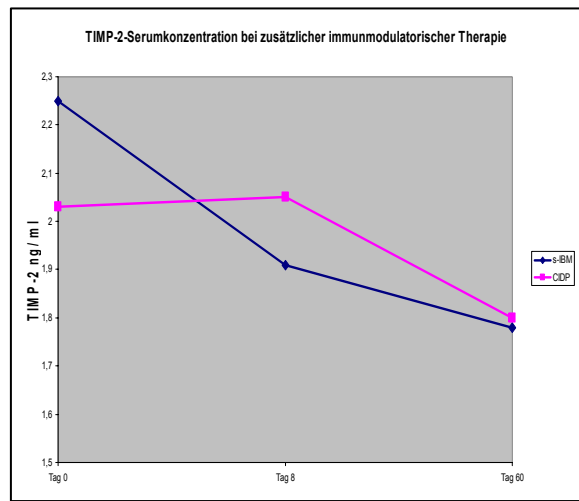
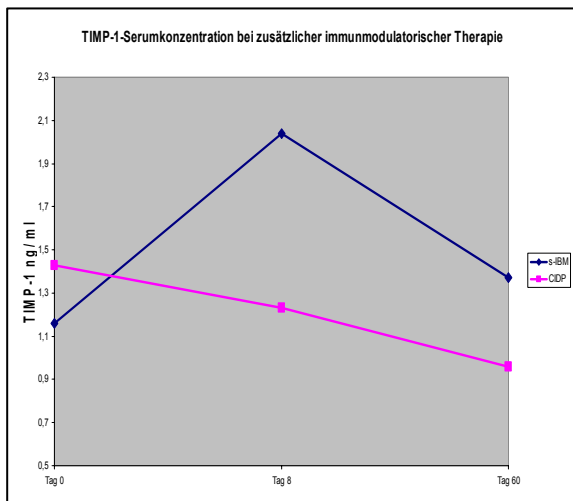
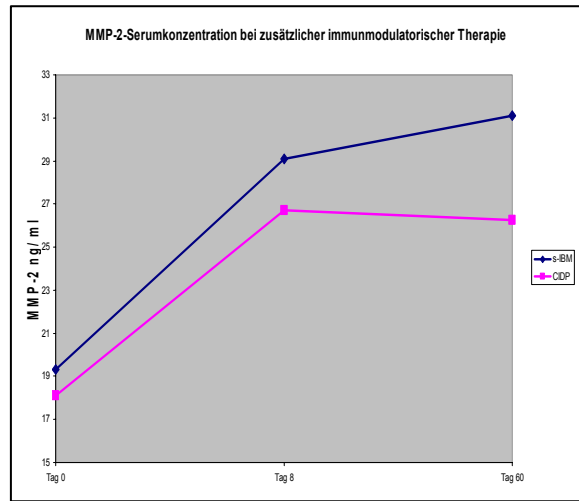
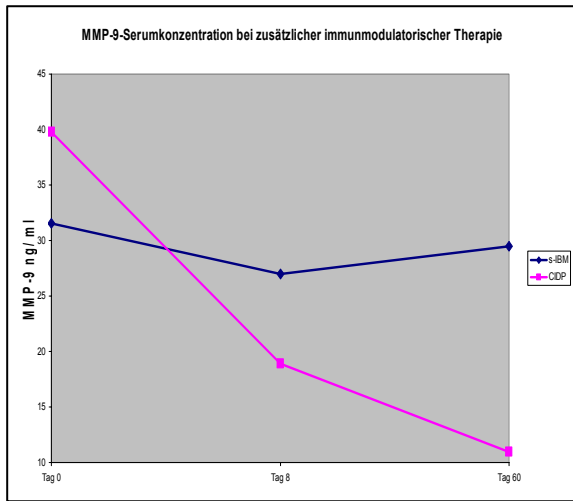
Tabelle 7:

MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen bei Patienten mit zusätzlicher immunmodulatorischer Therapie

Krankheit	MMP-9	MMP-2	TIMP-1	TIMP-2	MMP-9/ TIMP-1	MMP-2/ TIMP-2
	Mittel	Mittel	Mittel	Mittel	Mittel	Mittel
s-IBM (3 Patienten)						
Tag 0	31,52	19,31	1,16	2,25	27,17	8,58
Tag 8	27,00	29,10	2,04	1,91	13,24	15,24
Tag 60	29,52	31,11	1,37	1,78	21,55	14,61
CIDP (1 Patient)						
Tag 0	39,80	18,10	1,43	2,03	27,83	8,92
Tag 8	10,93	26,70	1,23	2,05	8,89	13,02
Tag 60	18,91	26,25	0,96	1,80	19,70	14,58

Diagramm 3:

MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen bei Patienten mit zusätzlicher immunmodulatorischer Therapie



4.2 Klinische Untersuchung

4.2.1 Klinik anhand von MRC, NSS und Angelini bei s-IBM, PM, MMN und CIDP (Tabelle 8 und Diagramm 4)

Im folgenden Abschnitt wird der durchschnittliche klinische Verlauf jeder der vier untersuchten Patientengruppen von Tag 0 über Tag 8 und 30 bis Tag 60 anhand der oben bereits definierten Scores beschrieben (Tabelle 8, Diagramm 4).

Die Tabellen 8 und 15 sowie die Diagramme 4 geben zudem Aufschluss über die Höhe der in den vier Patientengruppen erreichten Punktzahlen. Die Unterschiede in den an Tag 0, 8, 30 und 60 erreichten Punktzahlen waren bei keiner der vier Patientengruppen statistisch signifikant.

S-IBM

Bei der s-IBM-Patientengruppe zeigte sich eine minimale Zunahme der Muskelkraft im MRC Score nach der Verabreichung von ivIg an Tag 8 bis Tag 30. Die durchschnittliche Muskelkraft der s-IBM-Patienten an Tag 60 lag wenig unterhalb des Ausgangswertes (Tag 0). Ähnliche Ergebnisse fanden sich bei der Auswertung des Angelini Score sowie des NSS, wobei die s-IBM-Patienten im NSS an Tag 60 eine etwas höhere durchschnittliche Punktzahl erreichen konnten als an Tag 0.

PM

Bei der Gruppe der PM-Patienten zeigte sich im MRC Score eine minimale Zunahme der Muskelkraft nach der Verabreichung von ivIg sowohl an Tag 8 als auch 30. Die durchschnittliche Muskelkraft an Tag 60 lag unterhalb des Ausgangswertes von Tag 0. Ähnliche Ergebnisse fanden sich bei der Auswertung des Angelini Score. Im NSS zeigte sich keine Veränderung der Klinik an Tag 8 gegenüber Tag 0. An Tag 30 sowie 60 konnten im NSS höhere Punktzahlen erreicht werden als an Tag 0 und 8. Allerdings war an Tag 60 wieder eine beginnende Verschlechterung der Klinik in Richtung auf den Ausgangswert von Tag 0 erkennbar.

MMN

Bei der MMN-Patientengruppe zeigten sich im MRC Score eine Zunahme der Muskelkraft an Tag 8 und 30 sowie ein Abfall der Kraft an Tag 60 unter das Ausgangsniveau von Tag 0. Die Ergebnisse im Angelini Score blieben von Tag 0 über Tag 8 bis Tag 30 stabil. An Tag 60 erfolgte eine geringe Verschlechterung der Klinik im Angelini Score unter das Ausgangsniveau.

Bis auf eine geringfügige Verbesserung an Tag 30, blieben die mit dem NSS erfassten klinischen Fähigkeiten über den gesamten Studienzeitraum in dieser Gruppe nahezu unverändert.

CIDP

Bei den CIDP-Patienten zeigte sich im MRC Score eine ordentliche Zunahme der Muskelkraft an Tag 8 und 30 im Vergleich zu Tag 0. An Tag 60 fiel die durchschnittliche Muskelkraft wieder unter das Ausgangsniveau von Tag 0.

Die im Angelini Score und NSS erzielten Ergebnisse blieben weitgehend unverändert bis auf eine geringfügige Verbesserung der Ergebnisse vor allem an Tag 30.

Tabelle 8:

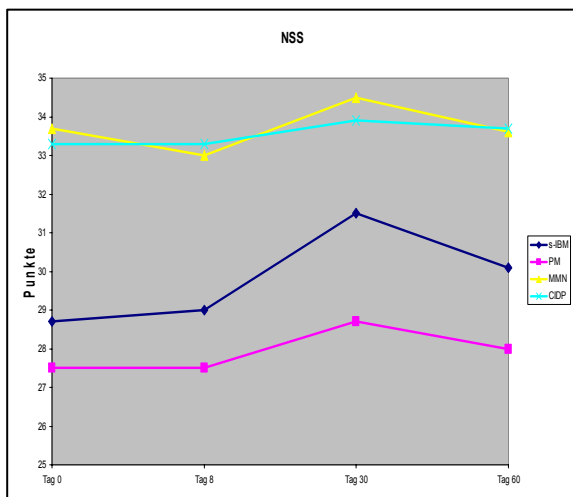
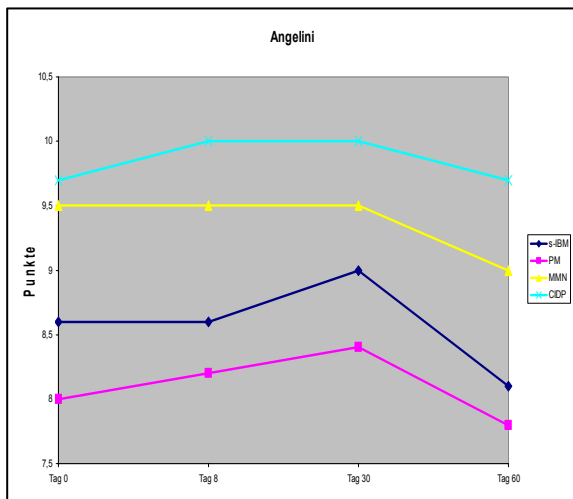
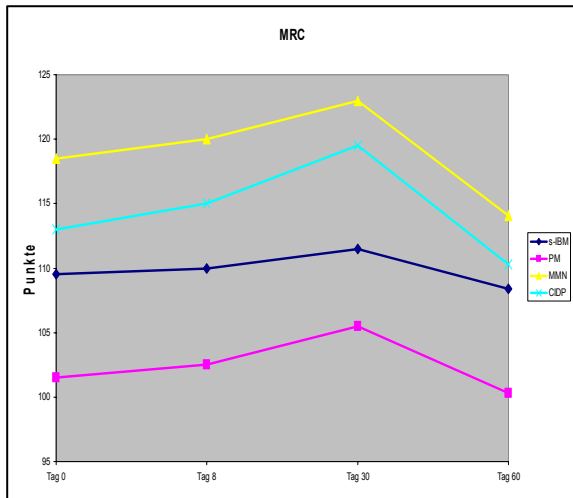
Veränderungen der klinischen Symptomatik nach Therapie mit ivIg bei Patienten mit neuromuskulären Erkrankungen

Krankheit	s-IBM		PM		MMN		CIDP	
Anzahl Patienten	15		4		11		3	
	Mittel	StF	Mittel	StF	Mittel	StF	Mittel	StF
MRC Sum Score*								
Tag 0	109,5	7,5	101,5	5,5	118,5	7,5	113,0	4,5
Tag 8	110,0	5,0	102,5	6,0	120,0	4,5	115,0	5,0
Tag 30	111,5	5,5	105,5	4,5	123,0	6,0	119,5	7,0
Tag 60	108,4	6,5	100,3	3,5	114,1	5,5	110,3	2,5
Angelini Score*								
Tag 0	8,6	0,4	8,0	0,2	9,5	0,3	9,7	0,5
Tag 8	8,6	0,2	8,2	0,2	9,5	0,1	10,0	0,3
Tag 30	9,0	0,5	8,4	0,1	9,5	0,5	10,0	0,4
Tag 60	8,1	0,4	7,8	0,3	9,0	0,5	9,7	0,4
NSS Dalakas*								
Tag 0	28,7	0,2	27,5	0,4	33,7	0,7	33,3	0,1
Tag 8	29,0	0,7	27,5	0,9	33,0	0,4	33,3	0,8
Tag 30	31,5	0,9	28,7	0,6	34,5	0,6	33,9	0,6
Tag 60	30,1	0,7	28,0	0,4	33,6	0,7	33,7	0,5

* alle Unterschiede sind statistisch nicht signifikant (p -Wert > 0.05)

Diagramm 4:

Veränderungen der klinischen Symptomatik nach Therapie mit ivIg bei Patienten mit neuromuskulären Erkrankungen



4.2.2 Beschreibung möglicher Störfaktoren

Zusätzliche Medikation aus einem Statin (Tabelle 9, Diagramm 5)

Unter diesem Punkt wird beschrieben, wie sich die Klinik der fünf Patienten (2 MMN, 1 PM, 2 s-IBM), die zusätzlich zu ivIg eine Statintherapie erhielten, im Vergleich zu der jeweiligen Gesamtgruppe verhielt.

MMN

Die beiden MMN-Patienten mit zusätzlicher Statintherapie erreichten an Tag 0, 8 und 60 geringfügig höhere Durchschnittswerte im MRC Score als die Gesamtgruppe der MMN-Patienten. Die durchschnittlich erreichten Punkte im Angelini Score entsprachen an allen vier Messtagen weitgehend der Gesamtgruppe der MMN-Patienten. Im NSS konnten an allen vier Tagen 0, 8, 30 und 60 nur unterdurchschnittlich hohe Ergebnisse im Vergleich zur Gesamt-MMN-Gruppe erzielt werden.

Der klinische Verlauf entsprach in den drei Scores im Großen und Ganzen dem der Gesamt-MMN-Gruppe.

PM

Die durchschnittlichen Ergebnisse in den klinischen Scores der PM-Patientin mit sowohl zusätzlicher Statin- als auch Azathioprintherapie lagen weitgehend an allen vier Messtagen unterhalb des Durchschnitts der Gesamtgruppe der PM-Patienten.

Der klinische Verlauf entsprach in den drei Scores im Großen und Ganzen dem der Gesamt-PM-Gruppe.

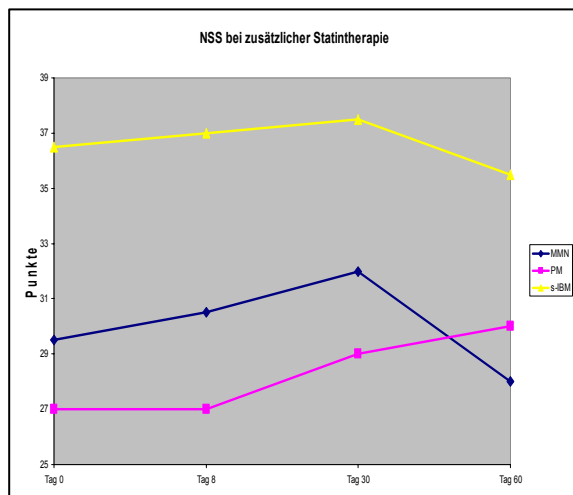
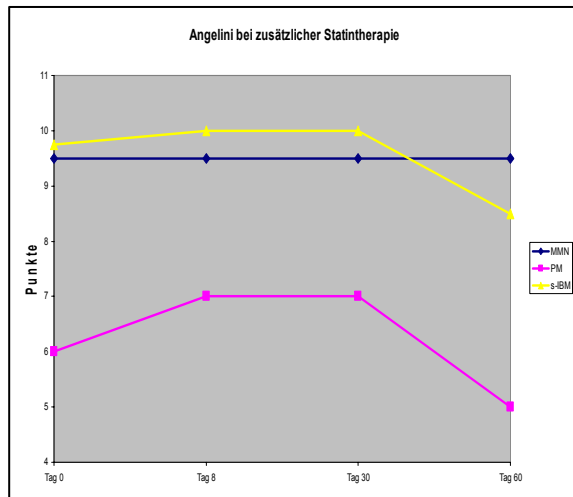
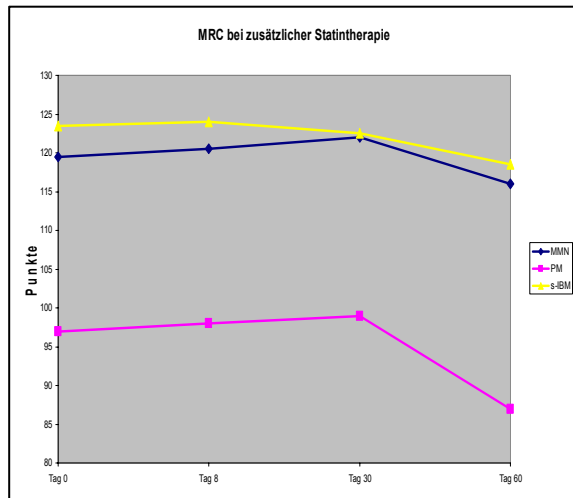
S-IBM

Die zwei s-IBM-Patienten mit zusätzlicher Statintherapie erreichten in allen drei klinischen Scores beachtlich höhere Durchschnittswerte als das Gesamtkollektiv der s-IBM-Patienten.

Der klinische Verlauf unterschied sich in den drei Scores nur minimal von dem der Gesamt-s-IBM-Gruppe.

Tabelle 9: Klinischer Verlauf der Patienten mit zusätzlicher Statintherapie

	MMN	PM	s-IBM
Anzahl Patienten	2	1	2
	Mittel	Mittel	Mittel
MRC Sum Score			
Tag 0	119,5	97	123,5
Tag 8	120,5	98	124,0
Tag 30	122,0	99	122,5
Tag 60	116,0	87	118,5
Angelini Score			
Tag 0	9,5	6	9,8
Tag 8	9,5	7	10,0
Tag 30	9,5	7	10,0
Tag 60	9,5	5	8,5
NSS Dalakas			
Tag 0	29,5	27	36,5
Tag 8	30,5	27	37,0
Tag 30	32,0	29	37,5
Tag 60	28,0	30	35,5

Diagramm 5: Klinischer Verlauf der Patienten mit zusätzlicher Statintherapie

Zusätzliche Medikation aus einem Immunmodulator (Tabelle 10, Diagramm 6)

Mit Hilfe des unter diesem Punkt folgenden Vergleichs zwischen den fünf Patienten, die eine zusätzliche immunmodulatorische Therapie (Azathioprin oder Corticosteroid) erhielten, und der jeweiligen Gesamt-Patientengruppe, soll später ein möglicher Einfluss von Corticosteroiden oder Azathioprin auf den klinischen Verlauf diskutiert werden.

CIDP

Der CIDP-Patient mit einer zusätzlichen Corticosteroidtherapie erreichte in allen drei klinischen Scores beachtlich höhere Punktzahlen als das Gesamtkollektiv der CIDP-Patienten. Der klinische Verlauf entsprach in den drei Scores im Großen und Ganzen dem der Gesamt-CIDP-Gruppe.

PM

Der klinische Verlauf dieser Patientin wurde bereits weiter oben unter 4.2.2 beschrieben.

S-IBM

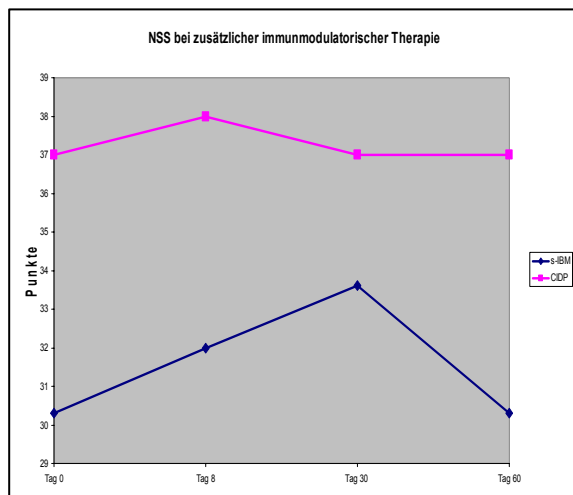
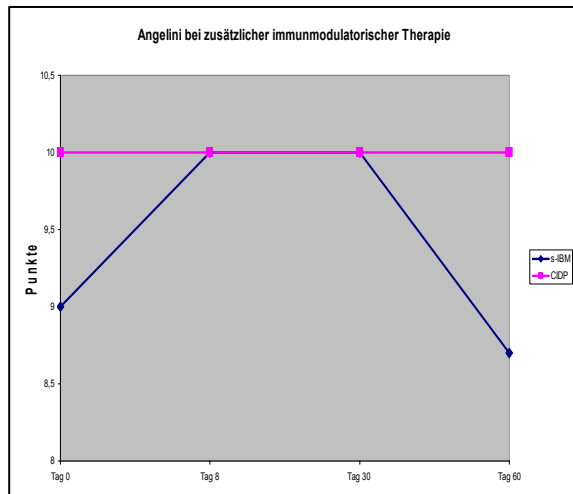
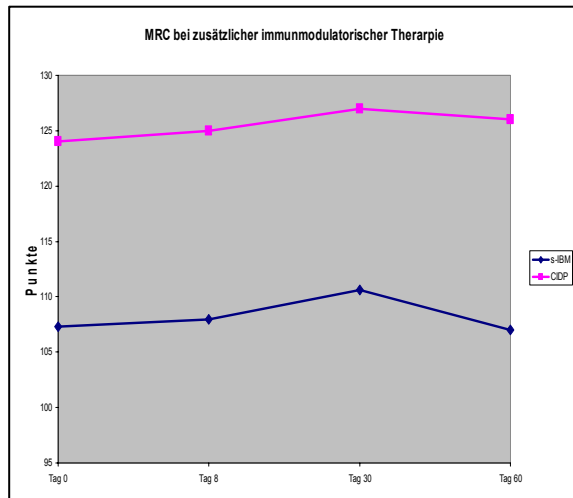
Die drei s-IBM-Patienten mit zusätzlicher immunmodulatorischer Therapie erreichten an allen vier Untersuchungstagen im MRC Summenscore geringfügig niedrigere durchschnittliche Punktzahlen als das Gesamtkollektiv der s-IBM-Patienten. Im Angelini Score und NSS jedoch konnten im Durchschnitt höhere Punktzahlen erzielt werden.

Zwei dieser drei Patienten erhielten eine zusätzliche Corticosteroidtherapie, einer eine zusätzliche Therapie mit Azathioprin. Bei getrennter Betrachtung dieser drei Patienten fiel auf, dass der s-IBM-Patient mit zusätzlicher Azathioprintherapie im Vergleich zur Gesamtpatientengruppe überdurchschnittlich hohe Punktzahlen in allen drei klinischen Scores erreichte. Die beiden Patienten mit der zusätzlichen Corticosteroidtherapie erzielten in MRC, Angelini sowie NSS im Vergleich zur s-IBM-Gesamtpatientengruppe nur unterdurchschnittlich viele Punkte.

Der klinische Verlauf unterschied sich bei allen drei s-IBM-Patienten in den drei Scores nur minimal von dem der Gesamt-s-IBM-Gruppe.

Tabelle 10: Klinischer Verlauf bei Patienten mit immunmodulatorischer Therapie

	CIDP	s-IBM
Anzahl Patienten	1	3
	Mittel	Mittel
MRC Sum Score		
Tag 0	124	107,3
Tag 8	125	108,0
Tag 30	127	110,6
Tag 60	126	107,0
Angelini Score		
Tag 0	10	9,0
Tag 8	10	10,0
Tag 30	10	10,0
Tag 60	10	8,7
NSS Dalakas		
Tag 0	37	30,3
Tag 8	38	32,0
Tag 30	37	33,6
Tag 60	37	30,3

Diagramm 6: Klinischer Verlauf bei Patienten mit immunmodulatorischer Therapie

4.3 Serum-Creatinkinase (CK)

4.3.1 Aktivität der Serum-CK bei s-IBM und PM (Tabelle 11)

An Tag 0 und 60 wurde, im Rahmen einer notwendigen stationären Aufnahme, die Aktivität der Creatinkinase (CK) im Serum der s-IBM- und PM-Patienten bestimmt.

S-IBM

An Tag 0 konnte bei der Patientengruppe mit s-IBM ein durchschnittlich deutlich erhöhter CK-Wert gemessen werden.

An Tag 60 blieb die durchschnittliche CK nahezu unverändert hoch; es konnte lediglich eine geringfügige Abnahme im Vergleich zu Tag 0 festgestellt werden.

PM

Bei der Patientengruppe mit PM konnte an Tag 0 ein durchschnittlich deutlich erhöhter CK-Wert gemessen werden.

An Tag 60 nahm die durchschnittliche CK im Vergleich zu Tag 0 geringfügig zu.

Tabelle 11: Aktivität der Serum-CK bei PM und s-IBM

	PM		s-IBM	
Anzahl Patienten	4		15	
	Mittel	StF	Mittel	StF
CK Tag 0	521	125,3	476	60,8
CK Tag 60	592	208,0	461	60,0

4.3.2 Beschreibung möglicher Störfaktoren

Zusätzliche Medikation aus einem Statin (Tabelle 12)

Im Gegensatz zur PM-Gesamtgruppe, lagen die CK-Werte der PM-Patientin mit zusätzlicher Statin- und Azathioprintherapie sowohl an Tag 0 als auch 60 nahezu im Normbereich.

Die gemessenen durchschnittlichen CK-Aktivitäten der beiden s-IBM-Patienten mit zusätzlicher Statintherapie lagen an beiden Messtagen gleich bleibend unterhalb des Gesamtdurchschnitts.

Tabelle 12: Aktivität der Serum-CK bei den Patienten mit zusätzlicher Statintherapie

	PM	s-IBM
Anzahl Patienten	1	2
	Mittel	Mittel
CK Tag 0	207	381
CK Tag 60	185	379

Zusätzliche Medikation aus einem Immunmodulator (Tabelle 13, 14)

Die CK-Serumaktivitäten der PM-Patientin, die eine zusätzliche Therapie mit Azathioprin und einem Statin bekam, wurden bereits unter dem letzten Punkt beschrieben. Die durchschnittlichen im Serum gemessenen CK-Aktivitäten der drei s-IBM-Patienten, die eine zusätzliche immunmodulatorische Therapie erhielten, spiegelten exakt den Gesamtdurchschnitt der s-IBM-Patienten wider.

Tabelle 13:

Aktivität der Serum-CK bei den Patienten mit zusätzlicher immunmodulatorischer Therapie

	PM	s-IBM
Anzahl Patienten	1	3
	Mittel	Mittel
CK Tag 0	207	462
CK Tag 60	185	453

Bei genauerer Betrachtung dieser drei s-IBM-Patienten fiel auf, dass die beiden s-IBM-Patienten mit der zusätzlichen Corticosteroidtherapie stabil unterdurchschnittliche Serum-CK-Aktivitäten im Vergleich zur Gesamt-s-IBM-Gruppe aufwiesen, wohingegen der s-IBM-Patient mit der Azathioprintherapie deutlich überdurchschnittlich hohe Serum-CK-Aktivitäten erreichte (Tabelle 14).

Tabelle 14:

Aktivität der Serum-CK bei den drei s-IBM-Patienten mit zusätzlicher immunmodulatorischer Therapie

	Azathioprin	Corticosteroide
Anzahl Patienten	1	2
	Mittel	Mittel
CK Tag 0	729	329
CK Tag 60	735	312

5 Diskussion

Im Folgenden werden die vor und nach Therapie mit ivIg gemessenen Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs sowie die erhobenen klinischen Befunde mit den Ergebnissen anderer Studiengruppen verglichen.

Es wird diskutiert, ob ein direkter oder indirekter Einfluss von ivIg auf MMPs und/ oder TIMPs besteht und, ob MMPs und TIMPs im Serum Parameter für das klinische Ansprechen auf ivIg sowie für den Verlauf und die Intensität der vier hier untersuchten Erkrankungen darstellen.

5.1 Diskussion der Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs bei s-IBM, PM, MMN und CIDP

MMP-9, TIMP-1 und MMP-9/ TIMP-1

Bei allen Patienten waren im Vergleich zur Kontrollgruppe vor der Gabe von ivIg (Tag 0) die MMP-9-Serumkonzentrationen sowie die Verhältnisse MMP-9/ TIMP-1 erhöht. Statistisch signifikant waren die Unterschiede bei den Patienten mit MMN und s-IBM. Die Fallzahlen der beiden Patientengruppen mit CIDP und PM waren zu gering, um eine Aussage bezüglich der statistischen Signifikanz machen zu können.

Die in dieser Studie verwendeten ELISAs erfassten sowohl Pro-MMP-9 als auch aktives MMP-9 ohne zwischen der aktiven und Pro-Form zu differenzieren.

In Vorgängerstudien konnte bereits gezeigt werden, dass die Konzentration der Pro- und der aktiven Form von MMP-9 im Serum von Patienten mit amyotropher Lateralsklerose [Beuche, 2000; Demestre, 2004], Guillain-Barré-Syndrom [Demestre, 2004; Creange, 1999] oder Multipler Sklerose im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe erhöht ist [Mirowska, 2004]. Darüber hinaus konnte in Biopsien des Nervus suralis von CIDP-Patienten eine erhöhte Aktivität von sowohl MMP-9 als auch -2 gefunden werden [Leppert, 1999]. Eine Beteiligung der MMPs an der Pathogenese dieser Erkrankungen ist sehr wahrscheinlich [Leppert, 1999; Kieseier, 2001; Mirowska, 2004]. Eine Beteiligung an der Pathogenese inflammatorischer Myopathien konnte in zahlreichen Studien bereits belegt werden [Choi, 2000; Kieseier, 2001; Schoser, 2002; Pearson, 1993; Carmeli, 2004]. MMP-9 wird stark in atrophisierten Muskelfasern im Rahmen aller entzündlichen Myopathien exprimiert [Schoser, 2002].

Es wird angenommen, dass bei einer Entzündung von Nerv oder Muskel Entzündungszellen aus dem Blut in das entzündete Gewebe einwandern. Diese Entzündungszellen, wie beispielsweise aktivierte Makrophagen, T-Lymphozyten und Neutrophile, produzieren und aktivieren in übermäßigem Ausmaß MMP-9 in Muskel- und Nervenfasern [La Fleur, 1996; Siebert, 2001; Demestre, 2004]. Darüber hinaus kommt es in Muskelfasern durch ortständige Zellen wie Myo-, Fibroblasten und Satellitenzellen zu einer übermäßigen Expression von MMP-9 [Carmeli, 2004]. Durch die Zerstörung der ECM durch die MMPs wiederum, wird die Lymphozytenadhäsion an Endothelien erleichtert sowie die T-Zell-vermittelte Zytotoxizität gefördert [Carmeli, 2004]. Durch das Fortschreiten der Entzündungsreaktion mit unphysiologisch hohen MMP-Konzentrationen kommt es schließlich zum Untergang der Endothelien und Blut-Nerven-Schranke [La Fleur, 1996; Siebert, 2001; Demestre, 2004; Kieseier, 2001]. Daraufhin tritt die freigesetzte MMP-9 möglicherweise aus dem Muskel-beziehungsweise Nervengewebe in die Blutbahn über.

Sowohl eine pathologisch exzessive Produktion von MMP-9 als auch eine verminderte Produktion von TIMP-1 oder Kontrolle durch TIMP-1 führen zu einem Ungleichgewicht zwischen MMP-9 und ihrem Inhibitor TIMP-1 [Demestre, 2004].

Die im Serum gemessene Konzentration von TIMP-1 war bei allen vier hier untersuchten Patientengruppen an Tag 0 im Vergleich zur Kontrollgruppe erhöht, bei der s-IBM-Gruppe sogar statistisch signifikant. Vorgängerstudien fanden ebenfalls eine erhöhte TIMP-1-Konzentration im Serum und Liquor von ALS-Patienten [Lorenzl, 2003; Beuche, 2000]. Allerdings waren die TIMP-1-Serumkonzentrationen an Tag 0 im Vergleich zum TIMP-1-Kontrollwert und im Verhältnis zu den im Vergleich zur Kontrolle ordentlich erhöhten MMP-9-Serumkonzentrationen so geringfügig erhöht, dass der MMP-9/ TIMP-1-Quotient bei allen vier Patientengruppen oberhalb des Kontrollwertes lag. In der Gruppe der s-IBM- und MMN-Patienten war der Unterschied des MMP-9/ TIMP-1-Quotienten zur Kontrollgruppe sogar statistisch signifikant. Damit war die Konzentration an ungebundener, freier und damit aktiver MMP-9 im Serum im Vergleich zur Kontrolle an Tag 0 in allen vier Patientengruppen erhöht. Diese nicht an TIMP-1 gebundene, aktive MMP-9 stellt den eigentlich schädigenden Faktor bei neurodegenerativen Störungen dar [Lorenzl, 2003; Demestre, 2004; Carmeli, 2004]. Bei Betrachtung des gesamten Studienzeitraums waren die durchschnittlichen MMP-9- und TIMP-1-Serumkonzentrationen auch an Tag 8 und 60 in allen vier Patientengruppen über den Kontrollwert erhöht. Abgesehen von der Erhöhung sowohl der MMP-9- als auch TIMP-1-Serumkonzentrationen über den Kontrollwert an allen drei Messtagen, verhielt sich die Modulation der TIMP-1-Serumkonzentrationen mit einer Zunahme an Tag 8 und einer Abnahme an Tag 60 genau umgekehrt zu der der MMP-9-Serumkonzentrationen. Die Expression von TIMP-1 wird einerseits gleichermaßen wie die von MMP-9 von Zytokinen, wie zum Beispiel Interleukinen, induziert [Lambert, 2004]. Andererseits bremst beispielsweise TGF- β (transforming growth factor- β) die Expression von MMPs, während er die von TIMPs steigert [Lambert, 2004]. Möglicherweise beeinflussen auch ivIg MMP-9 und TIMP-1 auf reziproke Art und Weise.

Die Modulation des Verhältnisses MMP-9/ TIMP-1 parallelisierte die Modulation der Serumkonzentrationen von MMP-9 mit einer Abnahme an Tag 8 und einer Zunahme an Tag 60 bei allen vier hier untersuchten Patientengruppen. Trotz einer Zunahme der ohnehin erhöhten TIMP-1-Konzentrationen sowie einer gleichzeitigen Abnahme der MMP-9-Konzentration im Serum aller Patientengruppen an Tag 8 lag der MMP-9/ TIMP-1-Quotient der s-IBM- und CIDP-Patientengruppe an Tag 8 oberhalb der Kontrolle. Bei der PM- und MMN-Patienten-Gruppe unterschritt das Verhältnis MMP-9/ TIMP-1 an Tag 8 den Kontrollwert. Der Quotient MMP-9/ TIMP-1 lag bei allen vier Patientengruppen an Tag 60 wieder, wie an Tag 0, oberhalb des Kontrollwerts. Die Unterschiede des Quotienten der s-IBM- und MMN-Gruppe an Tag 8 und 60 verglichen mit Tag 0 waren alle statistisch nicht signifikant. Bei der PM- und CIDP-Gruppe wurde aufgrund der geringen Fallzahlen keine Berechnung der statistischen Signifikanz vorgenommen. In einer Studie von Cherin et al. über die biochemischen Auswirkungen von ivIg auf PM-Patienten waren die biochemischen Veränderungen infolge der Therapie mit ivIg bei allen rekrutierten 35 PM-Patienten von statistischer Signifikanz [Cherin, 2002].

Die Abnahme der MMP-9-Serumkonzentrationen und gleichzeitige Zunahme der TIMP-1-Serumkonzentrationen und damit die Annäherung der MMP-9/ TIMP-1-Quotienten an die Kontrollwerte oder sogar Unterschreitung der Kontrollwerte nach der Gabe von hoch dosierten ivIg spricht für eine Beeinflussung von MMP-9 und TIMP-1 durch ivIg bei allen vier Patientengruppen.

Zahlreiche Studiengruppen haben den Gehalt an MMP-9 vergleichend in Muskel und Nerv im Rahmen verschiedener Erkrankungen untersucht. Kieseier et al. beispielsweise konnten eine statistisch signifikant erhöhte mRNA Expression von MMP-9 in Muskelbiopsien von

Patienten mit s-IBM und PM messen [Kieseier, 2001]. In einer Studie von Renaud et al. zeigte sich eine über den Kontrollwert erhöhte MMP-9-Konzentration in Nervenbiopsien von CIDP-Patienten [Renaud, 2003; Köller, 2003]. Beuche et al. vermuteten aufgrund erhöhter MMP-9-Konzentrationen im Serum sowie Muskel- und Nervengewebe von ALS-Patienten, dass die MMP-9-Serumkonzentrationen die Produktion und Freisetzung von MMP-9 in Muskel- oder Nervengewebe widerspiegeln [Beuche, 2000]. Die in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Messergebnisse der MMP-9-Serumkonzentrationen führen, in Übereinstimmung mit den hier angeführten Ergebnissen anderer Studiengruppen, zu der Annahme, dass die MMP-9-Konzentrationen im Muskel- beziehungsweise Nervengewebe den MMP-9-Serumkonzentrationen entsprechen.

Folglich vermag ivIg den Anteil an aktiver MMP-9 nicht nur im Serum sondern auch im Muskel- und Nervengewebe zu reduzieren. Dieses Ergebnis wird unterstützt durch eine in vitro Studie von Ronda et al., die eine ivIg- induzierte Hemmung der anlagebedingten MMP-9-Sekretion aus menschlichen Endothelzellen zeigte [Ronda, 1999]. Shapiro et al. konnten eine dosisabhängige Hemmung der Expression von MMP-9 in Makrophagen und Monozyten durch ivIg herausfinden. Auch die Induktion von MMP-9 durch TNF- α , der ebenfalls von Monozyten und Makrophagen produziert wird, wird durch ivIg gehemmt [Shapiro, 2002]. Eine weitere Wirkung von ivIg stellt die Unterdrückung von MMP-9-Induktionsfaktor TNF- α selbst dar [Darville, 1997]. In einer weiteren Studie konnte gezeigt werden, dass die monozytäre Aktivität, also unter anderem die Produktion von MMP-9, infolge des Bindens der in ivIg enthaltenen Fc-Domäne von IgG an den monozytären Fc-Rezeptor gehemmt wird [Mouthon, 1996]. Die in ivIg enthaltenen F(ab)²-Fragmente von IgG führen zu einer Verminderung der MMP-9-Aktivität [Shapiro, 2002]. Die Bindung von F(ab)² an bestimmte Basensequenzen (Arg-Gly-Asp) hemmt die mRNA-Expression von MMP-9 [Vassilev, 1999; Shapiro, 2002].

Zur Beurteilung der statistischen Aussagen über die beschriebenen Ergebnisse werden zuletzt unter diesem Punkt die Ergebnisse der vier hier untersuchten Patientengruppen teilweise aufgeschlüsselt betrachtet: es fällt auf, dass 4 von 15 s-IBM-Patienten (~ 26%), 3 von 11 MMN-Patienten (~ 27%), einer von 4 PM-Patienten (~ 25%) und einer von drei CIDP-Patienten (~ 33%) nach der Gabe von ivIg an Tag 8 unveränderte oder sogar höhere MMP-9-Serumkonzentrationen als an Tag 0 aufwiesen. Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit der Ansicht von Experten, dass nur zwei Drittel aller CIDP-Patienten auf ivIg ansprechen würden, wobei die Hälfte davon regelmäßig erneute ivIg-Infusionen benötigen würde [Wiles, 2002]. Gleichmaßen existieren Studien, die ivIg als wirkungsvolles Kurzzeittherapeutikum für rund zwei Drittel der MMN-Patienten sehen [Federico, 2000; Léger, 2000; Van den Berg, 1995; Wiles, 2002]. Eine andere, weiter oben bereits zitierte Studie, die den Effekt von ivIg auf PM untersucht hatte, konnte ein biochemisch signifikantes Ansprechen auf ivIg bei allen 35 PM- Patienten nachweisen [Cherin, 2002]. Bei Patienten mit s-IBM hingegen, die von Dalakas et al. untersucht worden waren, zeigte sich nur eine mäßige, vorübergehende und statistisch nicht signifikante Verbesserung des Krankheitsverlaufs durch eine Therapie mit ivIg [Dalakas, 2004]. Allerdings zeigte sich die s-IBM bisher insgesamt im Hinblick auf immunsuppressive Maßnahmen weitgehend therapierefraktär [Oldfors, 1999; Barohn, 1995; Walter, 2001]. In einer Studie von Amato et al. wurde das mangelnde Ansprechen auf immunsuppressive Behandlungen bei der Einschlusskörpermyositis als das wichtigste Unterscheidungskriterium zwischen den drei entzündlichen Myopathien Einschlusskörpermyositis, Polymyositis und Dermatomyositis bezeichnet [Amato, 1996].

Unter Berücksichtigung dieser Hintergründe wird das insgesamt nur teilweise statistisch signifikante Ansprechen der MMP-9- und TIMP-1-Serumkonzentrationen sowie das insgesamt statistisch nicht signifikante Ansprechen der Serumkonzentrationen der

entscheidenden, aktiven MMP-9 der vier hier untersuchten Patientengruppen auf ivIg trotzdem als Therapieerfolg gewertet.

MMP-2, TIMP-2 und MMP-2/ TIMP-2

Die in dieser Studie zur Erfassung von MMP-2 verwendeten ELISAs messen ohne zu differenzieren sowohl die Pro- als auch aktive Form von MMP-2.

Vor der Gabe von ivIg (Tag 0) waren bei allen Patienten die MMP-2-Serumkonzentrationen sowie die Verhältnisse MMP-2/ TIMP-2 im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt. Statistisch signifikant waren die Unterschiede bei den Patienten mit MMN und s-IBM. Die Fallzahlen der beiden Patientengruppen mit CIDP und PM waren zu gering, um eine Aussage bezüglich der statistischen Signifikanz machen zu können.

In einer Studie von Mirowska et al. wurden ebenfalls im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigte MMP-2-Konzentrationen im Serum von Patienten mit Multipler Sklerose gemessen [Mirowska, 2004].

Im Allgemeinen wird MMP-2 anlagebedingt in Myo- und Fibroblasten innerhalb des normalen Muskelgewebes exprimiert [Carmeli, 2004; Shapiro, 2002; Borden, 1997]. MMP-2 wird zwar auch in atrophischen Muskelfasern exprimiert, jedoch mit wesentlich geringerer Intensität als MMP-9 [Carmeli, 2004; Schoser, 2002]. Eine übermäßige Expression von MMP-2 in der ECM erfolgt unter verschiedenen pathologischen Bedingungen, wie beispielsweise Entzündung. Dann können Myoblasten, Fibroblasten sowie Satellitenzellen eine übermäßige Expression von MMP-2 in Muskelfasern verursachen [Carmeli, 2004]: Satellitenzellen spielen eine bedeutende Rolle bei der Reparatur verletzter oder entzündeter Muskulatur. Sie reagieren auf die Ausschüttung von Zytokinen in der ECM des nicht intakten Muskels übermäßig mit der anlagebedingten Synthese und Sekretion von MMP-2 [Carmeli, 2004; Guerin, 1995]. MMP-2 scheint folglich eine wichtige Rolle bei der Reparatur geschädigter Muskeln zu spielen [Choi, 2002; Carmeli, 2004]. In einer weiteren Studie konnte untersucht werden, dass eine Aktivierung von MMP-2 in der Regenerationsphase neuer Muskelfasern erfolgt [Kherif, 1999].

Außerdem kommt es auch nach Schädigung von Nerven zu einer Zunahme der Expression von MMP-2, was auf eine Rolle von MMP-2 bei der axonalen Degeneration und Regeneration hindeutet [Carmeli, 2004; Kieseier, 2001]. Es wird vermutet, dass MMP-2 an der Axonverlängerung degenerierter Nerven beteiligt ist, indem sie die kollagenreiche ECM im Bereich des distalen Nervensegments degradiert und damit Tunnel bildet, durch die Axonsprosse in die Peripherie wachsen können [Platt, 2003].

Darüber hinaus induziert das Binden von T-Zellen an Endothelzellen die Expression von MMP-2 [Mirowska, 2004; Romanic, 1994].

Ebenso wie MMP-9 wird auch MMP-2 von Monozyten und Makrophagen sezerniert [Shapiro, 2002].

Bei der Untersuchung der Modulation der MMP-2-Serumkonzentrationen über den gesamten Studienzeitraum fanden sich bei allen Patientengruppen außer der PM-Gruppe von Tag 0 bis Tag 60 zunehmende durchschnittliche MMP-2-Serumkonzentrationen mit Annäherung an den Kontrollwert an Tag 60. Lediglich die MMP-2-Serumkonzentration der PM-Gruppe nahm an Tag 8 im Vergleich zu Tag 0 kurzzeitig ab. An Tag 60 dagegen überschreitet die MMP-2-Serumkonzentration der PM-Gruppe nicht nur die der anderen drei Patientengruppen, sondern sogar den Kontrollwert. Die Veränderungen der MMP-2-Serumkonzentrationen der MMN- und s-IBM-Gruppe waren an allen drei Messtagen von statistischer Signifikanz.

Obwohl Shapiro et al. in ihrer Studie keine Auswirkungen von hoch dosierten ivIg auf die Expression von MMP-2 von in vitro differenzierten menschlichen monozytären Zellen feststellen konnten [Shapiro, 2002], sprechen die in der vorliegenden Studie untersuchten Veränderungen der MMP-2-Serumkonzentrationen für einen Effekt hoch dosierter ivIg auf die Konzentration von MMP-2 im Serum. Die MMP-2-Serumkonzentrationen vor und nach Therapie mit ivIg in den vier hier untersuchten Patientengruppen verhielten sich ähnlich wie die MMP-2-Konzentrationen im Serum von Patienten mit Multipler Sklerose vor und nach Therapie mit Methylprednisolon. Vor Therapie mit Methylprednisolon lagen die MMP-2-Serumkonzentrationen jener MS-Patienten unterhalb des Kontrollwertes. Nach Therapie mit Methylprednisolon nahmen sie jedoch statistisch nicht signifikant bis zum Erreichen des Kontrollwertes zu [Mirowska, 2004].

Die TIMP-2-Serumkonzentrationen lagen bei allen vier Patientengruppen an Tag 0 unterhalb des Kontrollwertes. Nachdem an Tag 8, infolge einer Zunahme der TIMP-2-Serumkonzentrationen, der Kontrollwert von nahezu allen vier Patientengruppen erreicht werden konnte, fielen die TIMP-2-Serumkonzentrationen an Tag 60 wieder ab, unterschritten dabei jedoch nicht die jeweilige Ausgangskonzentration von Tag 0. In der Gruppe der MMN-Patienten war die Erhöhung der Serumkonzentration von TIMP-2 an Tag 8 verglichen mit Tag 0 statistisch signifikant. Alle anderen Veränderungen der TIMP-2-Serumkonzentrationen waren nicht von statistischer Signifikanz.

Auffällig ist, dass sich die Modulation der Serumkonzentrationen von TIMP-2, als natürlicher Inhibitor von MMP-2, in dieser Studie weder kontinuierlich parallel noch reziprok zu der der MMP-2-Serumkonzentrationen verhielt. Zum einen könnte die Zunahme der TIMP-2-Serumkonzentrationen an Tag 8 ebenfalls durch die Verabreichung von hoch dosierten ivIg induziert worden sein. Zum anderen ist auch eine zumindest teilweise von den MMP-2-Serumkonzentrationen unabhängige Modulation der TIMP-2-Serumkonzentrationen denkbar, da der Funktionsbereich von TIMP-2 weit über die Inhibition von MMP-2 hinausreicht [Hoegy, 2001; Baker, 2002].

Das durchschnittliche Verhältnis von MMP-2 zu TIMP-2 war bei allen Patientengruppen sowohl an Tag 0 als auch an Tag 8 kleiner als bei der Kontrollgruppe. Die Unterschiede zur Kontrollgruppe an Tag 0 waren bei der MMN- und s-IBM-Gruppe statistisch signifikant. Bei den Patientengruppen mit PM, MMN und CIDP parallelisierte die Modulation des Verhältnisses MMP-2/ TIMP-2 nicht die der Serumkonzentrationen von MMP-2, sondern verhielt sich reziprok zur Modulation der Serumkonzentrationen von TIMP-2, mit einer Abnahme an Tag 8 und einer darauf folgenden Zunahme an Tag 60 über den Kontrollwert hinaus. Bei der s-IBM-Patientengruppe dagegen verhielt sich die Modulation des Verhältnisses MMP-2/ TIMP-2 parallel zur Modulation der MMP-2-Serumkonzentrationen mit einer bis Tag 60 zunehmenden aktiven MMP-2. An Tag 60 konnte die aktive MMP-2 der s-IBM-Patientengruppe den Kontrollwert nur nahezu erreichen. Bei der MMN-Gruppe war die Verminderung des MMP-2/ TIMP-2-Quotienten an Tag 8 im Vergleich zu Tag 0 statistisch signifikant.

Bei der Bewertung der in vorliegender Studie gemessenen MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen sollte zunächst der Einwand berücksichtigt werden, dass Unklarheit darüber besteht, ob die jeweiligen MMP- und TIMP-Konzentrationen in Serum und Muskel-beziehungsweise Nervengewebe miteinander vergleichbar sind, beziehungsweise einander entsprechen [Kieseier, 2001; Demestre, 2004].

Bei der Bewertung der Serumkonzentrationen sind vor allem die Quotienten MMP-2/ TIMP-2, die den Anteil der aktiven MMP-2 anzeigen, von Bedeutung.

Aufgrund der oben genannten wahrscheinlich bedeutenden Rolle von MMP-2 bei der Reparatur verletzter und entzündeter Muskulatur sowie bei der axonalen Regeneration, wäre

eine Zunahme der MMP-2-Serumkonzentrationen durch hoch dosierte ivIg zur Steigerung der Reparaturfähigkeit der entzündeten Muskulatur beziehungsweise der Regenerationsfähigkeit der demyelinisierten Nerven denkbar. Möglicherweise stellt die verminderte MMP-2-Aktivität und damit Reparaturfähigkeit des Körpers zumindest einen Teil der Pathogenese der vier hier untersuchten Erkrankungen dar, was die unter den Kontrollwert erniedrigten Serumkonzentrationen von MMP-2 beziehungsweise sogar aktiver MMP-2 in allen vier Patientengruppen an Tag 0 erklären würde.

Die kontinuierliche Zunahme der MMP-2-Serumkonzentrationen nach der Gabe hoch dosierter ivIg bis zum Erreichen des Kontrollwertes an Tag 60 könnte als verzögerter oder längerfristiger therapeutischer Effekt von ivIg gesehen werden zur Herstellung einer körperlichen Normalsituation. Nach der Schädigung des Nervus ischiadicus von Ratten konnte von Platt et al. ebenfalls eine im Vergleich zur MMP-9-Konzentration verzögerte, aber längerfristige Zunahme der MMP-2-Konzentration festgestellt werden [Platt, 2003].

Da sich die TIMP-2-Serumkonzentrationen aller vier Patientengruppen hingegen bereits an Tag 8 maximal dem Kontrollwert annäherten, nahm der eigentlich wichtige Anteil an aktiver MMP-2 an Tag 8 im Vergleich zu Tag 0 und zum Kontrollwert in der PM-, MMN- und CIDP-Patientengruppe ab. Die aktive MMP-2 in der s-IBM-Gruppe dagegen nahm an Tag 8 im Vergleich zu Tag 0 zu. An Tag 60 erreichte oder überschritt der Anteil an aktiver MMP-2 im Serum bei allen vier Patientengruppen sogar den Kontrollwert.

Möglicherweise entspricht die Konzentration der aktiven MMP-2 im Muskel beziehungsweise Nervengewebe nicht der Konzentration der aktiven MMP-2 im Serum. Würden sich die MMP-2- sowie TIMP-2-Konzentrationen im Muskel beziehungsweise Nerven der betreffenden Patienten, anders als bei der Kontrollgruppe, umgekehrt zu den MMP-2- und TIMP-2-Konzentrationen im Serum verhalten, wäre die Konzentration der aktiven MMP-2 im Muskel- und Nervengewebe aller vier Patientengruppen an Tag 8 über den Kontrollwert erhöht gewesen. Eine Erhöhung der aktiven MMP-2 im Muskel- und Nervengewebe durch ivIg wäre sehr gut mit der Reparatur- und Regenerationsfunktion von MMP-2 im Muskel und Nerven kompatibel [Kherif, 1999; Kieseier, 2001; Carmeli, 2004; Choi, 2002]. Diese Annahme eines reziproken Verhaltens der MMP-2-Konzentrationen im Muskel beziehungsweise Nerven und Serum und damit einer bei allen vier Patientengruppen im Muskel oder Nerven über den Kontrollwert erhöhten Konzentration an aktiver MMP-2 steht in Einklang mit Vorgängerstudien, die von über den Kontrollwert erhöhten MMP-9- sowie -2-Konzentrationen in Nervenbiopsien von Patienten mit CIDP [Leppert, 1999; Renaud, 2003; Köller, 2003] und vaskulitischen Neuropathien berichteten [Renaud, 2003]. Choi et al. konnten außerdem eine gesteigerte Expression und Aktivität von MMP-9 und -2 in Muskelfasern von Patienten mit PM und s-IBM feststellen [Choi, 2000]. Auch in der bereits oben zitierten Studie von Platt et al. konnten zwei- bis dreifach über den Kontrollwert erhöhte MMP-2-Konzentrationen im Nervengewebe gequetschter Ischiasnerven von Ratten gemessen werden [Platt, 2003].

Folgt man diesem Erklärungsansatz, würde die an Tag 0 unter den Kontrollwert erniedrigte Serumkonzentration der aktiven MMP-2 bedeuten, dass der Gehalt an aktiver MMP-2 in der Muskulatur oder im Nervengewebe der Patienten an Tag 0 größer ist als in der Muskulatur oder im Nervengewebe der Kontrollgruppe. Möglicherweise wurde der Anteil an aktiver MMP-2 an Tag 0 infolge von Krankheit vom Organismus selbst zur Steigerung körpereigener Reparatur- und Regenerationsvorgänge erhöht [Platt, 2003]. Nach der Gabe von hoch dosierten ivIg kam es von Tag 8 bis 60 zu einer kurzfristigen weiteren Steigerung des Gehalts an aktiver MMP-2 in dem geschädigten Muskel- oder Nervengewebe bei den Patienten mit PM, MMN und CIDP. Nur bei den s-IBM-Patienten nahm der Gehalt an aktiver MMP-2 im Muskel trotz ivIg kontinuierlich geringfügig ab.

Ein Einfluss von hoch dosierten ivIg auf die Konzentrationen von MMP-2 und TIMP-2 ist bei den Patienten mit PM, MMN und CIDP offensichtlich. IvIg bewirkt eine weitere Steigerung der Reparatur- und Regenerationfähigkeit des Körpers über eine Steigerung des Anteils an aktiver MMP-2 im Muskel- oder Nervengewebe. Unter Berücksichtigung der bereits genannten zu beachtenden Hintergründe zu den vier untersuchten Krankheitsbildern wird das insgesamt nur teilweise statistisch signifikante Ansprechen der MMP-2- und TIMP-2-Serumkonzentrationen auf ivIg trotzdem als Therapieerfolg gewertet.

Bei der Patientengruppe mit s-IBM hingegen war eine Erhöhung der aktiven MMP-2 im Muskel nach Therapie mit ivIg nicht erkennbar. In Hinsicht auf das bei s-IBM bekannte therapierefraktäre Verhalten [Amato, 1996] könnte ein Therapieerfolg von ivIg jedoch gegebenenfalls auch in der Verlangsamung der Abnahme der aktiven MMP-2 im Muskelgewebe gesehen werden.

Abschließend lässt sich zur Modulation der Konzentrationen sowohl der aktiven MMP-9 als auch MMP-2 in Übereinstimmung mit zahlreichen Vorgängerstudien [Nobile-Orazio, 2001; Van den Berg, 1998; Wiles, 2002] sagen, dass auch die Verabreichung von ivIg in hoch dosierter Form nur einen kurzfristigen Therapieerfolg mit sich bringt. Die Kurzfristigkeit des Therapieerfolges ist an der erneuten Zunahme der Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 sowie MMP-2 an Tag 60 bei nahezu allen Patienten erkennbar.

5.2 Diskussion der Klinik bei s-IBM, PM, MMN und CIDP

Bei fast allen untersuchten Patienten war eine leichte, statistisch nicht signifikante Verbesserung des klinischen Verlaufs nach Beendigung des mehrtägigen ivIg-Zyklus (Tag 8) bis Tag 30 offensichtlich.

An Tag 60 tendierten alle Patienten wieder zu einem schlechteren klinischen Bild.

Die in dieser Studie festgestellte klinische Besserung bei allen vier Patientengruppen auf eine Therapie mit ivIg kann von zahlreichen Vorgängerstudien bestätigt werden: in einer kontrollierten klinischen Studie von Dalakas et al. zeigte sich bei s-IBM-Patienten nach Therapie mit hoch dosierten ivIg ebenfalls eine leichte, statistisch nicht signifikante Verbesserung der Muskelkraft. Außerdem konnten 20% dieser Patienten nach Therapie mit ivIg Leistungen des alltäglichen Lebens wieder besser verrichten [Dalakas, 2003].

Bei der Beurteilung der Ergebnisse sollte immer der natürliche Verlauf der Erkrankung berücksichtigt werden. In einer Follow-up-Studie über 58 Monate wurde eine Verschlechterung der Muskelkraft von s-IBM-Patienten um 14% pro Erkrankungsjahr festgestellt [Lindberg, 1994]. In Anbetracht dessen ist schon eine Verlangsamung der Krankheitsprogression beziehungsweise eine statistisch nicht signifikante Verbesserung des Krankheitsverlaufs unbedingt als Therapieerfolg zu werten.

Die PM-Gruppe der Studie von Dalakas et al. umfasste, ähnlich wie in vorliegender Studie, zu wenige Patienten, um eine Aussage bezüglich der statistischen Signifikanz machen zu können. Trotzdem konnten 70% der PM-Patienten, die eine Therapie mit ivIg erhielten, eine Verbesserung der Muskelkraft vorweisen [Dalakas, 2003]. In einer Studie von Cherin et al. zeigten 25 von 35 rekrutierten PM-Patienten nach der Gabe von ivIg eine statistisch signifikante Erhöhung der durchschnittlichen Muskelkraft [Cherin, 2002].

In einer anderen Langzeit-Follow-up-Studie wurden elf Patienten mit MMN klinisch und elektrophysiologisch unter einer Therapie mit ivIg untersucht [Van den Berg-Vos, 2002]. Drei Wochen nach dem ersten Zyklus mit ivIg verbesserte sich die durchschnittliche Muskelkraft der elf Patienten statistisch signifikant. Eine leichte, aber trotzdem statistisch signifikante Abnahme der Muskelkraft in einem Studienzeitraum über vier bis acht Jahren konnte die Therapie mit ivIg nicht verhindern. Die Ergebnisse der letzten Follow-up-Untersuchungen

waren immer noch statistisch signifikant besser als vor dem Beginn mit ivIg. Die Prüfung der Fähigkeit zur Verrichtung von Alltagsaktivitäten in Hinsicht auf die obere Extremität ergab ebenso bereits nach dem ersten ivIg-Zyklus statistisch signifikant bessere Ergebnisse als vor Therapiebeginn [Van den Berg-Vos, 2002].

In einer doppelblinden, plazebokontrollierten Studie von Hahn et al. über die Auswirkungen von ivIg auf den klinischen Verlauf bei Patienten mit CIDP, verbesserten sich 63% der Patienten unter einer initialen Therapie mit ivIg [Hahn, 1996; Köller, 2003]. In einer Studie mit 53 CIDP-Patienten, von denen 30 eine Therapie mit ivIg und die restlichen 23 ein Plazebo erhielten, fand sich eine statistisch signifikante Verbesserung der Klinik der mit ivIg behandelten CIDP-Patienten. Bei der Plazebogruppe hingegen zeichnete sich eine Abnahme der durchschnittlichen Muskelkraft ab [Mendell, 2001].

Auch hinsichtlich der Klinik bringt die Verabreichung von ivIg sogar in hoch dosierter Form, wie bereits in Vorgängerstudien beschrieben [Nobile-Orazio, 2001; Van den Berg, 1998; Wiles, 2002], nur einen kurzfristigen Therapieerfolg mit sich, der erkennbar an dem klinischen Rückfall nahezu aller Patienten an Tag 60 ist.

5.3 Vergleich der Ergebnisse von 5.1 und 5.2

Unter diesem Punkt werden zum einen gegebenenfalls vorhandene Parallelen zwischen dem allgemeinen Krankheitsverlauf und der Modulation der Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs bei den Patienten mit s-IBM, PM, MMN und CIDP herausgearbeitet. Zum anderen soll herausgefunden werden, ob ein Zusammenhang zwischen der Höhe der Konzentrationen der aktiven MMP-2 und MMP-9 und der Intensität der Krankheitserscheinungen bei diesen Patienten besteht.

Zum Vergleich der MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen mit der Klinik, und unter Punkt 5.4 auch mit den CK-Werten, werden vor allem die Quotienten MMP-9/ TIMP-1 beziehungsweise MMP-2/ TIMP-2 herangezogen, da nur die Quotienten Aufschluss über den Anteil der ungebundenen, freien und damit aktiven MMP-9 beziehungsweise MMP-2 an den MMP-9- beziehungsweise MMP-2-Gesamtserumkonzentrationen geben.

Zum klinischen Verlauf der vier Patientengruppen lässt sich zusammenfassend sagen, dass im Großen und Ganzen in allen drei klinischen Scores eine statistisch nicht signifikante Verbesserung der klinischen Fähigkeiten und Fertigkeiten an Tag 8 nach der Gabe von ivIg bemerkbar war, die bis Tag 30 sogar noch zunahm. An Tag 60 fielen die durchschnittlich in den Scores erreichten Punkte außer im NSS bei allen Gruppen unter das Ausgangsniveau von Tag 0.

Passend zum klinischen Verlauf ließ sich an Tag 8 nach der Gabe von ivIg eine statistisch nicht signifikante Abnahme der aktiven MMP-9 im Serum aller vier Patientengruppen feststellen. An Tag 60, nach dem Abflauen der ivIg-Wirkung, waren die Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 außer bei der PM-Gruppe wieder, teilweise weit, über das Ausgangsniveau erhöht.

Folgt man der Annahme (vgl. 5.1), dass sich die Konzentrationen der aktiven MMP-2 im Muskel- beziehungsweise Nervengewebe im Gegensatz zur Kontrolle genau umgekehrt zu den Serumkonzentrationen verhalten, lagen die Konzentrationen der aktiven MMP-2 im Muskel- und Nervengewebe der hier untersuchten Patienten bereits an Tag 0 oberhalb des Kontrollwerts. An Tag 8, nach der Gabe von ivIg, stieg der Anteil an aktiver MMP-2 im Muskel- und Nervengewebe aller außer der s-IBM-Patienten parallel zur Klinik noch an. Das

heißt, dass die Reparatur- und Regenerationsfähigkeit der Gewebe bei den PM-, CIDP- und MMN-Patienten zunahm.

Der Anstieg der Konzentrationen der aktiven MMP-2 an Tag 8 im Nervengewebe der MMN-Gruppe war von statistischer Signifikanz.

An Tag 60 fielen die Konzentrationen der aktiven MMP-2 im Muskel- oder Nervengewebe aller Patientengruppen außer der s-IBM-Patientengruppe wieder unter den Ausgangswert von Tag 0 ab. Bei der s-IBM-Gruppe nahm der Anteil an aktiver MMP-2 im Muskelgewebe von Tag 0 bis Tag 60 kontinuierlich geringfügig ab.

Offensichtlich bewirkte ivIg weitgehend bei allen vier Patientengruppen eine kurzzeitige, meist statistisch nicht signifikante Veränderung der Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 beziehungsweise MMP-2. Parallel zu diesen Serumkonzentrationsveränderungen an Tag 8, die sich im Muskel- und Nervengewebe wahrscheinlich in einer Konzentrationsabnahme der aktiven MMP-9, dagegen jedoch in einer Zunahme der Konzentration der aktiven MMP-2 (vgl. 5.1) äußerten, verbesserten sich ab Tag 8 kurzzeitig auch die durchschnittliche Muskelkraft sowie die Fähigkeit zur Verrichtung von Alltagsaktivitäten (vgl. 5.2). Folglich entspricht, zumindest im Rahmen dieser Studie, im Großen und Ganzen die Modulation der Serumkonzentrationen der aktiven MMPs dem klinischen Verlauf und damit dem Verlauf der allgemeinen Krankheitsaktivität. Die Modulation der MMP-9-Serumkonzentrationen wurde bereits von mehreren Autoren mit dem Krankheitsverlauf von beispielsweise GBS und MS in Zusammenhang gebracht [Demestre, 2004; Lee, 1999; Sharshar, 2002; Creange, 1999]. Dabei ist aufgrund der erzielten Ergebnisse eine indirekte Beeinflussung des klinischen Verlaufs über eine Veränderung der Verhältnisse zwischen MMPs und TIMPs durch ivIg wahrscheinlich [Shapiro, 2002].

Bei der s-IBM-Patientengruppe verläuft die Klinik lediglich parallel zur Serumkonzentration der aktiven MMP-9, nicht jedoch zur Serumkonzentration der aktiven MMP-2.

Neben der Widerspiegelung des Krankheitsverlaufs durch die Modulation der MMP-/ TIMP-Serumkonzentrationen, wird auch die Möglichkeit der Wiedergabe der Krankheitsintensität durch die Höhe der MMP-/ TIMP-Serumkonzentrationen in Betracht gezogen. Bei der Untersuchung dieser Möglichkeit wird vorausgesetzt, dass die in den klinischen Scores erreichten Punktzahlen nicht nur den allgemeinen Krankheitsverlauf sondern auch die Krankheitsintensität widerspiegeln.

Bei Betrachten der Ergebnisse in den klinischen Scores fiel auf, dass die Gruppe der MMN-Patienten im MRC Score die höchsten Punktzahlen erlangte. Die zweitbesten Ergebnisse im MRC Score erzielte die Gruppe der CIDP-Patienten. Im Angelini Score und NSS erreichten diese beiden Gruppen annähernd gleich hohe Punktzahlen. Die mit Abstand höchsten Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 konnten sowohl an Tag 0 wie auch 8 und 60 bei der CIDP-Gruppe gemessen werden. Die Serumkonzentration der aktiven MMP-2 war ebenfalls bei der CIDP-Gruppe an Tag 60 am höchsten von allen vier Patientengruppen, an Tag 0 und 8 immerhin am zweithöchsten. Die MMN-Gruppe war zwar klinisch am ehesten mit der CIDP-Gruppe vergleichbar. In Anbetracht der Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 war sie jedoch mit ihren im Vergleich zur CIDP-Gruppe an allen drei Messtagen deutlich niedrigeren Werten am ehesten mit der PM-Patientengruppe vergleichbar. An Tag 0 war der durchschnittliche Anteil an aktiver MMP-9 bei der MMN-Gruppe am niedrigsten von allen Patientengruppen. Die PM-Patientengruppe wies bei dem schlechtesten klinischen Verlauf an Tag 8 und 60 die niedrigsten Serumkonzentrationen aktiver MMP-9 an Tag 8 und 60 vor. Das Serum der MMN-Gruppe enthielt an Tag 0 und 8 darüber hinaus den geringsten Anteil an aktiver MMP-2. An Tag 60 war der Anteil genauso hoch wie bei der PM-Gruppe, deren Anteil an aktiver MMP-2 im Serum an Tag 0 am größten von allen Patientengruppen war, an Tag 8 und 60 jedoch am zweitniedrigsten. Die s-IBM-Gruppe wies an Tag 0 den

zweitkleinsten, an Tag 8 den größten und an Tag 60 den kleinsten Anteil an aktiver MMP-2 im Serum auf. Die mäßig hohe aktive MMP-9 im Serum dieser Patientengruppe entsprach den nur mittelmäßigen Ergebnissen in den drei klinischen Scores.

Die Frage, ob die Höhe der MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen etwas über die Krankheitsintensität aussagt, ist hiermit noch nicht abschließend geklärt. Sollte die Höhe der aktiven MMP-9- und MMP-2-Serumkonzentrationen zur Beurteilung der Krankheitsintensität herangezogen werden können, geht aus den uneinheitlichen Ergebnissen der untersuchten vier Patientengruppen jedenfalls hervor, dass die Höhe der aktiven MMP-9- und -2-Konzentrationen im Serum der vier verschiedenen Krankheitsgruppen nicht miteinander verglichen werden darf, sondern für jede Patientengruppe gesondert betrachtet werden muss. Bei dem Vergleich der Höhe der in den klinischen Scores erreichten Punktzahlen mit der Höhe der Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 und MMP-2 jedes einzelnen Patienten innerhalb einer Gruppe verhielten sich die Höhe der Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 sowie -2 und die in den klinischen Scores erreichten Punktzahlen allerdings vollständig unabhängig voneinander in sowohl der PM-, s-IBM- als auch CIDP- sowie MMN-Gruppe.

Die Ergebnisse dieser Studie sprechen damit gegen einen Zusammenhang zwischen der Höhe der Serumkonzentrationen sowohl der aktiven MMP-9 als auch MMP-2 und der Intensität des Krankheitsverlaufs von PM, MMN, CIDP und s-IBM.

Zusammenfassend (vgl. 5.1 bis 5.3) bestätigen die in dieser Arbeit vorgelegten Ergebnisse die Annahme von Shapiro et al., dass ivIg pathologische Missverhältnisse zwischen MMPs und TIMPs in peripheren Nerven und Skelettmuskulatur mehr oder weniger ausgleichen [Shapiro, 2002].

Außerdem sprechen die Ergebnisse dieser Arbeit dafür, dass die Serumkonzentration von MMP-9 nicht nur als Verlaufsparemeter für die Krankheitsaktivität bei Multipler Sklerose [Leppert, 1998; Lee, 1999], Guillain-Barré-Syndrom [Sharshar, 2002] und ALS [Beuche, 2000] dient, sondern auch bei PM, s-IBM, MMN und CIDP.

Folglich kann scheinbar sowohl die MMP-9-Serumkonzentration [Beuche, 2000] als auch die MMP-2-Serumkonzentration bei diesen Erkrankungen zur Erfolgskontrolle von ivIg, aber auch von anderen Therapieformen, herangezogen werden.

5.4 Diskussion der Serum-CK-Aktivität im Vergleich zu MMP-/TIMP-Serumkonzentrationen und Klinik bei s-IBM und PM

Es existieren Vorgängerstudien, die sich mit der Fragestellung beschäftigten, ob in den Kreislauf abgegebene degradierte Komponenten der ECM, wie beispielsweise MMPs, der Beurteilung der Degradierungsprozesse in der ECM dienen könnten [Carmeli, 2004; Koskinen, 2001]. Versuche mit exzessiver sportlicher Betätigung bei kalten Temperaturen führten in diesen Studien zwar zu einer Erhöhung der Aktivität der Serum-Creatinkinase, nicht jedoch der Konzentrationen von MMP-2 und -9 sowie TIMP-1 und -2. Schwere Schäden an der Skelettmuskulatur hingegen schienen sich darüber hinaus auch auf die Konzentrationen von MMPs und TIMPs auszuwirken [Carmeli, 2004; Koskinen, 2001], was die Ergebnisse der vorliegenden Studie bestätigen.

Die Aktivität der Serum-Creatinkinase dient oftmals der Einschätzung von Skelettmuskelschäden.

Obwohl die Untersuchung des Verlaufs der Serum-CK-Aktivität nicht Bestandteil dieser Studie ist, wird unter diesem Punkt herausgearbeitet, ob zukünftig eher die Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 und -2 oder die Serum-CK-Aktivitäten zur

Beurteilung des Krankheitsverlaufs sowie der Krankheitsintensität von PM und s-IBM herangezogen werden sollten.

Für den Vergleich zwischen den Aktivitäten der Serum-CK und der Klinik an Tag 0 und 60 wird, wie auch unter Punkt 5.3, vorausgesetzt, dass der Verlauf der Muskelkraft sowie der Verlauf der Fähigkeit zur Verrichtung von Alltagsaktivitäten (aus Angelini, NSS Dalakas und MRC) dem allgemeinen Krankheitsverlauf entspricht.

S-IBM

Die s-IBM-Patientengruppe erreichte in allen drei klinischen Scores sowohl an Tag 0 als auch an Tag 60 höhere Punktzahlen als die PM-Patientengruppe. Dementsprechend konnten an beiden Tagen bei der s-IBM-Patientengruppe durchschnittlich zwar erhöhte, jedoch im Vergleich zur PM-Patientengruppe, niedrigere CK-Werte gemessen werden. An Tag 60 verschlechterte sich allerdings die durchschnittliche Muskelkraft im MRC Score im Vergleich zu Tag 0 trotz einer Abnahme der Serum-CK-Aktivität. Zu ähnlichen Ergebnissen führte die Auswertung des Angelini Score. Auch die nur geringfügige Abnahme der CK-Aktivität im Serum an Tag 60 würde eher für verbesserte oder zumindest gleich bleibende Ergebnisse in der klinischen Untersuchung an Tag 60 sprechen. Die im NSS durchschnittlich erreichte Punktzahl nahm zwar an Tag 60 im Vergleich zu Tag 0 zu; die Ergebnisse des NSS sind jedoch weniger entscheidend für die Bewertung des allgemeinen Krankheitsverlaufs als die des MRC oder Angelini Score (siehe Abschnitt 5.5.5).

PM

Die Gruppe der PM-Patienten konnte an Tag 0 sowie 60 sowohl die durchschnittlich schlechtere Klinik in allen drei Scores als auch die höhere durchschnittliche CK im Vergleich zur s-IBM-Patientengruppe vorweisen. Der CK-Wert nahm an Tag 60 im Vergleich zu Tag 0 noch geringfügig zu. Die durchschnittlich erzielten Punkte im MRC und Angelini Score an Tag 0 konnten an Tag 60 knapp nicht mehr erreicht werden. Im NSS Score erzielten die PM-Patienten an Tag 0 und 60 im Durchschnitt nahezu unveränderte Ergebnisse.

Bei der Zusammenfassung dieser Ergebnisse fällt zunächst auf, dass scheinbar sowohl der Verlauf als auch die Höhe der Aktivität der Serum-CK dem Krankheitsverlauf bzw. der Krankheitsintensität der PM entsprachen. Bei der s-IBM-Patientengruppe unterschied sich zwar der Verlauf der CK-Aktivität im Serum von dem allgemeinen Krankheitsverlauf, die Höhe der CK-Aktivität im Serum dagegen war durchaus mit der Krankheitsintensität vergleichbar.

Die Modulation der Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 verhielt sich sowohl bei der PM- als auch s-IBM-Patientengruppe umgekehrt zum Verlauf der Klinik. Die Modulation der Konzentrationen der aktiven MMP-2 im Muskelgewebe parallelisierte den klinischen Verlauf bei der PM-Patientengruppe, nicht jedoch bei der s-IBM-Patientengruppe. Die Höhe der Konzentrationen der aktiven MMP-9 und -2 hingegen stand in keinem Zusammenhang mit der Intensität der jeweiligen Erkrankung.

Zunächst erscheint die Untersuchung der Aktivität der Serum-CK zumindest zur Beurteilung der Krankheitsintensität von PM und s-IBM sinnvoller als die Untersuchung der Konzentrationen der aktiven MMP-9 und -2. Der Vergleich der Höhe der in den klinischen Scores erreichten Punktzahlen mit der Höhe der CK-Serumaktivitäten jedes einzelnen

Patienten jeweils einer Gruppe an Tag 0 und 60 ergab jedoch vollständig von den in den klinischen Scores erreichten Punktzahlen unabhängige Serum-CK-Aktivitäten bei den beiden hier betrachteten Patientengruppen.

Eine andere Studiengruppe stellte bereits 1996 fest, dass die CK-Aktivität bei einer bestimmten PM-Form, die in der Muskelbiopsie eine große Zahl Eosinophiler im entzündlichen Infiltrat aufweist, unabhängig von einem akuten oder subakuten Symptombeginn meist deutlich erhöht ist [Kumamoto, 1996]. Darüber hinaus fiel in einer retrospektiven Studie von Amato et al. auf, dass sich die Höhe der Serumcreatinkinasespiegel innerhalb einer Gruppe aus Polymyositispatienten nicht entsprechend der Krankheitsintensität, sondern der Therapiesensibilität jedes einzelnen Patienten verhielt. Die therapieresistenten PM-Patienten wiesen regelmäßig niedrigere Serumcreatinkinaseaktivitäten auf als die therapiesensiblen PM-Patienten der Gruppe [Amato, 1996].

Folglich lassen sich weder aus der Höhe der Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 und MMP-2 noch aus der Höhe der Serum-CK-Aktivitäten Rückschlüsse auf die Krankheitsintensität von PM und s-IBM ziehen.

Bei einer kritischen Betrachtung des Verlaufs der beiden an Tag 0 und 60 gemessenen Aktivitäten der Serum-CK (Tabelle 11) fallen bei den beiden hier untersuchten Patientengruppen nur geringfügig veränderte Serum-CK-Aktivitäten auf. Die Serum-CK-Aktivitäten an Tag 0 und 60 jedes einzelnen Patienten wiesen teilweise größere Differenzen auf. Der Vergleich des Verlaufs der Serum-CK-Aktivitäten bei jedem einzelnen Patienten innerhalb jeweils einer Gruppe mit dem Verlauf der in den drei klinischen Scores erreichten Punktzahlen an Tag 0 und 60 ergab eine, im Gegensatz zu den Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 und -2, von den in den klinischen Scores erreichten Punktzahlen unabhängige Serum-CK-Aktivität bei fast allen Patienten der s-IBM- und PM- Patientengruppe.

Obwohl für die Beurteilung des Verlaufs der Serum-CK-Aktivität mindestens ein zusätzlicher Messwert der Serum-CK-Aktivität an Tag 8 nach der Gabe von ivIg wünschenswert gewesen wäre, scheint der Verlauf der CK-Aktivitäten im Serum nicht dem Krankheitsverlauf von PM und s-IBM zu entsprechen. Die Bestimmung der Serum-CK-Aktivitäten an Tag 8 wurde nicht durchgeführt, da der Vergleich des Verlaufs der Serum-CK-Aktivitäten mit der Modulation der Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 und -2 sowie mit dem Verlauf der Klinik nicht primäre Zielsetzung dieser Studie ist.

Letztendlich ist die Serum-CK-Aktivität eher nicht als Verlaufsparemeter der Krankheitsaktivität von PM und s-IBM sowie als Erfolgskontrolle einer Therapie mit beispielsweise ivIg geeignet. Dalakas et al. halten es ebenfalls für einen Fehler, den CK-Wert als Parameter für das Ansprechen einer bestimmten Behandlung zu sehen [Dalakas, 2003]. In einer Studie von Cherin et al. nahm der durchschnittliche Creatinkinase-Spiegel im Serum der 35 untersuchten PM-Patienten während der Therapiephase mit hoch dosierten ivIg erst vor dem vierten ivIg-Zyklus ab [Cherin, 2002], wohingegen die Konzentrationen an aktiver MMP-9 und -2 im Serum der hier untersuchten PM-Patienten sofort nach Therapie mit ivIg abnahmen. Darüber hinaus bestätigten Barohn et al. vorliegende Ergebnisse, indem sie die Serum-CK seit Abschluss ihrer Studien als unzureichenden Verlaufsparemeter für die s-IBM sehen. Obwohl sich die Muskelkraft der s-IBM-Patienten nach einer Therapie mit Prednison noch verringerte, nahm der Serum-CK-Spiegel ab [Barohn, 1995]. In einer Studie über die verschiedenen Krankheitsmerkmale von s-IBM-Patienten konnte zudem nur bei zwei von fünf Fällen überhaupt eine Erhöhung der Serum-CK gemessen werden [Gayathri, 2000].

Im Gegensatz dazu stellen die Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 und -2 schon Parameter für den Verlauf der Krankheitsaktivitäten von PM und bedingt auch s-IBM dar (vgl. 5.1).

5.5 Diskussion von Störfaktoren und Fehlerquellen

Unter diesem Punkt sollen Störfaktoren und Fehlerquellen diskutiert werden, die sowohl zu falschen Ergebnissen geführt haben könnten als auch eine sinnvolle Beurteilung der Ergebnisse beeinträchtigt haben könnten.

5.5.1 Fallzahlen

Eine Problematik dieser Studie besteht darin, dass die Anzahl an Patienten in der PM- sowie CIDP-Patientengruppe zu gering ist, um allgemeingültige Aussagen in Hinsicht auf die jeweilige Erkrankung zu treffen. Eine statistische Beurteilung war bei diesen beiden Patientengruppen nicht möglich. Aufgrund des seltenen Auftretens von CIDP und PM [Dalakas, 2003], wurde die Einbeziehung dieser beiden Gruppen in die vorliegende Studie dennoch für wertvoll gehalten. Ergebnisse, Verläufe und Zusammenhänge im Rahmen dieser beiden Patientengruppen wurden lediglich beschreibend dargelegt.

5.5.2 Studienverlauf

Die Blutentnahmen zur Gewinnung des Serums wurden, wie im Methodenteil beschrieben, an Tag 0, 8 und 60 durchgeführt. Von einer weiteren Blutentnahme an Tag 30 parallel zur klinischen Untersuchung wurde aus Integritätsgründen des Patienten abgesehen, da Tag 30, im Gegensatz zu Tag 0, 8 und 60, nicht ohnehin mit einem Klinikaufenthalt mit Aufnahmelabor verbunden war. Die Bestimmung weiterer Werte der MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen, beispielsweise an Tag 30, wäre für Nachfolgestudien empfehlenswert.

5.5.3 Laborarbeit

Kieseier et al. konnten in ihrer Studie über die Expression von MMP-2, -7, -9 sowie TIMP-1, -2 und -3 im Rahmen entzündlicher Myopathien im Serum weder eine Enzymaktivität von MMP-9 noch von TIMP-1 mit Gelatine-Enzymographie und speziellen ELISAs messen, obwohl sowohl MMPs als auch TIMPs in der Muskulatur selbst vorhanden waren [Kieseier, 2001]. Im Gegensatz dazu konnte in vorliegender Studie sehr wohl eine Enzymaktivität von MMP-2, -9 sowie TIMP-1 und -2 im Serum von Patienten mit entweder einer entzündlichen Myopathie oder Neuropathie gemessen werden. Aber auch andere Studiengruppen waren erfolgreich bei der Suche nach MMPs und TIMPs im Serum von beispielsweise Patienten mit Multipler Sklerose oder Guillain-Barre-Syndrom [Lee, 1999; Sharshar, 2002; Mirowska, 2004]. Möglicherweise liegt diesen gegensätzlichen Studienergebnissen die Verwendung unterschiedlicher Messverfahren oder ELISA Kits zugrunde. Die speziell zur Erfassung der jeweiligen MMP oder TIMP hergestellten verwendeten ELISA Kits wurden sorgfältig und exakt nach Anleitung des Herstellers durchgeführt, um die Fehlerwahrscheinlichkeit so klein wie möglich zu halten.

Eine andere Ursache für die oben aufgeführten unterschiedlichen Studienergebnisse könnte in der Behandlung der Blutproben liegen. Die im Rahmen dieser Studie entnommenen Blutproben wurden unmittelbar nach Entnahme bis zur Tiefkühlung kühl gestellt (siehe 3.8.2). Auf diese Art und Weise war an allen Messtagen und bei allen Patienten MMP-9 und -2 sowie TIMP-1 und -2 im Serum nachweisbar. Die zum Vergleich angefertigte Probe (siehe 3.8.2) enthielt bereits nach zwei Stunden Raumtemperatur um 5 % höhere MMP-9-

Serumkonzentrationen als die gekühlte Probe. Dieses Ergebnis spricht für eine mögliche Veränderung der MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen durch unterschiedliche Behandlungsweisen.

Aufgrund dieser Studienergebnisse ist die unter Punkt 3.8.2 beschriebene Behandlung der Blutproben essentiell für einen erfolgreichen Studienverlauf.

5.5.4 IvIg

Um eine Verfälschung der Studienergebnisse zu vermeiden, wurde sogar die Möglichkeit, dass ivIg-Produkte selbst Spuren von MMPs oder TIMPs enthalten könnten und damit nach Verabreichung zu falsch hohen MMP- oder TIMP-Serumkonzentrationen bei den Patienten geführt haben könnten, untersucht. Obwohl in dieser Studie in nur einer ivIg Charge das Vorhandensein von Spuren von MMP-9, -2 sowie TIMP-2 ausgeschlossen wurde, gehen wir davon aus, dass sich die gängigen ivIg-Kompositionen sowohl hinsichtlich ihres therapeutischen Effektes als auch des Gehaltes an MMPs und TIMPs entsprechen. Diese Aussage muss jedoch gegebenenfalls für die einzelnen Präparate überprüft werden.

5.5.5 Klinische Scores

MRC

Eine Fehlermöglichkeit bei der Festlegung der erreichten Punktzahlen im MRC Score liegt in der manuellen Kraftmessung. Sämtliche Daten entspringen dem subjektiven Empfinden des jeweiligen Untersuchers. In dieser Studie wurde die manuelle Kraftmessung allerdings stets von ein- und demselben Untersucher durchgeführt. Sollte das subjektive Empfinden nicht dem objektiven Kraftgrad entsprochen haben, bleibt die Größe dieses Fehlers konstant. Damit sind die Ergebnisse untereinander gut vergleichbar.

Eine weitere Fehlermöglichkeit liegt darin, dass ein Patient in Folge von Schmerzen oder Lustlosigkeit nicht in dem Maße wie er eigentlich dazu fähig wäre die Übungen mit dem Untersucher durchführte.

Angelini

Die Fehlerquellen des Angelini Scores umfassen letztendlich die des MRC Scores und des NSS. Die Punkte im Angelini Score werden durch Befragung des Patienten, was genau die Problematiken des NSS mit sich bringt, sowie subjektive Einschätzung des Untersuchers (hierzu siehe MRC) vergeben.

NSS

Beim NSS besteht eine Problematik der Verwertbarkeit des Tests zur Untersuchung des klinischen Verlaufs darin, dass die meisten in die Studie aufgenommenen Patienten diesen Score bereits von früheren stationären Aufenthalten kannten und dadurch unbewusst bei der Auswahl ihrer Antworten einem gewissen Einfluss aus Erinnerungen unterlegen gewesen sein könnten. Möglicherweise hätten die Angaben dann nicht exakt den momentanen

Gesundheitszustand sowie die momentane Fähigkeit zur Verrichtung von Alltagsaktivitäten widergespiegelt.

Da einige Patienten vor dem Beginn mit ivIg mehrere erfolglose Therapieversuche mit anderen Substanzen durchgeführt hatten, könnte ivIg für sie eine Art „Strohalm“ symbolisieren. Daher besteht auch die Möglichkeit einer absichtlich gemachten Falschangabe eines Patienten mit dem Ziel, weiterhin ivIg zu erhalten.

Aufgrund dieser Erkenntnisse wurden zur Bewertung des klinischen Verlaufs vor allem die Ergebnisse aus MRC und Angelini Score herangezogen.

5.5.6 Auswirkungen einer zusätzlichen Medikation aus einem Statin oder Immunmodulator

Neun der dreiunddreißig in dieser Studie untersuchten Patienten erhielten eine zu ivIg zusätzliche Therapie mit einem Statin oder Immunmodulator. Ein möglicher Einfluss von Statinen und Immunmodulatoren auf die Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs, aber auch auf Creatinkinase und Klinik ist zwar nicht Forschungsgegenstand dieser Studie, sollte aber bei der Beurteilung der hier erhobenen Daten berücksichtigt werden. Es besteht die Gefahr einer medikamenteninduzierten Verfälschung der Gesamtergebnisse von MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen, Punktzahlen in den klinischen Scores und Serumaktivitäten der CK, da die Ergebnisse dieser neun Patienten in den berechneten durchschnittlichen Ergebnissen der vier Gesamtpatientengruppen enthalten sind.

Die im Ergebnisteil herausgearbeiteten Unterschiede zwischen den Ergebnissen dieser neun Patienten und der jeweiligen Gesamtgruppe werden unter diesem Gliederungspunkt diskutiert und bei der abschließenden Beurteilung der Gesamtergebnisse berücksichtigt.

Während des gesamten Studienzeitraums wurden weder Art noch Dosis des zusätzlich verabreichten Therapeutikums verändert. Daher führen mögliche Nebenwirkungen vermutlich zu einer konstanten Ergebnisverfälschung bei den betroffenen Patienten im Vergleich zur jeweiligen Gesamtgruppe.

Patienten mit zusätzlicher Statintherapie

Ein Teil der Wirkungsmechanismen von Statinen beruht vermutlich auf einer Inhibition der T-Zell-Aktivierung [Youssef, 2002] sowie einer Verminderung der T-Zell-Migration durch die Blockade von Chemokinen und Matrixmetalloproteinasen [Greenwood, 2003]. Darüber hinaus vermögen Statine die Expression der Entzündungsmediatoren iNOS, TNF α , IL-1 β sowie IL-6 im ZNS zu reduzieren [Stanislaus, 1999; Menge, 2005]. Dabei ist erwähnenswert, dass TNF α wiederum als Induktor von MMP-9 bekannt ist [Shapiro, 2002]. Es existieren Studien, in denen unter anderem im Rahmen der Therapie der Multiplen Sklerose (MS) [Stanislaus, 1999; Youssef, 2002] und des ischämischen Schlaganfalls [Endres, 1998; Liu, 1993; Crisby, 2001] immunregulatorische und antientzündliche Wirkungsmechanismen von Statinen nachgewiesen werden konnten [Menge, 2005]. Bei der MS-Therapie stellt die Hemmung der MMP-9 einen der wesentlichen Wirkungsmechanismen von INF β dar. Bei der Kombination von INF β mit einem Statin ist ein additiver Effekt in der Hemmung der MMP-9 wahrscheinlich [Stuve, 1996]. Bei der Therapie des ischämischen Schlaganfalls ist die Verminderung der Expression von MMPs, die zu einer Aufweichung der fibrösen Atheromkappen führen, durch Statine von Bedeutung [Crisby, 2001]. Luan et al. fanden heraus, dass Statine im Rahmen der Stabilisierung von atherosklerotischen Plaques die

induzierte oder anlagebedingte Sekretion von MMP-9 und -2 aus Makrophagen oder glatten Gefäßmuskelzellen hemmen [Luan, 2003].

S-IBM

Bei einer der Gesamtgruppe entsprechenden Modulation der MMP-Serumkonzentrationen der beiden s-IBM-Patienten mit zusätzlicher Statintherapie fielen, bei Betrachten der Höhe der Konzentrationen, an allen drei Tagen deutlich niedrigere MMP-9-Serumkonzentrationen im Vergleich zur Gesamtgruppe auf. Diese über den gesamten Studienzeitraum konstante Erniedrigung der MMP-9-Serumkonzentrationen könnte auf einer Hemmung der Expression, Sekretion und Aktivität von MMP-9 infolge der Statintherapie beruhen [Stuve, 1996; Luan, 2003]. Allerdings fanden sich derart konstant niedrige MMP-9-Serumkonzentrationen, bei Betrachtung jedes einzelnen Patienten dieser Gruppe, auch bei s-IBM-Patienten ohne eine Zusatztherapie mit Statinen. Daher ist die Wahrscheinlichkeit, dass es sich bei diesen Ergebnissen um Bestandteile des normalen Patientenquerschnitts handelt sehr groß. Höhe und Modulation der TIMP-1-Serumkonzentrationen entsprachen der Gesamtgruppe. Bei grundsätzlich ähnlich hohen MMP-2-Serumkonzentrationen unterschied sich die Modulation der MMP-2-Serumkonzentrationen der beiden s-IBM-Patienten mit einer Statintherapie von der der s-IBM-Gesamtgruppe durch eine durchschnittliche Abnahme der MMP-2-Serumkonzentration von Tag 0 bis 60 anstelle einer Zunahme. Die TIMP-2-Serumkonzentrationen hingegen glichen sowohl in Höhe als auch Modulation denen der Gesamtgruppe. Dies brachte teilweise beachtliche Veränderungen des Quotienten MMP-2/ TIMP-2 mit sich.

Auswirkungen der Statintherapie auf die Modulation der MMP-2- oder MMP-9-Serumkonzentrationen sind sehr unwahrscheinlich, da während des Studienzeitraumes keine Veränderungen der Dosis oder der Substanz durchgeführt wurden. Folglich könnte grundsätzlich nur eine konstante Verschiebung der Konzentrationen in eine Richtung auf die Statintherapie zurückgeführt werden. Außerdem fällt bei getrennter Betrachtung dieser beiden s-IBM-Patienten auf, dass sich lediglich die MMP-2-Serumkonzentrationen des einen der beiden Patienten unterschiedlich zum Gesamtdurchschnitt verhielten. Daher werden die beschriebenen Abweichungen als normale Gegebenheit in einem Querschnitt von Patienten und nicht als Auswirkung der zusätzlich durchgeführten Statintherapie gewertet.

Die beiden s-IBM-Patienten erreichten, vermutlich aufgrund der deutlich erniedrigten MMP-9-Serumkonzentrationen über den gesamten Studienzeitraum, regelmäßig höhere Punktzahlen in allen drei klinischen Scores als die s-IBM-Gesamtgruppe. Eine direkte Statinwirkung würde sich eher in einem Kraftverlust der Muskulatur äußern [Rote Liste, 2003]. Da es sich bei den an allen drei Messtagen erniedrigten MMP-9-Serumkonzentrationen am ehesten um einen Normalbefund im Patientenquerschnitt handelt, kann auch eine indirekte Statinwirkung auf die Muskulatur über eine Erniedrigung von MMP-9 weitgehend ausgeschlossen werden.

Die CK-Aktivität im Serum der beiden s-IBM-Patienten war gleich bleibend an beiden Messtagen unter den Gesamtdurchschnitt erniedrigt. Als seltene Nebenwirkung der Statine ist jedoch nur eine deutliche Zunahme der CK-Aktivität im Serum bekannt [Rote Liste, 2003].

MMN

Bei Betrachten der Ergebnisse der beiden MMN-Patienten mit einer zusätzlichen Statintherapie (siehe 4.1.2) kann eine Veränderung der Serumkonzentrationen von MMP-9

und -2 sowie TIMP-1 und -2 durch die Statintherapie weitgehend ausgeschlossen werden, da sich die gemessenen Werte in einem engen Bereich um den Gesamtdurchschnitt aufhielten. Eine Tendenz der geringfügig veränderten Konzentrationen in eine bestimmte Richtung ist nicht erkennbar. Auch die Modulation der MMP- sowie TIMP-Serumkonzentrationen entsprach weitgehend der der MMN-Gesamtgruppe.

Damit sind die Unterschiede in den Ergebnissen dieser beiden Patienten zur Gesamtgruppe am ehesten Bestandteil der normalen Varianz in einem Patientenquerschnitt.

Die durchschnittlichen Ergebnisse in den drei klinischen Scores entsprachen im Wesentlichen, unter Berücksichtigung normaler Schwankungen in einem Patientenquerschnitt, dem Gesamtkollektiv der MMN-Patienten.

PM

Modulation und Höhe der MMP-2-, TIMP-2- sowie TIMP-1-Serumkonzentrationen bei der PM-Patientin, die sowohl ein Statin als auch Azathioprin erhielt, ähnelten der Gesamtgruppe der PM-Patienten. Die MMP-9-Serumkonzentrationen entsprachen zwar in der Modulation ebenfalls der Gesamtgruppe, waren aber an allen drei Messtagen stark über den Gesamtdurchschnitt erhöht. Daraus folgten, bei nur mäßiger Erhöhung der TIMP-1-Serumkonzentrationen, deutlich erhöhte Quotienten MMP-9/ TIMP-1 im Vergleich zur Gesamtgruppe.

Eine Erhöhung der Serumkonzentrationen von MMP-9 durch ein Statin, auch in Kombination mit Azathioprin, ist nicht bekannt [Rote Liste, 2003].

Auch die deutliche Erniedrigung der Serumaktivität der CK ist als Nebenwirkung einer Statin- oder Azathioprintherapie nicht bekannt. Im Gegenteil werden eher deutlich erhöhte CK-Serumaktivitäten auf eine Therapie mit einem Statin zurückgeführt [Rote Liste, 2003].

In den drei klinischen Scores erzielte diese Patientin außer im NSS deutlich schlechtere Werte als der Gesamtdurchschnitt der PM-Patienten. Eine Zunahme der Intensität der Polymyositis durch die Therapie mit einem Statin in Kombination mit dem Immunsuppressivum Azathioprin ist denkbar [Rote Liste, 2003]. Allerdings deutet die Notwendigkeit einer zu ivIg zusätzlichen Azathioprin-Therapie auf einen ohnehin überdurchschnittlich schweren Krankheitsverlauf hin. Die schlechteren Ergebnisse dieser Patientin in den klinischen Scores im Vergleich zur Gesamtgruppe sind, auch angesichts der Tatsache, dass es sich bei dieser Patientin um einen Einzelfall handelt, am ehesten auf eine normale Schwankung im Patientenquerschnitt zurückzuführen.

Patienten mit zusätzlicher immunmodulatorischer Therapie

Eine bekannte, aber seltene Nebenwirkung von Azathioprin ist eine neu auftretende Myalgie [Rote Liste, 2003].

Corticosteroide führen bekanntermaßen bei höher dosierter Einnahme über längere Zeit fast regelmäßig zu einer Muskelatrophie [Rote Liste, 2003].

Der Effekt von Corticosteroiden auf MMPs ist umstritten. Waubant et al. nehmen an, dass Corticosteroide die Blut-Hirn-Schranke über eine Abnahme der Konzentration der aktiven MMP-9 stabilisieren [Waubant, 1999]. Obwohl Sellebjerg et al. keine Aktivitätsveränderung von MMP-9 im Liquor von MS-Patienten nach der Behandlung mit Methylprednisolon messen konnten [Sellebjerg, 2000], bestätigten Rosenberg et al. in einer Studie mit sieben

MS-Patienten, dass Corticosteroide die Produktion von MMPs und TIMPs im Liquor beeinflussen. Die MMP-9-Konzentration im Liquor nahm nach einer Steroidtherapie statistisch signifikant ab. Darüber hinaus fand sich eine statistisch signifikante Zunahme von MMP-9/ TIMP-1-Komplexen im Liquor, was auf eine positive Beeinflussung der Liquor-TIMP-Spiegel durch Corticosteroide hindeutet [Rosenberg, 1996]. Bei der Analyse von MMPs und TIMPs im Serum von MS-Patienten konnte statt dessen eine Zunahme der aktiven MMP-9 nach der Gabe von Methylprednisolon gemessen werden [Mirowska, 2004]. Diese, wie bei den Auswirkungen von ivIg auf MMPs und TIMPs, ähnliche Uneinigkeit bezüglich der Auswirkungen von Corticosteroiden auf MMPs und TIMPs, erschwert die Beurteilung gegebenenfalls vorhandener Nebenwirkungen der zusätzlichen Corticosteroidtherapie bei den drei betroffenen Patienten. Für den Fall, dass kein einheitlicher Trend in der Modulation der MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen bei diesen drei Patienten festzustellen ist, wird davon ausgegangen, dass die im Rahmen dieser Studie oral verabreichten, kleineren Dosen von Corticosteroiden keinerlei Auswirkungen auf die MMP- und TIMP-Konzentrationen zumindest im Serum dieser drei Patienten haben.

CIDP

Höhe und Modulation der MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen des CIDP-Patienten mit zusätzlicher immunmodulatorischer Therapie mit Corticosteroiden und der CIDP-Gesamtgruppe entsprachen sich weitgehend. Lediglich an Tag 0 war die MMP-9-Serumkonzentration des einen CIDP-Patienten im Vergleich zum Gesamtdurchschnitt sehr stark erhöht. Da die Corticosteroide nur in einer gleich bleibenden Dosis verabreicht wurden, ist diese nur an einem Messtag bestehende Konzentrationserhöhung von MMP-9 mit Sicherheit nicht auf die Corticosteroidtherapie zurückzuführen. Die Abweichungen der MMP- und TIMP-Serumkonzentrationen dieses Patienten vom Gesamtdurchschnitt sind am ehesten als normale Schwankungen in einem Patientenquerschnitt zu beurteilen.

Als Folgeerscheinung einer Dauertherapie mit Corticosteroiden ist die corticosteroidinduzierte Muskelatrophie bekannt [Rote Liste, 2003]. Die an allen vier Messtagen überdurchschnittlichen klinischen Leistungen hinsichtlich der Muskelkraft sowie der Fähigkeit zur Verrichtung von Alltagsaktivitäten schließen eine corticosteroidinduzierte Muskelatrophie bei diesem Patienten aus.

PM

Diese Patientin erhielt eine zusätzliche Therapie mit sowohl einem Statin als auch Azathioprin und wurde bereits weiter oben abgehandelt.

S-IBM

Bei den drei s-IBM-Patienten mit einer zusätzlichen immunmodulatorischen Therapie entsprachen Modulation und Höhe der Serumkonzentrationen von MMP-2, TIMP-2 sowie TIMP-1 dem Gesamtdurchschnitt. Die Modulation der MMP-9-Serumkonzentrationen dieses Patienten unterschied sich nur geringfügig von der der s-IBM-Gesamtgruppe. Allerdings lagen die Werte der MMP-9-Serumkonzentrationen an allen drei Messtagen zwei- bis dreimal höher als bei der Gesamtgruppe. Folglich war auch das Verhältnis MMP-9/ TIMP-1 im Vergleich zur Gesamtgruppe deutlich erhöht. An dieser beachtlichen durchschnittlichen

Erhöhung der MMP-9-Serumkonzentrationen waren maßgeblich die beiden s-IBM-Patienten mit zusätzlicher Corticosteroidtherapie beteiligt. Der s-IBM-Patient mit zusätzlicher Azathioprintherapie wies dem Gesamtdurchschnitt weitgehend entsprechende MMP-9-Serumkonzentrationen auf.

Da die Auswirkungen einer Corticosteroidtherapie auf MMP-9 sehr umstritten sind [Rosenberg, 1996; Waubant, 1999; Mirowska, 2004; Seltebjerg, 2000] und bei der Untersuchung der Serumkonzentrationen jedes einzelnen s-IBM-Patienten der Gesamtgruppe bei ungefähr einem Drittel der s-IBM-Patienten entsprechend erhöhte MMP-9-Serumkonzentrationen auffielen, sind die beiden s-IBM-Patienten, die die zusätzliche Corticosteroidtherapie erhielten, mit ihren erhöhten MMP-9-Serumkonzentrationen am ehesten Bestandteil eines Patientenquerschnitts und dürfen ohne weiteres an der Bildung des Gesamtdurchschnitts beteiligt werden.

In MRC, Angelini sowie NSS erzielten die beiden s-IBM-Patienten mit der Corticosteroidtherapie im Vergleich zur s-IBM-Gesamtpatientengruppe nur unterdurchschnittlich viele Punkte. Hier besteht die Möglichkeit einer corticosteroidinduzierten Muskelatrophie [Rote Liste, 2003]. Allerdings erreichten auch einzelne Patienten der Gesamt-s-IBM-Gruppe sogar deutlich schlechtere Ergebnisse in den klinischen Scores als diese beiden Patienten. Daher werden auch die unterdurchschnittlichen klinischen Ergebnisse dieser beiden Patienten als normaler Bestandteil eines Querschnitts aus s-IBM-Patienten angesehen.

Auswirkungen der Azathioprintherapie auf die Klinik des einen s-IBM-Patienten erscheinen unwahrscheinlich, da dieser Patient im Vergleich zur Gesamtpatientengruppe überdurchschnittlich hohe Punktzahlen in allen drei klinischen Scores erreichen konnte.

Die Serum-CK-Aktivität bei diesem Patienten war deutlich über den Durchschnitt der Gesamtpatientengruppe erhöht. Eine Auswirkung von Azathioprin auf die Serum-CK-Aktivität ist nicht bekannt.

Die Serum-CK-Aktivität bei den beiden s-IBM-Patienten mit der zusätzlichen Corticosteroidtherapie war im Vergleich zu der bei der Gesamtpatientengruppe nur geringfügig erniedrigt. Eine Verminderung der Serum-CK-Aktivität ist als Nebenwirkung von Corticosteroiden nicht bekannt [Rote Liste, 2003].

Zusammenfassend können aufgrund der kleinen Fallzahlen in vorliegender Studie keine allgemeingültigen Aussagen über Nebenwirkungen von Statinen, Corticosteroiden oder Azathioprin auf die Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs, Muskelkraft, Fähigkeit zur Ausübung von Alltagsaktivitäten oder Serum-CK-Aktivität getroffen werden. Dies ist auch nicht primäre Zielsetzung dieser Studie. Allerdings konnten Nebenwirkungen einer der drei zusätzlichen Therapien bei den neun besprochenen Patienten weitgehend ausgeschlossen werden. Eine Berücksichtigung der Abweichungen der Ergebnisse dieser neun Patienten vom jeweiligen Gesamtdurchschnitt ist somit bei der Bewertung der jeweiligen durchschnittlichen Gesamtergebnisse nicht erforderlich.

6 Zusammenfassung

Matrixmetalloproteinasen (MMPs) und ihre natürlichen Inhibitoren (TIMPs) sind an der Pathogenese entzündlicher Neuro- und Myopathien beteiligt. Die Verschiebung des fein regulierten Gleichgewichtes zwischen einer MMP und der jeweils zugehörigen TIMP spielt dabei eine entscheidende Rolle.

Nur die nicht an TIMP-1 gebundene, freie, aktive MMP-9, die aus dem Verhältnis MMP-9/TIMP-1 hervorgeht, beispielsweise, ist wesentlich für die Schädigung von Muskel- und Nervengewebe. Die aktive MMP-2, die durch das Verhältnis MMP-2/TIMP-2 ausgedrückt wird, spielt vor allem bei Reparatur- und Regenerationsvorgängen im Muskel- und Nervengewebe eine entscheidende Rolle.

Intravenöse Immunglobuline (ivIg) sind weltweit gängige therapeutisch verabreichte Plasmakomponenten. Sie werden bei der Therapie autoimmuner und systementzündlicher Krankheiten, wie beispielsweise dem Guillain-Barré-Syndrom, der CIDP, MMN oder den inflammatorischen Myopathien eingesetzt.

In der vorliegenden Studie wurde das Serum von 33 Patienten mit entweder s-IBM, PM, MMN oder CIDP sowie von 15 Kontrollpersonen mittels ELISA auf seinen Gehalt an MMP-9, -2, TIMP-1 und -2 hin untersucht. Im Serum aller Patienten sowie aller Kontrollpersonen konnte eine Enzymaktivität von sowohl MMP-9 und -2 als auch TIMP-1 und -2 nachgewiesen werden.

Bei den 33 Patienten wurde die Modulation der Serumkonzentrationen der MMPs und TIMPs über den Zeitraum eines Therapiezyklus mit hoch dosierten ivIg untersucht.

Vor Therapie mit ivIg waren die MMP-9- und TIMP-1-Serumkonzentrationen bei allen vier Patientengruppen gegenüber der Kontrollgruppe erhöht, die MMP-2- und TIMP-2-Serumkonzentrationen hingegen erniedrigt. Unmittelbar nach Therapie mit ivIg nahmen die MMP-2-, TIMP-2- sowie TIMP-1-Serumkonzentrationen im Serum nahezu aller in die Studie eingeschlossener Patienten zu, wohingegen die Serumkonzentrationen von MMP-9 abnahmen. 60 Tage nach ivIg erreichten die MMP-9-Serumkonzentrationen bei allen Patienten Spiegel oberhalb des Ausgangswertes von Tag 0. Die MMP-2-Serumkonzentrationen näherten sich 60 Tage nach ivIg infolge einer weiteren Zunahme dem Kontrollwert. Die TIMP-1- sowie TIMP-2-Serumkonzentrationen lagen bei allen Patienten an Tag 60 unterhalb der unmittelbar nach ivIg gemessenen Konzentrationen.

Die Modulation der Konzentrationen der aktiven MMP-9 parallelisierte bei allen vier Patientengruppen weitgehend die Modulation der Gesamt-MMP-9-Serumkonzentrationen.

Die aktive MMP-2 hingegen nahm, im Gegensatz zu den MMP-2-Gesamt-Serumkonzentrationen, bei nahezu allen Patienten unmittelbar nach der Gabe von ivIg ab. Zusammenfassend näherten sich die unmittelbar nach ivIg erniedrigten Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 maximal an den Kontrollwert an, wohingegen die ebenfalls unmittelbar nach ivIg erniedrigten Serumkonzentrationen der aktiven MMP-2 maximal vom Kontrollwert entfernt lagen.

Die Veränderungen in den Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs, zum einen unmittelbar nach Eintritt der ivIg-Wirkung, zum anderen unmittelbar nach dem Ende der kurzen Wirkungsperiode von ivIg (Tag 60), sprechen für eine Beeinflussung von MMPs und TIMPs durch ivIg im Sinne der Wiederherstellung eines physiologischen MMP/ TIMP-Gleichgewichtes im Organismus.

Die Abnahme sowohl der aktiven MMP-9 als auch -2 im Serum unmittelbar nach dem Eintritt der Wirkung von ivIg wurde bei fast allen Patienten von einer Verbesserung der klinischen

Symptomatik begleitet. Zum Zeitpunkt des Abklingens der ivIg-Wirkung an Tag 60 wurde gleichzeitig mit der Zunahme der Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 und -2 ein Rückfall in der Klinik festgestellt.

Bisher konnte nicht abschließend geklärt werden, ob sich die MMP- und TIMP-Konzentrationen in Muskel, Nerv und Serum entsprechen oder unterscheiden.

Die gleichzeitig mit der Abnahme der über den Kontrollwert erhöhten Serumkonzentration der aktiven MMP-9 auftretende Verbesserung der Klinik beziehungsweise der gleichzeitig mit dem Anstieg der Serumkonzentration der aktiven MMP-9 stattfindende Rückfall in der Klinik spiegelt genau die im Abbau der ECM liegende Hauptfunktion der MMP-9 wider. Folglich sprechen die Ergebnisse dieser Studie für einen vergleichbaren Gehalt an MMP-9 und TIMP-1 in Muskel- und Nervengewebe sowie im Serum.

Hohe Enzymaktivitäten der MMP-2 hingegen sollen zu gesteigerten Reparatur- und Regenerationsprozessen in Nerven- und Muskelgewebe und damit zu einer Verbesserung der klinischen Symptomatik der betroffenen Patienten führen. Diese Aussage trifft auf vorliegende Studienergebnisse zu, wenn sich die Konzentration der aktiven MMP-2 im Muskel- und Nervengewebe der betreffenden Patienten reziprok zu der im Serum verhält. Eine erhöhte MMP-2-Enzymaktivität im Muskel- oder Nervengewebe würde dann gleichzeitig mit einer erniedrigten MMP-2-Enzymaktivität im Serum auftreten.

Insgesamt sprechen die in dieser Studie gewonnenen Ergebnisse dafür, dass die Modulation des Verhältnisses MMP-9/ TIMP-1 beziehungsweise MMP-2/ TIMP-2 die Auswirkungen einer Therapie mit ivIg auf die klinische Symptomatik von Patienten mit s-IBM, MMN, PM und CIDP widerspiegelt. Vorausgesetzt, der klinische Verlauf entspricht dem allgemeinen Krankheitsverlauf, parallelisiert die Modulation der Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 sowie -2 somit den allgemeinen Krankheitsverlauf von s-IBM, MMN, PM und CIDP. Damit übernehmen die Serumkonzentrationen der aktiven MMP-9 sowie -2 die Rolle eines im Blut bestimmbaren Parameters zur Verlaufskontrolle von s-IBM, MMN, CIDP und PM unter iv-Immunglobulintherapie.

Der Verlauf der Serum-CK-Aktivitäten zeigte in dieser Studie keinen Zusammenhang mit dem klinischen Verlauf in den vier Patientengruppen.

Dies ist eine der ersten Studien, in denen die Modulation von MMP- und TIMP-Konzentrationen im Serum von Patienten mit entzündlichen Myo- und Neuropathien über den Zeitraum eines Therapiezyklus mit hoch dosierten ivIg untersucht wird. Es bedarf nachfolgender Studien über einen längeren Untersuchungszeitraum und mit höheren Fallzahlen, vor allem an PM- und CIDP-Patienten, zur Bestätigung dieser Ergebnisse. Engmaschigere Kontrollen der Modulation der Serumkonzentrationen von MMPs und TIMPs sind der nächste Schritt zur weiteren Beurteilung der hier gewonnenen Ergebnisse. Von besonderer Bedeutung für Nachfolgestudien ist die Abklärung der Vergleichbarkeit von MMP- beziehungsweise TIMP-Konzentrationen im Muskel-, Nervengewebe und im peripheren Blut.

Literaturverzeichnis

- Amato, A.A.** et al., *Inclusion body myositis: clinical and pathological boundaries*. Ann Neurol, 1996. 40(4): p. 581-586.
- Baker, A.H.** et al., *Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities*. J Cell Sci, 2002. 115(Pt 19): p. 3719-3727.
- Barohn, R.J.** et al., *Inclusion body myositis: explanation for poor response to immunosuppressive therapy*. Neurology, 1995. 45(7): p. 1302-1304.
- Bello, L.** et al., *Simultaneous inhibition of glioma angiogenesis, cell proliferation, and invasion by a naturally occurring fragment of human metalloproteinase-2*. Cancer Res, 2001. 61: p. 8730-8736.
- Beuche, W.** et al., *Matrix metalloproteinase-9 is elevated in serum of patients with amyotrophic lateral sclerosis*. Neuroreport, 2000. 11(16): p. 3419-3422.
- Birkedal-Hansen, H.**, *Proteolytic remodelling of extracellular matrix*. Current Opinion in Cell Biology, 1995. 7: p. 728-735.
- Borden, P.** et al., *Transcriptional control of matrix metalloproteinases and the tissue inhibitors of matrix metalloproteinases*. Crit Rev Eukaryotic Gene Expression, 1997. 7: p. 159-178.
- Brand, K.** et al., *Treatment of colorectal liver metastases by adenoviral transfer of tissue inhibitor of metalloproteinases-2 into the liver tissue*. Cancer Res, 2000. 60: p. 5723-5730.
- Brooks, P.** et al., *Disruption of angiogenesis by PEX, a noncatalytic metalloproteinase fragment with integrin binding activity*. Cell, 1998. 92: p. 391-400.
- Carmeli, E.** et al., *Matrix metalloproteinases and skeletal muscle: a brief review*. Muscle Nerve, 2004. 29(2): p. 191-197.
- Cawston, T.**, *Matrix metalloproteinases and TIMPs: properties and implications for the rheumatic diseases*. Molecular Medicine Today, 1998: p. 130-137.
- Chen, L.Z.** et al., *A refined physical map of the long arm of human chromosome 16*. Genomics, 1991. 10: p. 308-312.
- Cherin, P.** et al., *Results and long-term followup of intravenous immunoglobulin infusions in chronic, refractory polymyositis: an open study with thirty-five adult patients*. Arthritis Rheum, 2002. 46(2): p. 467-474.
- Chesler, L.** et al., *Metalloproteinase inhibition and erythroid potentiation are independent activities of tissue inhibitor of metalloproteinases-1*. Blood, 1995. 86: p. 4506-4515.
- Choi, H.R.** et al., *Expression and enzymatic activity of MMP-2 during healing process of the acute supraspinatus tendon tear in rabbits*. J Orthop Res, 2002. 20(5): p. 927-933.
- Choi, Y.C.** et al., *Expression of matrix metalloproteinases in the muscle of patients with inflammatory myopathies*. Neurology, 2000. 54(1): p. 65-71.
- Creange, A.** et al., *Matrix metalloproteinase-9 is increased and correlates with severity in Guillain-Barre syndrome*. Neurology, 1999. 53(8): p. 1683-1691.
- Crisby, M.** et al., *Pravastatin treatment increases collagen content and decreases lipid content, inflammation, metalloproteinases, and cell death in human carotid plaques: implications for plaque stabilization*. Circulation, 2001. 103: p. 926-933.
- Dalakas, M.C.** et al., *Polymyositis and dermatomyositis*. Lancet, 2003. 362(9388): p. 971-982.
- Dalakas, M.C.**, *High-dose intravenous immunoglobulin in inflammatory myopathies: experience based on controlled clinical trials*. Neurol Sci, 2003. 24 Suppl 4: p. S256-259.
- Dalakas, M.C.**, *Immunopathogenesis of inflammatory myopathies*. Ann Neurol, 1995. 37 Suppl 1: p. S74-86.
- Dalakas, M.C.**, *Intravenous immunoglobulin in autoimmune neuromuscular diseases*. Jama, 2004. 291(19): p. 2367-2375.

- Dalakas, M.C.** et al., *Treatment of inclusion body myositis with IVIg: a double-blind, placebo-controlled study.* *Neurol*, 1997. 48: p. 712-716.
- Dalakas, M.C.**, *Therapeutic approaches in patients with inflammatory myopathies.* *Semin Neurol*, 2003. 23(2): p. 199-206.
- Darville, T.** et al., *Intravenous Immunoglobuline inhibits staphylococcal toxin-induced human mononuclear phagocyte tumor necrosis factor alpha production.* *Infect Immun.*, 1997. 65: p. 366-372.
- Demestre, M.** et al., *The pro and the active form of matrix metalloproteinase-9 is increased in serum of patients with amyotrophic lateral sclerosis.* *Journal of Neuroimmunology*, 2004. 159: p. 146-154.
- Donofrio, P.D.**, *Immunotherapy of idiopathic inflammatory neuropathies.* *Muscle Nerve*, 2003. 28(3): p. 273-292.
- El Fahime, E.** et al., *In vivo migration of transplanted myoblasts requires matrix metalloproteinase activity.* *Exp Cell Res*, 2000. 258(2): p. 279-287.
- Emmi, L.** et al., *The role of intravenous immunoglobulin therapy in autoimmune and inflammatory disorders.* *Neurol Sci*, 2002. 23 Suppl 1: p. S1-8.
- Endres, M.** et al., *Stroke protection by 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase inhibitors mediated by endothelial nitric oxide synthase.* *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998. 95: p. 8880-8885.
- Federico, P.** et al., *Multifocal motor neuropathy improved by IVIg: randomized, double-blind, placebo-controlled study.* *Neurology*, 2000. 55: p. 1256-1262.
- Feldmann, E.** et al., *Immunosuppressive treatment in multifocal motor neuropathy.* *Ann Neurol*, 1991. 30: p. 397-401.
- Fischer, D.** et al., *[Multifocal motor neuropathy: diagnosis and differential diagnosis].* *Nervenarzt*, 2002. 73(12): p. 1153-1159.
- Fishman, P.** et al., *IVIg to prevent tumor metastases (Review).* *Int J Oncol*, 2002. 21(4): p. 875-880.
- Fujimoto, N.** et al., *A one-step sandwich enzyme immunoassay for inactive precursor and complexed forms of human matrix metalloproteinase 9 (92 kDa gelatinase/ type IV collagenase, gelatinase B) using monoclonal antibodies.* *Clin. Chim. Acta*, 1994. 231: p. 79-88.
- Gayathri, N.** et al., *Inclusion body myositis (IBM).* *Clin Neuropathol*, 2000. 19(1): p. 13-20.
- Greenwood, J.** et al., *Lovastatin inhibits brain endothelial cell Rho-mediated lymphocyte migration and attenuates experimental autoimmune encephalomyelitis.* *FASEB J*, 2003. 17: p. 905-907.
- Grogan, P.M.** et al., *Inflammatory Myopathies.* *Curr Treat Options Neurol*, 2004. 6(2): p. 155-161.
- Guedez, L.** et al., *Tissue inhibitor of metalloproteinase-1 alters the tumorigenicity of Burkitt's lymphoma via divergent effects on tumor growth and angiogenesis.* *Am J Pathol*, 2001. 158: p. 1207-1215.
- Guerin, C.W.** et al., *Synthesis and secretion of matrix-degrading metalloproteases by human skeletal muscle satellite cells.* *Dev Dyn*, 1995. 202(1): p. 91-99.
- Hahn, A.F.** et al., *Intravenous immunoglobulin treatment in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy. A double-blind, placebo-controlled, cross-over study.* *Brain*, 1996. 119 (Pt4): p. 1076-1077.
- Hartung, H.P.** et al., *The role of matrix metalloproteinases in autoimmune damage to the central and peripheral nervous system.* *J Neuroimmunol*, 2000. 107(2): p. 140-147.
- Hayakawa, T.** et al., *Cell growth-promoting activity of tissue inhibitor of metalloproteinase-2 (TIMP-2).* *J Cell Sci*, 1994. 107: p. 2373-2379.
- Hoegy, S.E.** et al., *J. Biol. Chem.*, 2001. 276: p. 3203.

- Hohlfeld, R.**, *Immunpathogenese der Myositiden*. Management of Neuromuscular Diseases, Letter Nr.2, 1996.
- Huhtala, P. et al.**, *Structure of the human type IV collagenase gene*. J Biol Chem, 1990. 265: p. 11077-11082.
- Huhtala, P. et al.**, *Complete structure of the human gene for 92-kDa type IV collagenase: divergent regulation of expression for the 92- and 72-kD enzyme genes in HT-1080 cells*. J Biol Chem, 1991. 266: p. 16485-16490.
- Jung, K. et al.**, *A role of specimen collection in preanalytical variation of metalloproteinases and their inhibitors in blood*. Clin. Chem., 1996. 42: p. 2043-2045.
- Kaveri, S. et al.**, *Antibodies to a conserved region of HLA class I molecules, capable of modulating CD8 T cell-mediated function, are present in pooled normal immunoglobulin for therapeutic use*. J Clin Invest, 1996. 97(3): p. 865-869.
- Kherif, S. et al.**, *Expression of matrix metalloproteinases 2 and 9 in regenerating skeletal muscle: a study in experimentally injured and mdx muscles*. Dev Biol, 1999. 205(1): p. 158-170.
- Kieseier, B.C. et al.**, *Expression of specific matrix metalloproteinases in inflammatory myopathies*. Brain, 2001. 124(Pt 2): p. 341-351.
- Kieseier, B.C. et al.**, *Matrix metalloproteinases in inflammatory demyelination: targets for treatment*. Neurology, 1999. 53(1): p. 20-25.
- Kieseier, B.C. et al.**, *Differential expression of matrix metalloproteinases in bacterial meningitis*. Brain, 1999. 122: p. 1579-1587.
- Knezevic-Maramica, I. et al.**, *Intravenous immune globulins; an update for clinicians*. Transfusion, 2003. 43: p. 1460-1480.
- Kolb, S.A. et al.**, *Matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in viral meningitis: upregulation of MMP-9 and TIMP-1 in cerebrospinal fluid*. Journal of Neuroimmunology, 1998. 84: p. 143-150.
- Köller, H. et al.**, *[Chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy]*. Nervenarzt, 2003. 74(4): p. 320-333.
- Koskinen, S.O. et al.**, *Serum concentrations of collagen degrading enzymes and their inhibitors after downhill running*. Scand J Med Sci Sports, 2001. 11: p. 9-15.
- Kumamoto, T. et al.**, *Clinicopathologic characteristics of polymyositis patients with numerous tissue eosinophils*. Acta Neurol Scand, 1996. 94(2): p. 110-114.
- La Fleur, M. et al.**, *Basement membrane and repair of injury to peripheral nerve: defining a potential role for macrophages, matrix metalloproteinases, and tissue inhibitor of metalloproteinases-1*. J Exp Med, 1996. 184(6): p. 2311-2326.
- Lambert, E. et al.**, *TIMPs as multifacial proteins*. Crit Rev Oncol Hematol, 2004. 49(3): p. 187-198.
- Lee, M. et al.**, *Serum gelatinases B, TIMP-1 and TIMP-2 levels in multiple sclerosis*. Brain, 1999. 122: p. 191-197.
- Léger, J.-M. et al.**, *Intravenous immunoglobulin in the treatment of multifocal motor neuropathy with persistent conduction blocks: a randomized double-blind placebo controlled study*. Brain, 2000. 124: p. 145-163.
- Lemm, G.**, *Composition and properties of IVIg preparations that affect tolerability and therapeutic efficacy*. Neurology, 2002. 59(12 Suppl 6): p. S28-32.
- Leppert, D. et al.**, *Matrix metalloproteinase upregulation in chronic inflammatory demyelinating polyneuropathy and nonsystemic vasculitic neuropathy*. Neurology, 1999. 53(1): p. 62-70.
- Leppert, D. et al.**, *Matrix metalloproteinase-9 (gelatinase B) is selectively elevated in CSF during relapses and stable phases of multiple sclerosis*. Brain, 1998. 121: p. 2327-2334.

- Lewis, M.P.** et al., *Gelatinase-B (matrix metalloproteinase-9; MMP-9) secretion is involved in the migratory phase of human and murine muscle cell cultures.* J Muscl Res Cell Motil, 2000. 21: p. 223-233.
- Lindberg, C.** et al., *Inclusion body myositis: clinical, morphological, physiological and laboratory findings in 18 cases.* Acta Neurol Scand, 1994. 89(2): p. 123-131.
- Liu, T.** et al., *Interleukin-1 β mRNA expression in ischemic rat cortex.* Stroke, 1993. 24: p. 1746-1750.
- Löffler, G.** et al., *Die Proteasen; Zink; Zusammensetzung des Binde- und Stützgewebes; Antikörper und Antigenrezeptoren von B-Lymphocyten; Wechselwirkungen von Tumorzellen mit der extrazellulären Matrix.* Biochemie und Pathobiochemie, 1997. 6. Auflage: p. 284-285, 638-639, 734-743, 1064-1065, 1106-1107.
- Lorenzl, S.** et al., *Tissue inhibitors of matrix metalloproteinases are elevated in cerebrospinal fluid of neurodegenerative diseases.* J. Neurol. Sci., 2003. 207: p. 71-76.
- Luan, Z.** et al., *Statins inhibit secretion of metalloproteinases-1, -2, -3, and -9 from vascular smooth muscle cells and macrophages.* Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2003. 23(5): p. 769-775.
- Mackay, I.R.** et al., *Immunomodulation of autoimmune and inflammatory diseases with intravenous immune globulin.* N Engl J Med, 2001. 345: p. 747-755.
- Mastaglia, F.L.** et al., *Inflammatory myopathies: clinical, diagnostic and therapeutic aspects.* Muscle Nerve, 2003. 27(4): p. 407-425.
- Mendell, J.R.** et al., *Randomized controlled trial of IVIg in untreated chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy.* Neurology, 2001. 56: p. 445-449.
- Menge, T.** et al., *Statine zur Behandlung von Erkrankungen des zentralen Nervensystems.* Nervenarzt, 2005. 76: p. 426-437.
- Merimsky, O.** et al., *A possible role for IVIg in the treatment of soft tissue sarcoma: a clinical case and an experimental model.* Int J Oncol, 2002. 20(4): p. 839-843.
- Mimura, T.** et al., *[Treatment of steroid-resistant polymyositis and dermatomyositis].* Nippon Rinsho, 2001. 59(10): p. 2062-2070.
- Mirowska, D.** et al., *Increase of matrix metalloproteinase-9 in peripheral blood of multiple sclerosis patients treated with high doses of methylprednisolone.* J Neuroimmunol, 2004. 146(1-2): p. 171-175.
- Mouthon, L.** et al., *Mechanisms of action of intravenous immune globulin in immune-mediated diseases.* Clin Exp Immunol, 1996. 104 Suppl 1: p. 3-9.
- Nerlich, A.**, *Morphologie von Basalmembran- und -assoziierten Matrixproteinen in normalem und pathologischem Gewebe.* Veröffentl. aus der Pathologie, 1995. Bd. 144
- Neundörfer, B.** et al., *Polyneuropathien Klinik, Ätiologie und Elektrophysiologie.* Management of Neuromuscular Diseases, 2000. Letter Nr. 23: p. 1-6
- Nobile-Orazio, E.**, *Multifocal motor neuropathy.* J Neuroimmunol, 2001. 115(1-2): p. 4-18.
- O'Hanlon, G.** et al., *Mapping immunoreactive epitopes in the human peripheral nervous system using human monoclonal anti-GM1 ganglioside antibodies.* Acta Neuropathol (Berl), 1998. 95: p. 605-616.
- Oldfors, A.** et al., *Inclusion body myositis.* Curr Opin Neurol, 1999. 12: p. 527-533.
- Paul, R.** et al., *Matrix metalloproteinases contribute to the blood-brain barrier disruption during bacterial meningitis.* Ann Neurol, 1998. 44(4): p. 592-600.
- Payne, R.** et al., *Expression of the mitochondrial creatine kinase genes.* Mol Cell Biochem, 1994. 133-134: p. 235-243.
- Pearson, A.** et al., *Disease and disorders of muscle.* Adv Food Nutr Res, 1993. 37: p. 339-423.
- Platt, C.I.** et al., *Extracellular matrix and matrix metalloproteinases in sciatic nerve.* J Neurosci Res, 2003. 74(3): p. 417-429.

- Renaud, S.** et al., *Matrix metalloproteinases-9 and -2 in secondary vasculitic neuropathies*. Acta Neuropathol (Berl), 2003. 105(1): p. 37-42.
- Rezania, K.** et al., *Pathogenesis of chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy*. Front Biosci, 2004. 9: p. 939-945.
- Reznick, A.Z.** et al., *Expression of matrix metalloproteinases, inhibitor, and acid phosphatase in muscles of immobilized hindlimbs of rats*. Muscle Nerve, 2003. 27(1): p. 51-59.
- Roach, D.** et al., *Up-regulation of MMP-2 and MMP-9 leads to degradation of type IV collagen during skeletal muscle reperfusion injury: protection by the MMP inhibitor, doxycycline*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2002. 23: p. 260-269.
- Romanic, A.M.** et al., *The induction of 72-kD gelatinase in T cells upon adhesion to endothelial cells is VCAM-1 dependent*. J Cell Biol, 1994. 125(5): p. 1165-1178.
- Ronda, N.** et al., *Natural anti-endothelial cell antibodies (AECA)*. J Autoimmun., 1999. 13: p. 121-127.
- Ropper, A.H.**, *Current treatments for CIDP*. Neurology, 2003. 60(8 Suppl 3): p. S16-22.
- Rosenberg, G.A.** et al., *Effect of steroids on CSF matrix metalloproteinases in multiple sclerosis: relation to blood-brain barrier injury*. Neurology, 1996. 46(6): p. 1626-1632
- Rote Liste**, *Corticoide; Immunosuppressiva/ Azathioprin; HMG-CoA-Reduktasehemmer*. Rote Liste, 2003. 31 B; 51: 106-108; 58: 006-013
- Schoser, B.G.** et al., *Matrix metalloproteinases MMP-2, MMP-7 and MMP-9 in denervated human muscle*. Neuroreport, 1999. 10(13): p. 2795-2797.
- Schoser, B.G.** et al., *Matrix metalloproteinases in inflammatory myopathies: enhanced immunoreactivity near atrophic myofibers*. Acta Neurol Scand, 2002. 105(4): p. 309-313.
- Seiki, M.**, *The cell surface: the stage for matrix metalloproteinase regulation of migration*. Curr Opin Cell Biol, 2002. 14(5): p. 624-632.
- Sellebjerg, F.** et al., *Immunological effects of oral high-dose methylprednisolone in acute optic neuritis and multiple sclerosis*. Eur. J. Neurol., 2000. 7: p. 81-89.
- Sewell, W.** et al., *Immunomodulatory action of intravenous immunoglobulin*. Immunol 2002; 107: p. 387-393.
- Sewell, W.** et al., *In vivo modulation of cytokine synthesis by intravenous immunoglobulin*. Clin Exp Immunol, 1999. 116: p. 509-515.
- Shapiro, S.** et al., *Intravenous gamma globulin inhibits the production of matrix metalloproteinase-9 in macrophages*. Cancer, 2002. 95(9): p. 2032-2037.
- Sharshar, T.** et al., *MMP-9 correlates with electrophysiologic abnormalities in Guillain-Barre syndrome*. Neurology, 2002. 59(10): p. 1649-1651.
- Siebert, H.** et al., *Matrix metalloproteinase expression and inhibition after sciatic nerve axotomy*. J Neuropathol Exp Neurol, 2001. 60(1): p. 85-93.
- Simon, H.** et al., *IVIG - mechanisms of action*. Allergy 2003; 58: p. 543-552.
- Spuler, S.** et al., *Molekulare Physiologie des Muskels*. Muskelkrankheiten- Grundlagen, Diagnostik und Therapie, 2004. Ch. 2: p. 12.
- St Jean, P.L.** et al., *Characterization of a dinucleotide repeat in the 92 kD type IV collagenase gene (CLG4B), localization of CLG4B to chromosome 20 and the role of CLG4B in aortic aneurysmal disease*. Ann Hum Genet, 1995. 59: p. 17-24.
- Stallings, R.** et al., *Human creatin kinase genes on chromosomes 15 and 19, and proximity of the gene for the muscle form to the genes for apolipoprotein C2 and excision repair*. Am J Hum Genet, 1988. 43: p. 144-151.
- Stanislaus, R.** et al., *Amelioration of experimental allergic encephalomyelitis in Lewis rats by lovastatin*. Neurosci Lett, 1999. 269: p. 71-74.
- Stein, W.**, *Creatinkinase (Gesamtaktivität), Creatinkinase-Isoenzyme und -Varianten*. Labor und Diagnose, 1998. 5. Auflage: p. 73-83.
- Stein, W.** et al., *Plasma isoenzymes: the current status*. Creatine kinases, 1986: p. 95-101.

- Stuve, O.** et al., *Interferon beta-1b decreases the migration of T lymphocytes in vitro: effects on matrix metalloproteinase-9.* Ann Neurol, 1996. 40: p. 853-863.
- Takino, T.** et al., *Cloning of a human gene potentially encoding a novel matrix metalloproteinase having a C-terminal transmembrane domain.* Gene Ther, 1995. 155: p. 293-298.
- Teeling, J.L.** et al., *Human intravenous immunoglobulin (IVIg) preparations degranulate human neutrophils in vitro.* Clin Exp Immunol, 1998. 114: p. 264-270.
- Van den Berg, L.H.** et al., *The long-term effect of intravenous immunoglobulin treatment in multifocal motor neuropathy.* Brain, 1998. 121: p. 421-428.
- Van den Berg, L.H.** et al., *Treatment of multifocal motor neuropathy with high dose intravenous immunoglobulins: a double-blind, placebo-controlled study.* J Neurol Neurosurg Psychiatry, 1995. 59: p. 248-252.
- Van den Berg-Vos, R.M.** et al., *Multifocal motor neuropathy: long-term clinical and electrophysiological assessment of intravenous immunoglobulin maintenance treatment.* Brain, 2002. 125(Pt 8): p. 1875-1886.
- Van den Steen, P.E.** et al., *Matrix remodelling enzymes, the protease cascade and glycosylation.* Biochim Biophys Acta, 2001. 1528(2-3): p. 61-73.
- Van Schaik, I.N.** et al., *Intravenous immunoglobulin for chronic inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy: a systematic review.* Lancet Neurol, 2002. 1(8): p. 491-498.
- Vassilev, T.L.** et al., *Inhibition of cell adhesion antibodies arg-gly-asp (RGD) in normal immunoglobulin for therapeutic use (intravenous immunoglobuline, IVIG).* Blood, 1999. 93: p. 3624-3631.
- Villalba, L.** et al., *Update on therapy for refractory dermatomyositis and polymyositis.* Curr Opin Rheumatol, 1996. 8(6): p. 544-551.
- Walter, M.C.** et al., *Therapeutic options in autoimmune inflammatory myositis (polymyositis, dermatomyositis and inclusion body myositis).* Nervenheilkunde, 2002. 21: p. 3-6.
- Walter, M.C.** et al., *Therapie der nichterregerbedingten Myositiden (Dermatomyositis, Polymyositis, Einschlusskörpermyositis, Overlap-Syndrome).* Nervenheilkunde, 2001. 20: p. 171-174.
- Walter, M.C.** et al., *[New insights in pathogenesis and therapy of sporadic inclusion body myositis (s-IBM)].* Nervenarzt, 2001. 72(2): p. 117-121.
- Waubant, E.** et al., *Serum MMP-9 and TIMP-1 levels are related to MRI level in relapsing multiple sclerosis.* Neurology, 1999. 53: p. 1397-1401.
- Wiles, C.M.** et al., *Intravenous immunoglobulin in neurological disease: a specialist review.* J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2002. 72(4): p. 440-448.
- Wingfield, P.** et al., *Biophysical and functional characterization of full-length, recombinant human tissue inhibitor of metalloproteinases-2 (TIMP-2) produced in Escherichia coli. Comparison of wild type and amino-terminal alanine appended variant with implications for the mechanisms of TIMP functions.* J Biol Chem, 1999. 274: p. 21362-21368.
- Youssef, S.** et al., *The HMG-CoA reductase inhibitor, atorvastatin, promotes a Th2 bias and reverses paralysis in central nervous system autoimmune disease.* Nature, 2002. 420: p. 78-84.
- Yu, Z.** et al., *Mechanism of intravenous immune globulin therapy in antibody-mediated autoimmune diseases.* N Engl J Med, 1999. 340(3): p. 227-228.

Danksagung

Herzlich danken möchte ich Herrn PD Dr. med. Benedikt Schoser für die Überlassung des Dissertationsthemas, für die im Rahmen der Betreuung dieser Arbeit gebrachten Anregungen sowie für die konstruktive Kritik und Geduld mit seiner Doktorandin.

Großer Dank gebührt darüber hinaus dem Stationsteam der Friedrich-Baur-Station für die großartige und freundliche Unterstützung im Rahmen meiner Datenerhebung.

Im Weiteren möchte ich mich auch bei den Mitarbeiterinnen des neurologisch-myologischen Forschungslabors am Friedrich-Baur Institut bedanken. Ihre Hilfestellung ermöglichte mir, diese Arbeit in der vorliegenden Form zu erstellen.

Zuletzt danke ich allen weiteren Personen, die mir bis zur Fertigstellung dieser Arbeit zur Seite standen.

Lebenslauf

Persönliche Daten

Name	Stephanie Alexandra Hurnaas
Geburtsdatum und -ort	21.01.1978 in München
Nationalität	deutsch

Beruflicher Werdegang

Seit 01/ 2006	Assistenzärztin in der Neurologischen Abteilung des Klinikum München-Harlaching
---------------	---------------------------------------------------------------------------------

Ausbildung

Hochschule

11/ 1998- 10/ 2005	Studium der Humanmedizin an der Ludwig-Maximilians-Universität in München Abschluss mit der Gesamtnote: gut
11/ 1997- 08/ 1998	Studium der Rechtswissenschaften an der Ludwig-Maximilians-Universität in München

Promotion

Seit 04/ 2003	Wissenschaftliche Arbeit im Rahmen der Promotion am Friedrich-Baur-Institut der LMU München bei Herrn PD Dr. med. B. Schoser
---------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Praktika

Praktisches Jahr

03/ 2005- 07/ 2005	Chirurgie (Hospital Clínico Universitario Virgen de la Victoria, Málaga/ Spanien)
11/ 2004- 03/ 2005	Innere Medizin (Klinikum München-Harlaching)
10/ 2004- 11/ 2004	Neurologie (Klinikum München-Harlaching)
08/ 2004- 10/ 2004	Neurologie (Universitätsspital Inselspital, Bern/ Schweiz)

Famulaturen

03/ 2003- 04/ 2003	Anästhesie (Paracelsus-Klinik, München)
02/ 2002- 03/ 2002	Innere Medizin und Notfallambulanz (West Gippsland Hospital, Warragul/ Australien)
09/ 2001- 10/ 2001	Kinderanästhesie (kinderchirurgische Praxis, München)
03/ 2001- 04/ 2001	Innere Medizin (kardiologische und gastroenterologische Gemeinschaftspraxis, Rottach-Egern)

Krankenpflege

09/ 1999- 10/ 1999	St. Michael's Hospital (Toronto, Kanada)
09/ 1998- 10/ 1998	Kreiskrankenhaus Tegernsee

Schule

09/ 1988- 06/ 1997	Gymnasium Tegernsee mit Abitur (Note: 1,7)
09/ 1984- 07/ 1988	Grundschule Rottach-Egern

Ehrenwörtliche Erklärung

Diese Dissertation wurde selbständig und ohne unerlaubte Hilfsmittel angefertigt. Alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen wurden, sind als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle nachgewiesen.

München, den 31. Juli 2006

Stephanie Hurnaus

Dissertation eingereicht am: 9. August 2006