

EINFLUSS ENTZÜNDLICHER ZELLEN UND VIRALEN  
GENOMS AUF DIE LINKSVENTRIKULÄRE  
FUNKTION UND PROGNOSE VON PATIENTEN MIT  
DILATATIVER KARDIOMYOPATHIE

Dissertation  
zur Erlangung des akademischen Grades  
doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät  
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von **Christiane Porrmann**

geboren am **18.10.1987** in Meiningen

Gutachter:

1. PD Dr. med. Friedhelm Küthe, Jena
2. PD Dr. med. Martin Busch, Jena
3. Prof. Dr. med. Henning Morawietz, Dresden

Tag der öffentlichen Verteidigung: 03.12.2013

# Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	6
1. Zusammenfassung	8
2. Einleitung	10
2.1 Definition und Klassifikation der Kardiomyopathien	10
2.2 DCM	11
2.3 Genetische und toxische Ätiologie der DCM	12
2.4 Inflammatorische Kardiomyopathie	13
2.4.1 Von der Myokarditis zur DCM	13
2.4.2 Definition der Inflammation	14
2.4.3 Virale Kardiomyopathie	15
2.4.4 Autoimmune inflammatorische Kardiomyopathie	16
2.5 Symptome und Verlauf der DCM	17
2.6 Diagnostik der DCM	18
2.6.1 Klinische und Labordiagnostik	18
2.6.2 Die Endomyokardbiopsie	19
2.7 Therapeutische Optionen der inflammatorischen Kardiomyopathie	19
3. Zielstellung der Arbeit	22
4. Methoden	24
4.1 Patienten	24
4.2 Echokardiographie und Endomyokardbiopsie	25
4.3 Histologie und Immunhistochemie der Endomyokardbiopsien	25
4.4 Nachweis viralen Genoms aus der Myokardbiopsie	25
4.4.1 Nachweis von enteroviraler RNA	26
4.4.2 Nachweis der enteroviralen Minus-Strang-RNA	26
4.4.3 Nachweis von Parvovirus B19 DNA	26
4.4.4 Nachweis von Adenovirus DNA	27
4.5 Statistische Datenanalyse	27
5. Ergebnisse	28
5.1 Diagnosenverteilung der Biopsiepatienten	28

5.2 Daten der Patienten der DCM-CM Gruppe	29
5.2.1 Klinische und laborchemische Daten	29
5.2.2 Histologische und immunhistochemische Daten	31
5.3 Univariate Analyse der klinischen, histologischen und immunhistochemischen Daten nach transplantatfreiem Überleben	32
5.4 Multivariate Analyse nach transplantatfreiem Überleben und Überlebenszeit	36
5.4.1 Analyse der Parameter nach inhaltlichem Aspekt	36
5.4.2 Analyse der Parameter mit einem p-Wert <0,1 in der univariaten Analyse	37
5.5 Analyse der Daten mit Einteilung nach positivem oder negativem Virusnachweis im Myokard	38
5.5.1 Klinische und laborchemische Daten der Virusgruppen	38
5.5.2 Histologische und immunhistochemische Daten der Virusgruppen	41
5.5.3 Vergleich zwischen Enterovirus-positiven und Enterovirus-negativen Patienten	42
5.6 Vergleich der Patientengruppe mit $\geq 14$ Zellen mit der Gruppe mit $< 14$ Zellen pro $\text{mm}^2$ Myokardgewebe	44
5.6.1 Klinische Daten und Virusnachweis	44
5.6.2 Überlebensdaueranalysen zur Inflammation	47
5.6.3 Echokardiographische Daten	51
5.7 Analyse nach transplantatfreiem Überleben der Patienten mit Beta-Blocker-Einnahme	54
5.7.1 Univariate Analyse	54
5.7.2 Multivariate Analyse	56
5.8 Vergleich von Virusgenomnachweis und Inflammation in den Erkrankungsgruppen	57
6. Diskussion	58
6.1 Prädiktoren für das Outcome von Patienten mit DCM	58
6.2 Bedeutung von Viren im Myokard für Verlauf und Prognose der DCM	59
6.2.1 Prävalenz von Virusgenom in der EMB	59
6.2.2 Einfluss der Viren auf das Outcome der DCM-Patienten	60
6.2.3 Enteroviren – Link von Myokarditis zu DCM?	63
6.2.4 PVB19 – ein Bystander im Myokard	65

6.3 Die Rolle der Inflammation im Myokard in der DCM-Erkrankung	67
6.3.1 Einfluss der Inflammation auf das Outcome von DCM-Patienten	67
6.3.2 Die vermutete Rolle der Inflammation in der Ätiologie der DCM	69
6.3.3 Therapiestudien zur Behandlung der Inflammation bei Myokarditis und DCM	72
6.3.4 Rate von Inflammation und Virusgenom im Myokard bei anderen Erkrankungen	74
6.4 Bedeutung der Myokardbiopsie im Rahmen der Ergebnisse dieser Arbeit	74
6.5 Alternative Forschungsansätze mit Bedeutung für Prognose und Outcome der Erkrankung	75
7. Schlussfolgerungen	79
Literaturverzeichnis	81
Anhang	92

## **Abkürzungsverzeichnis**

ACE – Angiotensin Converting Enzym  
AHA – American Heart Association  
ARVC – Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie  
ATP – Adenosintriphosphat  
AV – Adenovirus  
BMI – Body Mass Index  
BNP – Brain Natriuretic Peptide  
Ca – Calcium  
CAR – Coxsackievirus-Adenovirus-Rezeptor  
CD – Cluster of Differentiation  
CSS – Churg-Strauss-Syndrom  
CVA – Coxsackievirus A  
CVB – Coxsackievirus B  
DCM – Dilatative Kardiomyopathie  
EF – Ejektionsfraktion  
EMB – Endomyokardbiopsie  
ESC – European Society of Cardiology  
EV – Enterovirus  
EZM - Extrazellulärmatrix  
HCM – Hypertrophe Kardiomyopathie  
HHV 6 – Humanes Herpesvirus 6  
HLA – Human Leukocyte Antigen  
HTX – Herztransplantation  
ICAM – Intercellular adhesion molecule -1  
iDCM – inflammatorische dilatative Kardiomyopathie  
IgG – Immunglobulin G  
INF – Interferon  
IL – Interleukin  
ISFC – International Society and Federation of Cardiology

KHK – Koronare Herzkrankheit  
LDL – Low Density Lipoprotein  
LE – Lupus erythematoses  
LV – Linksventrikulär  
LVEDD – Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser  
MMP – Matrix Metalloproteasen  
MRT – Magnetresonanztomographie  
NF- $\kappa$ B – Nuclear Factor kappa B  
NK-Zellen – natürliche Killerzellen  
NYHA – New York Heart Association  
PCR – Polymerase Chain Reaction  
PV – Parvovirus  
RCM – Restriktive Kardiomyopathie  
TCM – toxische Kardiomyopathie  
Th-1/2 – T Helfer 1/2-Zellen  
TGF  $\beta$  – Transforming Growth Factor  $\beta$   
TIA – Transiente ischämische Attacke  
TIMP – Tissue Inhibitors of Metalloproteases  
TNF – Tumornekrosefaktor  
T-reg – regulatorische T-Zellen  
VCAM – Vascular Cell Adhesion Molecule 1  
VEGF – Vascular Endothelial Growth Factor  
WHF – World Health Federation  
WHO – World Health Organisation

## 1. Zusammenfassung

Kardiomyopathien sind Erkrankungen des Herzmuskels, die durch Veränderung von Form und Größe des linken oder beider Ventrikel und einer Einschränkung der kardialen Funktion charakterisiert sind und nicht durch andere Herzerkrankungen, wie Ischämie oder Herzklappenerkrankungen erklärbar sind. Klassifiziert werden sie nach dem klinischen Phänotyp oder der Ätiologie.

Die dilatative Kardiomyopathie (DCM) äußert sich durch eine Dilatation des linken Ventrikels verbunden mit einer systolischen Pumpfunktionsstörung und Symptomen der Herzinsuffizienz, Arrhythmien und plötzlichem Herztod. Die Ursachen der DCM sind vielfältig und gehen von ca. 50% genetischen Formen über toxische, infektiöse und inflammatorische Auslöser bis hin zu Ausbildung des dilatativen Phänotyps bei systemischen Erkrankungen oder Schwangerschaft als sekundäre Kardiomyopathie. Es wird vermutet, dass die Infektion mit kardiotropen Viren und die myokardiale Inflammation eine wichtige Rolle in der Ätiologie der DCM spielen. Deshalb wurden in der neuen Klassifikation eine virale und inflammatorische Kardiomyopathie definiert. Bei DCM-Patienten gelingt häufig der Nachweis von viralem Genom im Myokard. PVB19 wird am häufigsten identifiziert, gefolgt von EV und anderen Virustypen. Die Viren sollen eine DCM durch einen Krankheitsverlauf in drei Phasen auslösen können. Die erste Phase ist durch die Virusinfektion und die viruseigenen Schädigungsmechanismen charakterisiert, in der zweiten Phase erfolgt eine Myokardschädigung durch chronische Inflammationsvorgänge und in der dritten Phase kommt es zu Remodeling und Ausbildung des DCM-Phänotyps. Auch eine autoimmune Inflammation könnte z.B. durch die Bildung von Autoantikörpern eine mögliche Ursache für eine DCM sein. Aus diesen Modellen sind neue Behandlungsstrategien mit antiviralen oder immunsuppressiven Medikamenten abgeleitet worden.

Das Ziel dieser Arbeit ist es, anhand einer prospektiven Untersuchung an einem Kollektiv von Patienten mit einer DCM den Einfluss von viralem Genom und Inflammation im Myokard auf die klinische Präsentation und das Outcome der Patienten zu eruieren und die Ergebnisse im Sinne der neuen Klassifikation und Therapiestudien zu interpretieren.

Aus allen Patienten, die in den Jahren 1997 bis 2007 im Universitätsklinikum Jena einer Myokardbiopsie unterzogen wurden, sind die Patienten mit chronischer Myokarditis, inflammatorischer Kardiomyopathie und DCM ausgewählt worden. Es erfolgte die Erhebung



von klinischen und echokardiographischen Daten zum Biopsiezeitpunkt und einem Kontrollzeitpunkt sowie die Erfassung der Biopsieergebnisse und das Eintreten von Versterben oder Transplantation im Beobachtungszeitraum.

Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass das NYHA-Stadium und die echokardiographischen Daten unabhängige prognostische Faktoren bei DCM sind. Die Einnahme von Beta-Blockern ergab einen eindeutigen Überlebensvorteil. Der Nachweis von Virusgenom im Myokard bleibt ohne Einfluss auf klinische und echokardiographische Parameter und das transplantatfreie Überleben. Eine mögliche Bedeutung in der Ätiologie der DCM lässt sich nicht ausschließen, aber der Verlauf und die Prognose der Erkrankung bleiben unbeeinflusst. Da aber in anderen Arbeiten auch bei gesunden Probanden Virusgenom im Myokard nachgewiesen wurden, ist eine inaktive Persistenz nach abgelaufener Infektion wahrscheinlich. Für die DCM-Patienten bleibt die Klassifikation der viralen Kardiomyopathie ohne Konsequenz, antivirale Therapien erübrigen sich damit. Die Inflammation im Myokard bei DCM ist assoziiert mit besseren Ergebnissen in den echokardiographischen Parametern und verbunden mit einer Tendenz zu einer längeren transplantatfreien Überlebenszeit. Daraus lässt sich die Hypothese ableiten, dass inflammatorische Zellen aufgrund der höheren Endothelzellichte in früheren Krankheitsstadien vermehrt ins Gewebe einwandern können, als es bei einer „ausgebrannten“ DCM der Fall ist. Auch bei anderen myokardialen Erkrankungen kommt Inflammation im Myokard vor, ohne zur DCM zu führen. Derzeit existieren zwei Theorien zu möglichen Schädigungsmechanismen der Inflammation. Zum einen kann eine nach Virusinfektion persistierende Entzündungsreaktion zu weiteren Myokardschäden führen, auch nach erfolgreich eliminiertem Virusgenom. Zum anderen gibt es Hinweise auf autoimmune Mechanismen mit Bildung von Autoantikörpern. Eine Einordnung der DCM in den Formenkreis der Autoimmunerkrankungen wurde in den Raum gestellt. Die Therapiestudien zeigen uneinheitliche Ergebnisse. Auch hier hat die Klassifikation der inflammatorischen Kardiomyopathie keine Konsequenzen für den Patienten. Der natürliche Verlauf der DCM unter aktueller Herzinsuffizienztherapie sollte Inhalt neuer Studien sein um die Rolle von Inflammation, Virusgenom und weiterer Faktoren, wie z.B. Endothelfunktion, Mikrovaskularisationsstörungen und Energiestoffwechseleränderungen, genauer charakterisieren zu können.

## 2. Einleitung

### 2.1 Definition und Klassifikation der Kardiomyopathien

Kardiomyopathien sind eine Gruppe von Erkrankungen des Herzmuskels, die sich durch Verminderung der Kontraktilität und durch eine Dilatation der Ventrikel äußert. Die myokardiale Funktionseinschränkung manifestiert sich beim Patienten durch Symptome der Herzinsuffizienz, Arrhythmien oder plötzlichen Herztod. Die strukturelle oder funktionelle Veränderung des Herzmuskels im Rahmen der Kardiomyopathie lässt sich in Abwesenheit einer koronaren Herzerkrankung, eines Hochdrucks, einer Herzklappenerkrankung oder eines angeborenen Herzfehlers nur durch einen im Myokard selbst stattfindenden Krankheitsprozess erklären (Pankuweit et al, 2009,1).

Für die Klassifikation der sehr heterogenen Gruppe der Kardiomyopathien wurden zwei verschiedene Ansätze verwendet. Im ersten Ansatz wurde die Morphologie der Erkrankung zu Grunde gelegt, während der zweite die Ätiologie näher beleuchtet. Die World Health Organisation (WHO) / International Society and Federation of Cardiology (ISFC) veröffentlichte 1980 eine erste Klassifikation, die 1996 durch die WHO/ISFC Task Force noch einmal erweitert wurde. Die Klassifikation beinhaltet die Einteilung der Kardiomyopathien nach morphologischem Erscheinungsbild in die dilatative (DCM), restriktive (RCM), hypertrophe (HCM) und die arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARVC). Eine eigene Gruppe stellen die spezifischen Kardiomyopathien dar, die durch Systemerkrankungen, wie Speichererkrankungen oder Amyloidose, und Entzündung des Myokards (Myokarditis, inflammatorische Kardiomyopathie) verursacht werden (Pankuweit et al, 2009, 2). 2006 stellte die American Heart Association (AHA) eine ätiologische Klassifikation auf, in der primäre Kardiomyopathien, die vom Herzmuskel selbst ausgehen von sekundären Kardiomyopathien im Rahmen von Systemerkrankungen unterschieden wurden. Bei den primären Kardiomyopathien erfolgte die Einteilung nach der Ätiologie in genetisch, gemischt und erworben. Die Definition wurde um elektrische Funktionsstörungen des Myokards erweitert, sodass nun auch Ionenkanalerkrankungen wie das Long QT Syndrom oder das Brugada Syndrom dazuzählen. Zu den genetischen Kardiomyopathien gehören die HCM, ARVC, Glykogenspeichererkrankungen und die Ionenkanalerkrankungen. Gemischte Kardiomyopathien haben genetische wie erworbene Ursachen, wie z. B. die DCM und die RCM. Erworben sind inflammatorische, peripartale, tachykardieinduzierte und die

Tako-Tsubo-Kardiomyopathie (Maron et al, 2006). Als sekundäre Kardiomyopathien werden Krankheiten, wie z. B. Amyloidose, Speicherkrankheiten (Morbus Fabry) oder kardiale Sarkoidose, bezeichnet, die zu dem morphologischen Bild einer DCM oder HCM führen (Pankuweit et al, 2009,2). Die European Society of Cardiology (ESC) überarbeitete die morphologisch orientierte Klassifikation von 1996 im Jahr 2008, denn es zeigte sich, dass in der klinischen Praxis die Behandlung des Patienten nach seinem morphologischem Krankheitsbild im Vordergrund steht und die ätiologische Diagnostik meist sekundär erfolgt. Die morphologischen Einteilungen in DCM, HCM, RCM, ARVC und nicht klassifizierbare Kardiomyopathien werden beibehalten und die einzelnen Morphologien noch einmal in genetisch und nicht genetisch unterteilt (Elliott et al, 2008). Eine ätiologische Differenzierung zwischen genetisch und erworben bleibt weiterhin relevant, denn für nicht genetische Erkrankungsformen können in einigen Fällen kausale Therapien angewendet werden. Eine genaue Anamnese und das Erheben eines Familienstammbaumes ermöglicht die Unterscheidung, sodass bei positiver Familienanamnese eine genetische Untersuchung zur Identifizierung der betroffenen Gene angestrebt wird, während bei sporadischem Auftreten der Erkrankung differentialdiagnostisch z. B. nach entzündlichen oder infektiösen Ursachen geforscht werden sollte. Primär steht aber die klinische Diagnostik und Therapie des symptomatischen Patienten nach ihrem morphologischen und funktionellen Phänotyp im Vordergrund (Pankuweit et al, 2009, 2).

## **2.2 DCM**

Die dilatative Kardiomyopathie ist charakterisiert durch eine Dilatation des linken oder beider Ventrikel mit eingeschränkter myokardialer Kontraktilität (Terasaki et al, 2007). Daraus resultieren eine systolische Pumpfunktionsstörung mit verminderter Ejektionsfraktion und eine Kardiomegalie. Zusätzlich kann die diastolische Relaxation durch interstitielle Fibrosierung und vermehrte Steifigkeit des Myokards gestört sein (Maisch, 1998). Die DCM ist die häufigste Form der Kardiomyopathien und tritt mit einer Prävalenz von ca. 40/100.000 und einer Inzidenz von 7/100.000 auf (Jefferies, Towbin 2010). Im histologischen Schnitt des Myokardgewebes sind Myozytenhypertrophie, interstitielle Fibrose, Verlust von Myofibrillen oder ganzen Myozyten, irregulär geformte, hyperchrome Zellkerne und Mitochondrien in unterschiedlicher Form und Größe zu finden (Kühl et al, 1995). Die DCM ist von großer Bedeutung, denn sie ist Ursache für 45% aller

Herztransplantationen (Cooper et al, 2006). Die Ätiologie der Erkrankung ist sehr heterogen. Es können genetische Mutationen oder mitochondriale Dysfunktion zugrunde liegen. Auch toxische Formen, ausgelöst durch Medikamente oder Drogen, sind bekannt. Eine wichtige Ursache wird in der infektiösen oder autoimmunen Myokarditis vermutet. Auch Ischämie, persistierende Tachykardie, Endokrinopathien, im Rahmen der Schwangerschaft oder Systemerkrankungen, wie Speicherkrankheiten oder Amyloidose können zum Phänotyp einer DCM führen (Elliott et al, 2008; Jefferies, Towbin, 2010).

### **2.3 Genetische und toxische Ätiologie der DCM**

Eine positive Familienanamnese zur DCM legt eine genetische Ätiologie nahe, was in etwa 30 bis 50% der Fälle nachweisbar ist. Durch Genanalysen konnten Mutationen in verschiedenen Genen nachgewiesen werden. Am häufigsten sind Proteine des Sarkomers betroffen, wie die Myosin schwere Kette, Troponin T, Myosinbindungsprotein C und Titin, aber auch Zytoskelettproteine, wie Dystrophin, Desmin oder Laminin, und Mutationen von Lamin A/C können beteiligt sein (Deo et al, 2007). Der Erbgang ist vor allem autosomal dominant, aber durch die Beteiligung anderer Vererbungsmodi und die unvollständige Penetranz variiert die Ausprägung der Erkrankung beträchtlich. Sogar innerhalb einer Familie kann die Mutation desselben Gens zu sehr unterschiedlichen klinischen Erkrankungsbildern in den einzelnen Individuen führen, sodass ein multifaktorielles Vererbungsmuster zu Grunde gelegt werden muss. Es werden derzeit die Rolle von Umweltfaktoren, wie Diät, Lebensstil, körperliche Aktivität oder Stress, und sogenannte modifier-Gene, die zwar selbst keine DCM auslösen, aber den Verlauf der Erkrankung beeinflussen, diskutiert (Pankuweit et al, 2009, 1). Auch das Geschlecht hat einen Einfluss auf den Verlauf der Erkrankung. Es sind häufiger Männer betroffen mit meist schwereren oder im früheren Alter auftretenden Verläufen als beim weiblichen Geschlecht (Harding et al, 2010). Zum klinischen Bild einer DCM kommt es auch im Rahmen genetischer Erkrankungen und Syndromen, z.B. bei Muskeldystrophien, Hämochromatose oder Emery-Dreifuss-Krankheit (Arbustini et al, 2000).

Eine weitere Ursache für die Ausbildung einer DCM sind kardiotoxische Stoffe, wie Alkohol und Medikamente, z.B. Phenothiazine, trizyklische Antidepressiva, Clozapin und Zytostatika vom Anthrazyklintyp (Jefferies, Towbin, 2010).

## **2.4 Inflammatorische Kardiomyopathie**

### **2.4.1 Von der Myokarditis zur DCM**

Eine Myokarditis ist eine Entzündung des Myokardgewebes mit vielfältigen Ursachen. Zum einen kommen infektiöse Auslöser, wie Viren, Bakterien, Spirochäten (z.B. Borrelien), Pilze und Parasiten in Frage, zum anderen ist eine Myokarditis häufig Teil von Systemkrankheiten, wie Stoffwechselerkrankungen, Kollagenosen und Erkrankungen des rheumatischen Formenkreises. Andere Ursachen wie Medikamente, Toxine (Alkohol, Drogen) und physikalische Einwirkungen (Strahlung) können ebenfalls eine Entzündung im Myokard hervorrufen (Pankuweit et al, 2010). Die Ausprägung einer Myokarditis ist sehr unterschiedlich und kann von vollständiger Symptomfreiheit oder leichten Symptomen, wie Müdigkeit und Schwächegefühl, bis hin zu fulminanten Verläufen mit Rhythmusstörungen und Herzinsuffizienz gehen (Schultheiss et al, 2011). Nach den 1987 entstandenen Dallas-Kriterien wurden die im Rahmen der Myokarditisdiagnostik entnommenen EMB histologisch nach Infiltraten aus Inflammationszellen, Myozytolysen und Ödem untersucht. Für eine akute Myokarditis müssen alle drei Kriterien vorhanden sein. Eine Borderline-Myokarditis weist nur Infiltrate auf. Nach einer zweiten Biopsie kann bei weiterhin vorliegender akuter Myokarditis eine Ongoing-Myokarditis und bei rückläufigen Infiltraten eine Healing-Myokarditis diagnostiziert werden. Sind nur noch fibrotische Narbenareale zu sehen, liegt eine Healed-Myokarditis vor. Für die chronische Myokarditis oder den Nachweis von Inflammation im DCM- Herzen gab es in den Dallas-Kriterien keine klaren Definitionen (Maisch et al, 2005).

Der viralen Myokarditis wird eine wichtige Rolle in der Entstehung der DCM zugeschrieben. Die Progression von Myokarditis zur DCM wird in 3 Phasen eingeteilt. In der akuten Phase kommt es zur Virusinfektion des Myokards mit Replikation und daraus resultierender Lyse von Myozyten (Kühl et al, 2002). In der 2. Phase kommt es zur Immunreaktion, zuerst vermittelt durch Makrophagen und natürliche Killer-Zellen sowie der Produktion von Cytokinen, später durch das spezifische Immunsystem aus T-Lymphozyten und Antikörper produzierenden B-Lymphozyten. Die immunologischen Mechanismen können zur Clearance des Virus aus dem Myokard führen, verursachen aber auch durch prolongierte oder persistierende Inflammation und autoinflammatorische Antworten auf die Exposition von kardialen Antigenen, wie Myosin oder Troponin I, weitere Schäden im Myokard. In der

letzten Phase führen Remodelling und fibrotischer Umbau mit Verlust der kontraktile Funktion und Dilatation zum Vollbild der DCM (Luo et al, 2010).

#### **2.4.2 Definition der Inflammation**

Im Jahr 1995 wurde von der WHO / ISFC Task Force zur Definition und Klassifikation der Kardiomyopathien zum ersten Mal der Begriff der inflammatorischen Kardiomyopathie als Myokarditis mit kardialer Dysfunktion definiert (Richardson et al, 1996). Um den Graubereich chronische Myokarditis / inflammatorische Kardiomyopathie genauer zu klassifizieren, wurden vom WHF Council of Cardiomyopathies zwei Expertenkomitees gebildet. Das erste Expertenkomitee zur Histologie der dilatativen inflammatorischen Kardiomyopathie hatte die Aufgabe genaue Kriterien zur histologischen und immunhistochemischen Beurteilung der myokardialen Inflammation festzulegen (Maisch et al, 2000). Myokardiale Entzündung in der EMB wurde definiert mit 14 oder mehr Lymphozyten und Makrophagen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe und/oder Foci von Lymphozyten mit 3 oder mehr Lymphozyten außerhalb eines Gefäßes im Sinne eines fokalen Entzündungsprozesses (Maisch et al, 2005). In den Infiltraten sollten vorzugsweise T-Lymphozyten oder aktivierte T-Zellen vorliegen, bis zu 4 Makrophagen können in die totale Zellzahl einbezogen werden. Bei der Vorlage von lymphozytären Foci kann die Diagnose einer Myokarditis auch ohne das Erreichen einer Zellzahl von 14 pro  $\text{mm}^2$  gestellt werden (Maisch et al, 2000). Sind die Kriterien für Inflammation erfüllt und liegen gleichzeitig morphologische Veränderungen am Herzen im Sinne einer Kardiomyopathie vor, wird eine inflammatorische Kardiomyopathie diagnostiziert. In ca. 30-40% der EMB kann eine Inflammation bei DCM nachgewiesen werden (Alida et al, 2008).

Auch für die Myokarditis wurde das Diagnosesystem angepasst. Nach der ersten Biopsie wird nun nach akuter Myokarditis (Infiltrate mit  $\geq 14$  Zellen / $\text{mm}^2$ , Nekrosen und Zelldegenerationen, fakultativ Fibrose), chronische Myokarditis (Infiltrate, fakultativ anwesende Nekrosen oder Fibrose) oder keine Myokarditis ( $< 14$  Zellen / $\text{mm}^2$ ) eingeteilt. Bei einer Folgebiopsie differenziert man zwischen Ongoing Myokarditis mit weiterhin allen Zeichen einer akuten Myokarditis, Healing Myokarditis mit Verbesserung zum Vorbefund und Healed Myokarditis ohne Kriterien einer Entzündung (Maisch et al, 2000).

Die bisherige Beurteilung der Inflammation nach Dallas entbehrte nicht nur Kriterien für die chronische Myokarditis. Die auf lichtmikroskopische histologische Untersuchung der

Biopsien basierende Diagnostik war auch oft nicht in der Lage, Entzündungsprozesse zuverlässig nachzuweisen. Auf Grund des fokalen Charakters der entzündlichen Infiltrate und der limitierten Anzahl an Biopsieproben kommt es deshalb oft zu Fehldiagnosen. Auch ist die Unterscheidung zwischen Inflammationszellen und anderen Zellen, wie Fibroblasten oder Endothelzellen in Routine-Hämatoxylin-Eosin-Färbungen schwierig und kann zu Über- oder Unterschätzen des myokardialen Inflammationsprozesses führen (Kühl et al, 1995; Prochorec et al, 2006). Die Beurteilung der histologischen Schnitte nach den Dallas Kriterien ist abhängig von der Erfahrung des Pathologen, selbst unter Experten kommt es zu einer starken Variabilität bei der Interpretation des histologischen Materials eines einzigen Patienten (Baughmann, 2006). Durch die immunhistochemischen Anfärbemethoden mit monoklonalen Antikörpern wurde die Differenzierung nach Anzahl, Phänotyp und Aktivationsgrad der Inflammationszellen ermöglicht. Außerdem war es nun möglich die im Rahmen des Entzündungsprozesses im gesamten Myokard vermehrt exprimierten Histokompatibilitätsantigene (z.B. HLA Klasse I und II) und Adhäsionsmoleküle in ihrem Ausmaß zu beurteilen und damit den Sampling Error zu verringern (Kühl et al, 1995).

### **2.4.3 Virale Kardiomyopathie**

Das zweite Expertenkomitee der WHF/ISFC Task Force sollte die virale Kardiomyopathie definieren und Nachweisverfahren der Virusinfektion des Myokards standardisieren. Wird eine Viruspersistenz im Myokard nachgewiesen ohne Inflammation, wird dies als virale Kardiomyopathie oder virale Persistenz im Rahmen einer DCM definiert. Wird gleichzeitig eine Inflammation nachgewiesen, wird das Krankheitsbild virale inflammatorische Kardiomyopathie genannt. Die Diagnose einer Virusinfektion im Myokard sollte über den Nachweis viralen Genoms durch die PCR als Methode mit der höchsten Sensitivität und Spezifität erfolgen. Für die einzelnen Virentypen wurde die Art der Probenfixierung und PCR-Methode beschrieben, die die höchste Wahrscheinlichkeit eines Nachweises erbringen (Maisch et al, 2000).

Der Nachweis von viralem Genom im Myokard ist bei Patienten mit DCM oder Myokarditis in ca. 70% der EMBs möglich. Das am häufigsten nachgewiesene Virus ist das Parvovirus B19 (PVB19) mit 50% aller viruspositiven EMBs (Kühl et al, 2005, 1). PVB19 ist ein DNA-Virus und verursacht Ringelröteln bei immunkompetenten Individuen und aplastische Krisen, hämatologische Störungen und Transplantatabstoßung in immunsuprimierten Patienten. Die

serologische Durchseuchungsrate in der Allgemeinbevölkerung beträgt ca. 70-90% (Kütke et al, 2009, Schenk et al, 2009). Enteroviren (EV) sind RNA-Viren und eine Untergruppe der Picornaviren. In die Enterovirus-Gruppe zählen das Polio-Virus, Coxsackievirus A und B, Echoviren und andere EV-Arten. Insbesondere die Coxsackie B Viren verursachen Myokarditis, Perikarditis, und sollen eine bedeutende Rolle in der Progression zur DCM spielen. In selteneren Fällen können auch Coxsackie A und Echoviren eine Infektion im Myokard hervorrufen (Doerr und Gerlich, 2010). Der Nachweis enteroviralen Genoms gelingt in ca. 16% der viruspositiven EMBs (Kühl et al, 2005, 1). Für das Enterovirus wird ein direkt myokardschädigender Mechanismus vermutet. Durch die Produktion des Enzyms Protease 2A, einer Cystein-Endopeptidase, ist das Virus in der Lage, den Dystrophin-Sarkoglycan-Komplex aufzutrennen und damit die Verbindung des Zytoskeletts zu der extrazellulären Matrix zu schädigen. Es kommt zu einer Störung der Dystrophin-Funktion und der sarkolemmalen Integrität. Da vererbte Störungen des Dystrophins in dem Krankheitsbild der DCM enden können, wird dem Enterovirus eine ähnliche Wirkung zugeschrieben (Maekawa et al, 2007). Adenoviren (AV) wurden bei Myokarditis- und DCM-Patienten in ca. 3% der Fälle nachgewiesen (Kühl et al, 2005, 1). AV sind DNA-Viren und können eine Vielzahl von Krankheitsbildern auslösen, am häufigsten sind sie Ursache von respiratorischen und gastroenteralen Infektionen (Doerr und Gerlich, 2010). Auch andere Viren werden in steigender Häufigkeit nachgewiesen wie Humanes Herpesvirus 6 (HHV 6) in 21,6% und Epstein Barr Virus (EBV) in 10% der Fälle. Im Zeitraum von 1985 bis 1995 wurden vor allem EV, AV und Zygomegalieviren am häufigsten nachgewiesen, während heute vor allem PVB19, HHV 6 und EBV im Myokard gefunden werden (Pankuweit, Maisch, 2010).

#### **2.4.4 Autoimmune inflammatorische Kardiomyopathie**

Inflammation ohne Nachweis viraler oder anderer infektiologischer RNA oder DNA wird als autoreaktive inflammatorische DCM diagnostiziert (Maisch et al, 2005). In vielen Fällen von DCM, familiärer, inflammatorischer oder idiopathischer Art, können Autoantikörper nachgewiesen werden. Diese Autoantikörper können sich gegen verschiedenste myokardiale Proteine richten, wie die schwere Kette des Myosins und andere muskelspezifische Proteine, die Mitochondrien, das Zytoskelett und Ionenkanäle und Rezeptoren (Caforio et al, 2008). Besonders gegen Rezeptoren gerichteten agonistisch wirksamen Antikörpern wird eine wichtige Rolle im Krankheitsprozess zugesprochen. So soll eine chronische Aktivierung



von  $\beta_1$  Rezeptoren zu Myozytendestruktion, fibrotischen Reparationsprozessen und schließlich einer Einschränkung der Herzfunktion mit einem dilatativen Phenotyp führen können (Jahns et al, 2010). Die Entstehung der Autoantikörper wird mit molekularem Mimikri und der Exposition von kardialen Antigenen durch Myozytennekrosen, verursacht durch Virusinfektion, Inflammation oder andere gewebezerstörende Ereignisse, erklärt. Da kardiale IgG-Autoantikörper krankheitsspezifisch für Myokarditis und DCM zu sein scheinen, wird die Verwendung zur Identifizierung von möglicherweise auf Immunsuppression ansprechenden Patienten und zur Beurteilung des Erkrankungsrisikos von Verwandten diskutiert (Jahns et al, 2010). Ein direkter Schädigungsmechanismus in der Entstehung der DCM-Erkrankung konnte aber nicht nachgewiesen werden.

## **2.5 Symptome und Verlauf der DCM**

Bei Beginn der Erkrankung sind die Patienten asymptomatisch, sodass die beginnende Dilatation der Ventrikel und Einschränkung der Ejektionsfraktion unentdeckt bleiben. Mit zunehmender Verschlechterung der Auswurfraction treten Symptome der Herzinsuffizienz auf. Die Patienten klagen über Dyspnoe bei Belastung, Leistungsminderung, Orthopnoe und Nykturie im Rahmen der Linksherzinsuffizienz, bei Beteiligung des rechten Herzens treten auch periphere Ödeme mit Gewichtszunahme, Halsvenenstauung und eine Hepatomegalie auf (Jefferies, Towbin, 2010). Eine weitere Möglichkeit der Erstmanifestation sind Herzrhythmusstörungen bis hin zum plötzlichen Herztod (Dutak et al, 2009). Auch im weiteren Verlauf der DCM steigt mit zunehmender Dilatation der Ventrikel das Risiko an einer Rhythmusstörung zu erkranken oder zu versterben. Am häufigsten sind tachykarde Rhythmusstörungen wie ventrikuläre Tachykardien oder Kammerflimmern. Es besteht eine enge Korrelation des Risikos mit der EF der Patienten. Eine EF unter 30% ist mit einem signifikant erhöhten Arrhythmierisiko verbunden (Grimm et al, 2004). Mit Aggravierung der Herzinsuffizienz treten bei den Patienten Lungenödem mit Ruhedyspnoe, Aszites und eine kardiale Kachexie auf. Es kommt immer wieder zu kardialen Dekompensationen, die zur Hospitalisierung des Patienten führen. Ist das Herz nicht mehr in der Lage den Körper ausreichend zu versorgen, kommt es zum kardiogenen Schock mit Hypotension und Gewebhypoxie. Da die Dilatation und das Remodeling der Ventrikel nicht rückgängig zu machen sind, bleibt dem Patient als einziger Ausweg die Herztransplantation (Jefferies, Towbin, 2010).

## **2.6 Diagnostik der DCM**

### **2.6.1 Klinische und Labordiagnostik**

Erstes diagnostisches Element ist die Anamnese, in der man nach Symptomen der Herzinsuffizienz, Rhythmusstörungen und Herzerkrankungen sowie plötzlichen Herztod in der Familie fragt. In der klinischen Untersuchung können Rasselgeräusche über der Lunge, periphere Ödeme, Halsvenenstauung, Tachykardie und Herzgeräusche einer Mitralsuffizienz auffallen (Jefferies, Towbin, 2010). Im EKG sind häufig unspezifische Veränderungen der Reizleitung bis hin zum Schenkelblockbild, Zeichen der Hypertrophie, Tachykardie und Rhythmusstörungen zu sehen. Die Echokardiographie stellt den Goldstandard dar, wodurch das Herz anatomisch und funktionell beurteilt werden kann. Im Rahmen der DCM findet man echokardiographisch einen dilatierten linken Ventrikel mit sphärischer statt ellipsoider Grundform und globaler Hypokinesie. Die Ejektionsfraktion ist eingeschränkt und auch die linksventrikuläre Füllung kann durch eine diastolische Funktionsstörung vermindert sein (Bielecka-Dabrowa et al, 2008). Als Komplikation der linksventrikulären Dilatation können eine relative Mitralsuffizienz mit Dilatation des linken Vorhofes und das Auftreten von Thromben in Vorhof und Ventrikel echokardiographisch festgestellt werden (Jefferies, Towbin, 2010). Eine weitere Möglichkeit zur nichtinvasiven anatomisch-funktionellen Diagnostik bietet das kardiale MRT. Neben Form und Funktion des Herzens kann das Vorliegen einer Myokarditis oder einer Ischämie durch die späte Gadolinium-Aufnahme, das Late Enhancement, vermutet werden (Cooper et al, 2006). Zur Beurteilung der Herzinsuffizienz wird labordiagnostisch die BNP-Konzentration im Serum herangezogen. So wird bei einem BNP von unter 100 pg/ml eine relevante Herzinsuffizienz unwahrscheinlich. Das BNP und seine Vorstufe NT-Pro-BNP werden als Screeningparameter zur Früherkennung von DCM-Patienten diskutiert. Nakamura et al fanden in einer Studie heraus, dass man in der Normalbevölkerung durch einen Grenzwert von 50 pg/ml Kranke in einem frühen Stadium von Gesunden differenzieren kann, aber da Faktoren wie Alter, Geschlecht, glomeruläre Filtrationsrate und Gewicht den BNP-Spiegel beeinflussen, bleibt die Bedeutung von BNP in der Früherkennung weiteren Studien vorbehalten (Bielecka-Dabrowa et al, 2008).

### **2.6.2 Die Endomyokardbiopsie**

Die EMB wird nach wie vor als Gold-Standard in der Diagnostik der Myokarditis und DCM angesehen, denn sie soll eine ätiologische Differenzierung ermöglichen. Durch die Entnahme von Proben aus dem links- und/oder rechtsventrikulären Myokard ist eine histologische und immunhistochemische Beurteilung möglich und es können molekularbiologische Methoden angewendet werden. Um einen Sampling Error auszuschließen, sollten zwischen 5 bis 10 Biopsien entnommen werden. Histologisch lassen sich z. B. die Größe der Myozyten, Narben und Fibrose, nach immunhistochemischer Anfärbung auch Art, Anzahl und Verteilung der Entzündungszellen und Intensität von Adhäsionsmolekülen sowie von HLA Klasse I- und II-Antigenen beurteilen. Differentialdiagnostisch können auch Speichererkrankungen, maligne Prozesse, Sarkoidose, Amyloidose und Hämochromatose ausgeschlossen werden. Die Diagnose einer möglichen Virusinfektion des Herzmuskels erfolgt durch Nachweis von Virusgenom mittels PCR (Jefferies, Towbin, 2010). Durch quantitative (qPCR) und qualitative (nested PCR) molekulare Techniken können weniger als 10 Kopien eines Virusgenoms nachgewiesen werden (Cooper et al, 2007). Aus den Erkenntnissen der EMB lassen sich im Einzelfall entsprechende Therapieoptionen ableiten.

### **2.7 Therapeutische Optionen der inflammatorischen Kardiomyopathie**

Bei Vorliegen einer Herzinsuffizienz wird diese unabhängig von den Ergebnissen aus der EMB leitliniengerecht therapiert. Der Patient wird medikamentös mit einem ACE-Hemmer oder Sartan, einem Beta-Blocker, Diuretika und Aldosteronantagonisten, bei Vorhofflimmern oder stark reduzierter EF auch mit Digitalisglycosiden behandelt. Ein Schrittmacher kann bei AV-Block oder bradykarden Rhythmusstörungen und ein implantierbarer Kardioverter-Defibrillator (ICD) bei Gefahr für tachykarde Rhythmusstörungen und plötzlichen Herztod implantiert werden. Bei terminaler Herzinsuffizienz kann die Indikation für eine Herztransplantation oder ein Assist Device gestellt werden (Pankuweit, Maisch, 2010). Diese Therapien stellen alle eine Kontrolle der Symptome dar und richten sich nicht gegen die Ursachen der Erkrankung. Aus den Befunden der EMB sollen nach dem neuen Klassifikationssystem der DCM kausale Therapieoptionen abgeleitet werden. Wird Inflammation und Virusgenom nachgewiesen, kann eine antivirale Therapie mit Interferon  $\alpha$  oder  $\beta$  infrage kommen. In kleinen Pilotstudien konnte eine Viruselimination und

Verbesserung des klinischen Beschwerdebildes und der LV-Funktion mit der Gabe von INF  $\beta$  erreicht werden (Schultheiss, Kühl, 2008). Mit INF  $\alpha$  konnten die Erfolge nicht erzielt werden (Figulla et al, 1995). Eine randomisierte, prospektive, multizentrische europaweite Studie (BICC-Studie) zur INF-Therapie sollte Klarheit bringen, ist jedoch nach wie vor noch nicht veröffentlicht.

### Behandlungspfad DCMi

**Symptomatik:** Symptome der Links- oder Globalherzinsuffizienz, Rhythmusstörungen

**Echokardiographie:** gestörte globale Kontraktion und Relaxation des linken oder beider Ventrikel

**Koronarangiographie:** Ausschluss KHK oder Funktionsstörung durch Koronarbefund nicht erklärt

**EMB:** Histologie, quantitative Immunhistologie (Zellzahlen), Immunhistochemie auf Ig-Bindung, PCR auf kardiotope Erreger

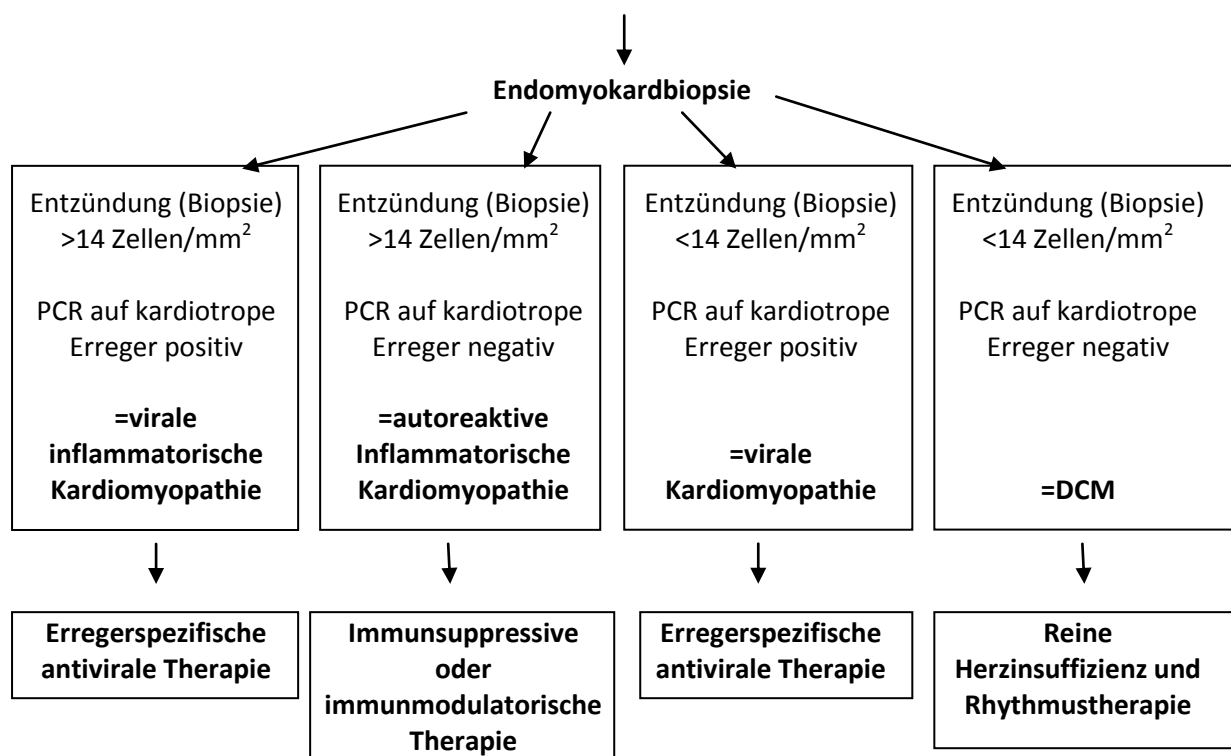


Abb. 1: Behandlungspfad nach dem Befund der EMB (abgewandelt nach Pankuweit, Maisch, 2010)

Bei Inflammation ohne Virusnachweis besteht die Möglichkeit der Immunsuppression. Erste Studien zur Immunsuppression mit Prednisolon von Parillo et al ergaben zwar Verbesserung der LV-Funktion, aber keinen Effekt auf das transplantatfreie Überleben (Parillo, 2001). Die

Myocarditis Treatment Trial von Mason et al 1995 ergab als erste große randomisierte kontrollierte Studie für eine Therapie mit Prednisolon und Cyclosporin oder Azathioprin keinerlei Verbesserung zur Standardtherapie in echokardiographischen Parametern und dem Überleben (Kindermann et al, 2012; Parrillo, 2001). In einer weiteren Studie wurden die Patienten nach negativen Virusbefund und HLA-Expression selektiert und mit Prednisolon und Azathioprin immunsupprimiert. Das Ergebnis war ebenfalls eine Verbesserung der klinischen Parameter ohne Einfluss auf das Überleben (Wojnicz et al, 2001). Die Ergebnisse zur Immunsuppression sind uneinheitlich und werden in der ESETCID-Studie (European Study of Epidemiology and Treatment of Cardiac Inflammatory Diseases) überprüft (Hufnagel et al, 2000). Die TIMIC-Studie (Tailored Immunosuppression in Inflammatory Cardiomyopathy) ergab eine Verbesserung der LV-Funktion bei 88% der virusnegativen inflammationspositiven Patienten unter Prednisolon und Azathioprin (Frustaci et al, 2009). Ebenfalls in der Diskussion sind immunmodulatorische Therapien durch Immunglobulingabe und Immunadsorption. In kleinen Studien wurde die Wirksamkeit der antiinflammatorischen und antiviralen Immunglobuline untersucht mit uneinheitlichem Ergebnis. Die Ergebnisse der ESETCID-Studie mit größeren Patientenzahlen stehen noch aus. Immunadsorption ergab in kleinen Studien positive Ergebnisse auf klinische Parameter bei Patienten mit zirkulierenden antikardialen Autoantikörpern (Bulut et al, 2010 und 2011). In der Abb. 1 sind die möglichen Befunde in der EMB und den daraus abgeleiteten Therapiemöglichkeiten dargestellt.

### 3. Zielstellung der Arbeit

Über den natürlichen Verlauf der DCM-Erkrankung ist wenig bekannt. Die Forschung konzentriert sich derzeit darauf, Virusinfektion und Inflammation im Myokard als eigene Krankheitsentitäten zu untersuchen, ohne sie in den Gesamtkontext des DCM-Verlaufes einzuordnen. Dies spiegelt sich in der Klassifikation der inflammatorischen Kardiomyopathie wieder. Bei dem Nachweis von Viren im Myokard wird von einer schädigenden Wirkung derselben ausgegangen. Inflammation soll, verursacht durch Viren oder autoimmune Prozesse, über myokardschädigende Mechanismen die DCM auslösen. In Tiermodellen nachgewiesene Pathomechanismen der akuten Myokarditis wurden auf den Menschen übertragen und als geltend für den Bereich der chronischen Myokarditis bzw. DCM angenommen. Die vermutete Kausalkette von Virusinfektion und Inflammation zur DCM resultierten in neuen, teilweise für den Patienten belastenden Therapien, wie Interferon- und Immunsuppressionstherapie. Es stellt sich die Frage ob solche Therapien für den Patienten von Nutzen sind, wie die oftmals kontroversen Therapiestudienergebnisse zeigen. Zudem fehlt der Vergleich zum natürlichen Verlauf der DCM unter leitliniengerechter Herzinsuffizienztherapie, die in den letzten Jahren zu einer deutlichen Verbesserung der Prognose der Herzinsuffizienz geführt hat.

Diese Arbeit verfolgt das Ziel, die aktuelle Klassifikation der viralen/inflammatorischen Kardiomyopathie im Hinblick auf deren Sinnhaftigkeit für Klinik und Patient zu überprüfen. Im ersten Teil wird der Verlauf und die Prognose der DCM-Patienten unabhängig von Virusgenomnachweis und Inflammation genauer betrachtet, um einen Vergleichswert zu erhalten. Gleichzeitig kann ein Blick auf die Häufigkeit von Virusnachweis und Inflammation im Gesamtpatientenkollektiv geworfen werden. Es wird untersucht, welche Faktoren einen Einfluss auf das Überleben der Patienten haben. Dabei werden neben Virusgenomnachweis und Inflammation auch klinische Parameter, Medikation und Begleiterkrankungen betrachtet. Um herauszufinden, ob die nach der Klassifikation eingeteilten viralen und inflammatorischen Kardiomyopathie tatsächlich einen Einfluss auf die Prognose der Erkrankung haben, werden die Überlebenszeiten von Virus- oder Inflammations-positiven Patienten mit denen der DCM-Patienten ohne Virusnachweis oder Inflammation verglichen. Dieser Teil überprüft auch den Einfluss der Beta-Blocker-Einnahme auf Verlauf und Prognose im Vergleich zum Gesamtkollektiv der DCM-Patienten.

Anschließend werden der Verlauf und die Prognose der Erkrankung bei Patienten mit positivem Virusnachweis verglichen mit den DCM-Patienten ohne Virusgenom im Myokard. Hier soll sich zeigen, ob das Vorhandensein von Virusgenom im Herzmuskel einen Einfluss auf die Prognose hat, der eine antivirale Therapie rechtfertigt. Ein Augenmerk wird auch auf die EV gelegt, da hier ein konkreter Schädigungsmechanismus aus dem Tiermodell bekannt ist.

Der letzte Teil befasst sich mit der Inflammation. Es werden die Patienten, die mit 14 oder mehr Lymphozyten und Makrophagen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe die Kriterien der inflammatorischen Kardiomyopathie erfüllen, mit den Patienten ohne myokardiale Inflammation verglichen, um herauszufinden, ob die Inflammation eine Verschlechterung des Verlaufs und der Prognose bedeutet. So kann auch der Stellenwert der immunsuppressiven Therapie neu betrachtet werden.

## 4. Methoden

### 4.1 Patienten

Für diese Untersuchung wurden Patienten aus dem Zeitraum Januar 1997 bis Dezember 2007 eingeschlossen, bei denen eine Endomyokardbiopsie (EMB) durchgeführt worden ist. Die Indikation hierfür ergab sich aus einer klinisch oder echokardiographisch eingeschränkten linksventrikulären Funktion, einem Verdacht auf eine akute oder chronische Myokarditis, kardiale Amyloidose, Speichererkrankungen oder kardialer Beteiligung bei Systemerkrankungen. Vorher wurde eine koronare Herzerkrankung durch eine Koronarangiographie ausgeschlossen. Die Patienten gaben nach Aufklärung über Ablauf und Risiken der EMB eine schriftliche Einverständniserklärung ab und wurden über die Ergebnisse der Analysen informiert. Die Objektivierung der Schwere der Herzinsuffizienz erfolgte über die Beurteilung der Symptomatik nach der NYHA Klassifikation und bei einigen Patienten durch die Bestimmung des BNP Spiegels im Serum mit dem Architect System BNP-Test von Abbott Laboratories Diagnostic Division, USA. Nach dieser Diagnostik sind die Patienten in Abständen von 3 bis 6 Monaten in die Herzinsuffizienzprechstunde des Universitätsklinikums Jena einbestellt worden, um echokardiographisch die linksventrikulären Parameter und die Ejektionsfraktion zu kontrollieren. Im April und August 2010 erhielten die Patienten einen Fragebogen, um das aktuelle Befinden analysieren zu können. Dieser Fragebogen wurde nach dem Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire (MLHFQ) gestaltet, womit die physischen und psychischen Einschränkungen durch die Herzinsuffizienz beurteilt werden können (Bennet et al, 2002). Gleichzeitig wurden die Patienten um die unterschriebene Bestätigung ihrer Einverständniserklärung zum Datenaustausch mit dem aktuellen Hausarzt und Kardiologen gebeten. Nach Erhalten der Einverständniserklärung wurden die Hausärzte oder Kardiologen der Patienten, die sich nicht in regelmäßiger Kontrolle in der kardiologischen Ambulanz des Universitätsklinikums Jena befanden, angeschrieben mit der Bitte um Informationen über NYHA Klassifikation, Medikation und eine aktuelle Echokardiographie der Patienten zuzusenden. Für die Untersuchungen liegt ein positives Ethikvotum von der Ethikkommission mit der Nummer 3098-04/11 vor.



#### **4.2 Echokardiographie und Endomyokardbiopsie**

In der Echokardiographie wurde die Ejektionsfraktion durch die Scheibchensummationsmethode nach Simpson und der linksventrikuläre enddiastolische Diameter in mm bestimmt. Die Endomyokardbiopsie erfolgte im Anschluss an die Koronardiagnostik, wo über eine Schleuse mit Hilfe einer Biopsiezange 6 Biopsien aus der freien linksventrikulären Wand entnommen wurden. 3 der Biopsieproben wurden für die histologische und immunhistochemische Untersuchung und 3 für die Virologie verwendet. Dafür wurden noch im Katheterlabor eine Probe in Glutaraldehyd, eine in Formalin fixiert, eine Probe wurde in ein Einbettungsmedium für Gefrierschnitte (Nussloch, Deutschland) eingebettet und 3 Proben wurden in flüssigen Stickstoff eingefroren.

#### **4.3 Histologie und Immunhistochemie der Endomyokardbiopsien**

Für die histologische Beurteilung wurden die in Paraffin eingebetteten Proben geschnitten und mit Hämatoxylin-Eosin angefärbt. Es erfolgte die Bestimmung der Myozytengröße in  $\mu\text{m}$  und der Anteil der Fibrose in Prozent. Zur Differenzierung der infiltrierten Zellen wurden Biopsieschnitte in Aceton fixiert und mit CD68-Antikörpern die Makrophagen, mit CD3-Antikörpern alle T-Zellen und mit CD4- und CD8-Antikörpern die CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-T-Zellen detektiert. Die Antikörper stammen von der Firma DAKO (DAKO, Hamburg, Deutschland). Die Anzahl der Zellen wurde in Zellzahl/ $\text{mm}^2$  angegeben.

Der Nachweis des Major Histocompatibility II-Komplexes (MHC II) erfolgte durch Antikörper gegen die  $\alpha$  Kette des Human Leukozyten Antigen DR (HLA DR) von der Firma DAKO. Die Intensität der Färbung wurde semiquantitativ wie folgt angegeben: keine, geringe, mäßige und deutliche Anfärbung.

#### **4.4 Nachweis viralen Genoms aus der Myokardbiopsie**

Nach der Methode von Chromczynski und Sacchi wurde die Gesamt-RNA aus den in flüssigen Stickstoff eingefrorenen Biopsien isoliert. Die Homogenisierung des Gewebes erfolgte in 4 M Guanidin-Thiozyanat/Mercaptoethanol. Dann wurde die RNA in Phenol-Chloroform extrahiert und präzipitiert sowie in Ethanol gewaschen. Nach der Resuspendierung in 20  $\mu\text{l}$  destillierten Wasser erfolgte die Synthese der cDNA, indem 10  $\mu\text{l}$  der Gesamt-RNA mit oligo (dT) Nukleotiden entsprechend dem Testprotokoll des Herstellers (Promega Corporation,

Madison, Wisconsin, USA) angesetzt wurde. Um den Erfolg der RNA-Isolation und die Integrität der RNA nachzuweisen, wurde eine Reverse Transkriptase (RT-) Polymerase Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von GAPDH als house keeping Gen durchgeführt. Die Extrahierung der Adenovirus- und Parvovirus B19-DNA erfolgte durch ein Kit der Firma Quiagen (Hilden, Deutschland) aus den Biopsien. Die aufgereinigte DNA wurde in 50 µl AE-Puffer gegeben. Durch den Nachweis von humanen  $\beta$ -Aktin in einer PCR wurde der Erfolg der DNA-Isolation und die Integrität der DNA bestätigt.

#### **4.4.1 Nachweis von enteroviraler RNA**

Die enterovirale RNA wurde durch eine reverse Transkription mit anschließender PCR nach dem Protokoll des Herstellers (Titan One Tube RT-PCR System, Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland) nachgewiesen. Dazu wurde 10 µl der RNA mit dem Reaktionsansatz und Primer, die die konservierte 5' Region der Enteroviren erkennen, eingesetzt. Zur Erhöhung der Sensitivität erfolgte anschließend eine Southern Blot Hybridisierung mit Digoxigenin-markierter DNA unter Verwendung von DIG-11-dUTP-Nukleotiden (Roche Diagnostics, Mannheim, Deutschland). Die Reaktionsprodukte wurden nach Auftrennung in Agarosegel unter UV-Licht sichtbar gemacht.

#### **4.4.2 Nachweis der enteroviralen Minus-Strang-RNA**

Der spezifische Nachweis der enteroviralen Minus-Strang-RNA erfolgte durch eine Methode von Pauschinger und Mitarbeiter (Pauschinger, Doerner et al, 1999). Zuerst wurden die enteroviralen reversen Transkriptasen nach der cDNA-Synthese komplett inaktiviert um ein falsch positives Ergebnis zu vermeiden. Dazu wurde der Reaktionsansatz mit der hinzugegebenen cDNA für mindestens 30 Minuten aufgekocht. Dann wurde eine RT-PCR mit 35 Zyklen durchgeführt unter Einsatz von spezifischen Primern zur Amplifikation des Minus-Stranges. Es folgte eine Southern Blot Hybridisierung, Auftrennung in Agarosegel und das Sichtbarmachen des Ergebnisses unter UV-Licht.

#### **4.4.3 Nachweis von Parvovirus B19 DNA**

Der Nachweis von Parvovirus B19-Genom erfolgt über zwei PCR-Schritte. Im ersten erfolgte die Amplifikation eines 290 Basenpaarfragmentes. Im zweiten Schritt wurde eine Nested PCR mit Entstehung eines 173 Basenpaarfragmentes durchgeführt, bei der Primer, die innerhalb

des 290 Basenpaarfragmentes ansetzen, verwendet wurden. Das Produkt wurde in Agarosegel aufgetrennt und unter UV-Licht sichtbar gemacht.

#### **4.4.4 Nachweis von Adenovirus DNA**

Durch eine PCR zum Nachweis aller Adenovirustypen wurden mit Hilfe von zwei Primerpaaren, nach Pauschinger und Mitarbeiter, ein 440 Basenpaare und ein 330 Basenpaare langes Fragment gewonnen (Pauschinger, Bowles et al, 1999). Das Ergebnis wurde nach Auftrennung in Agarosegel unter UV-Licht sichtbar gemacht.

#### **4.5 Statistische Datenanalyse**

Zur Übersicht der Diagnosegruppen und der Daten in der DCM Gruppe wurden Verteilungsberechnungen durchgeführt, die Ergebnisse wurden in relativen Häufigkeiten oder Mittelwert und Standardabweichung angegeben. Nominale Daten wurden durch den  $\chi^2$  Test verglichen. Die Vergleiche stetiger Daten erfolgte durch den ungepaarten Student's T-Test. Im Vergleich zwischen der Überlebenden- und der Tod/HTX-Gruppe wurden die Daten univariat mit der Cox Proportional Hazard Analyse getestet. Für die Vergleiche der transplantatfreien Überlebenszeiten zwischen den Gruppen wurden eine Kaplan-Maier-Analyse und ein Log-Rank-Test herangezogen. Die mediane Überlebenszeit wurde nach der Weibull-Methode geschätzt. Für die multivariate Analyse einiger Daten wurde eine Cox Proportional Hazard Analyse verwendet. Ein p-Wert unter 0,05 wurde als statistisch signifikant angenommen. Die Datenanalyse erfolgte mit der JMP Statistical Software Version 8.0.1 (SAS Institute Inc., USA). Die statistische Analyse wurde nach Beratung durch einen Biostatistiker aus dem Institut für medizinische Statistik, Informatik und Dokumentation des Universitätsklinikums Jena durchgeführt.

## 5. Ergebnisse

### 5.1 Diagnosenverteilung der Biopsiepatienten

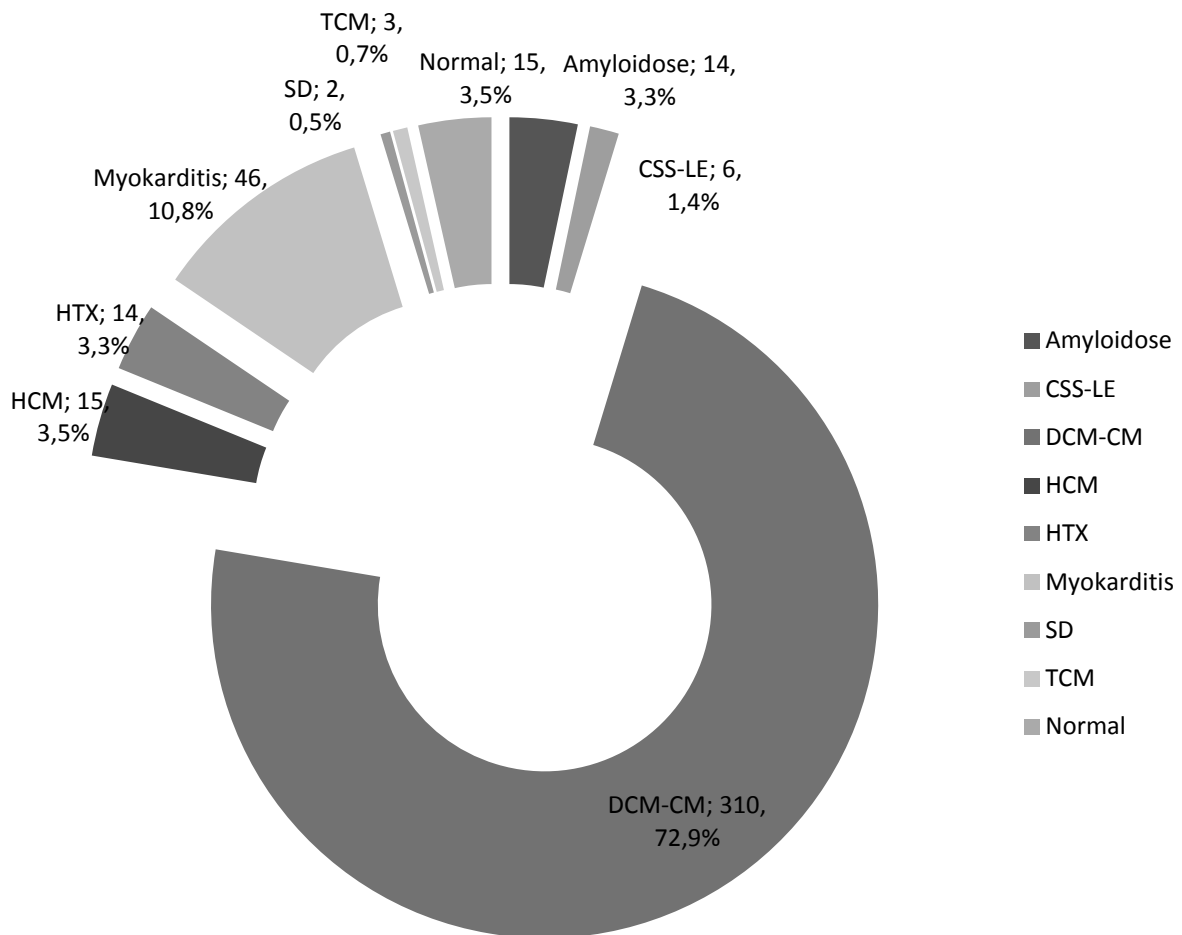


Abb. 2: Diagnosenverteilung in der Biopsiepopulation

Aus dem Zeitraum von 1997 bis 2007 wurden 466 Patienten, die einer EMB unterzogen wurden, in die Datenbank aufgenommen. Auf Grund der pathologischen Diagnose und der klinischen und immunhistochemischen Parameter erfolgte eine Einteilung in 9 Diagnosegruppen (siehe Abb. 2). Bei 14 Patienten (3,3%) wurde eine kardiale Amyloidose diagnostiziert. Ebenfalls 14 Patienten erhielten die Biopsie zur Beurteilung der Abstoßungsreaktion nach Herztransplantation (HTX). Bei den 6 Patienten (1,4%) der CSS-LE Gruppe erfolgte die Diagnose eines Churg-Strauss-Syndroms in 4 und eines Lupus erythematoses in 2 Fällen. Von den 3 Patienten (0,7%) mit der Diagnose einer toxischen Kardiomyopathie (TCM) war diese bei zwei Adriamycin-induziert, beim dritten Patienten

wurde ebenfalls Adriamycin als auslösende Substanz vermutet. Die beiden Patienten (0,5%) in der Gruppe der Speichererkrankungen (SD) hatten eine Glykogenspeichererkrankung und einen Morbus Fabry. Bei 15 Patienten (3,5%) erfolgte die Diagnose einer hypertrophen Kardiomyopathie (HCM), wovon 13 an der nicht obstruktiven und 2 an der obstruktiven Form erkrankt waren. In der Gruppe der dilatativen Kardiomyopathie und chronischen Myokarditis (DCM-CM) mit 310 Patienten (72,9%) wurden neben den 250 Patienten mit eindeutigem Befund einer DCM auch 3 Patienten mit inflammatorischer dilatativer Kardiomyopathie, 13 mit chronischer Myokarditis, 8 mit dem klinischen Bild einer DCM und pathologischen Normalbefund, 8 Patienten mit einer ausgeheilten Myokarditis und klinischem Bild einer DCM und 28 mit im pathologischen Befund nicht näher klassifizierter Myokarditis und klinischen Zeichen einer DCM mit eingeschlossen. Klinische Zeichen der DCM sind eine EF unter 35%, ein dilatierter linker Ventrikel sichtbar an einem vergrößerten LVEDD und an den Zahlen der Entzündungszellen ausgeschlossene akute Myokarditis. Die Gruppe der Myokarditispatienten mit 46 Individuen (10,8%) beinhaltet 11 akute Myokarditiden, 7 Patienten mit Borderline Myokarditis, einen mit Ongoing und 9 mit Healing oder Healed Myokarditis, klassifiziert nach den Dallas Kriterien. 18 Patienten in dieser Gruppe hatten eine nicht näher klassifizierte Myokarditis. Bei insgesamt 41 Patienten konnte keine Einteilung in Diagnosegruppen erfolgen, da entweder kein pathologischer Befund vorlag, in diesem keine eindeutige Aussage möglich war oder die Diagnose, wie Perikarditis, RCM oder Riesenzellmyokarditis, in keine der Gruppen einsortiert werden konnte.

## **5.2 Daten der Patienten der DCM-CM Gruppe**

### **5.2.1 Klinische und laborchemische Daten**

Insgesamt konnten 308 Patienten in die Analysen eingeschlossen werden. Das Alter der Patienten liegt bei  $49 \pm 11,9$  Jahren, 80,5% sind männlichen Geschlechts und 19,5% sind weiblich. Der BMI liegt durchschnittlich bei  $27,4 \pm 4,9$  kg/m<sup>2</sup>. Von allen Patienten waren 12% zum Zeitpunkt der Biopsie im NYHA-Stadium I, 39% im NYHA-Stadium II, 40% im NYHA-Stadium III und 9% im NYHA-Stadium IV. Vom Beginn der Symptome bis zum Zeitpunkt der Biopsie vergingen  $102 \pm 212$  Tage. An Begleiterkrankungen lagen bei 27% ein arterieller Hypertonus und bei 18% ein Diabetes mellitus vor. Im Durchschnitt wurde  $10,9 \pm 15,6$  packyears geraucht bei einem Anteil von 42,4% Nichtrauchern, absolut 78 von 184 Personen. Der Virusnachweis war bei 54,1% der Patienten negativ, 22,3% hatten Parvovirus B19, 17,5%

Enterovirus und 0,3% Adenoviren im Myokard. Ein Doppelnachweis von Viren erfolgte in 5,8% der Patienten, von denen 4,1% Parvoviren und Enteroviren und 1,7% Parvoviren und Adenoviren nachweisbar waren.

Tab. 1: Klinische und laborchemische Daten der Patienten in der DCM-CM Gruppe

Alter (Jahre)	49 ± 11,9
Geschlecht (m/w)	248/60
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,4 ± 4,9
NYHA Stadium (I / II / III / IV)	34 / 108 / 112 / 26
BNP (pg/ml)	577,2 ± 1026,2
Zeit Symptombeginn bis EBM (Tage)	102 ± 212
Echo-EF (%)	31,8 ± 12,0
LVEDD (mm)	64,3 ± 8,5
Hypertonus n (%)	62 (27,0)
Diabetes mellitus n (%)	41 (18,0)
Rauchen (packyears)	10,9 ± 15,6
Virusnachweis im Myokard n (%)	
Parvovirus B19	65 (22,3)
Enterovirus	51 (17,5)
Adenovirus	1 (0,3)
Parvovirus + Enterovirus	12 (4,1)
Parvovirus + Adenovirus	5 (1,7)
Medikamente (%)	
ACE-Hemmer/Sartan	91,8
Beta-Blocker	87,2
Calcium-Antagonist	10,3
Diuretikum	80,0
Glycosid	38,3
Aldosteron-Antagonist	32,2
Endpunkt (Tod / HTX)	73 / 11
Mediane Überlebenszeit (Monate)	161,5

Es nahmen 91,8% der Patienten einen ACE-Hemmer oder einen Angiotensin-Rezeptorblocker (Sartan), 87,2% einen Beta-Blocker, 10,3% einen Calcium-Antagonist, 80% ein Diuretikum, 38,3% ein Glykosid und 32,2% einen Aldosteron-Antagonisten ein. 223

Patienten waren zum Ende des Beobachtungszeitraumes am Leben, das entspricht 72,6%, 73 waren verstorben (23,8%) und 11 Patienten erhielten eine Herztransplantation (3,6%). Die bei den Patienten durchgeführte Echokardiographie ergab eine planimetrisch gemessene EF von  $31,8 \pm 12,0\%$  und einen linksventrikulären Durchmesser von  $64,3 \pm 8,5\text{mm}$ . Das BNP war im Mittel  $577,2 \pm 1026,2\text{pg/ml}$  (siehe Tab. 1).

### 5.2.2 Histologische und immunhistochemische Daten

Der Durchmesser der Myozyten betrug  $27,4 \pm 5,6 \mu\text{m}$ , der Grad an Fibrose, angegeben in %, war  $4,8 \pm 6,8$ . An Entzündungszellen wurden  $7,4 \pm 8,2$  Makrophagen pro  $\text{mm}^2$ ,  $4,0 \pm 4,6$  T-Lymphozyten pro  $\text{mm}^2$ , nachgewiesen durch den CD3-Rezeptor,  $\text{CD4}^+$  Zellen mit  $0,6 \pm 1,4$  pro  $\text{mm}^2$  und  $\text{CD8}^+$  Zellen mit  $1,4 \pm 2,5$  pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe festgestellt. Der HLA II-Nachweis ist nach Ausprägung in 2 Gruppen eingeteilt worden: keine Expression und geringe Intensität in die Gruppe 0 sowie mittelstarke und starke Intensität in die Gruppe 1. 113 Patienten (41,1%) hatten keine oder eine geringe und 162 (58,9%) eine mittelstarke bis starke HLA II-Expression.

Tab. 2: Histologische und immunhistochemische Daten der DCM-Patienten

Myozytendurchmesser ( $\mu\text{m}$ )	$27,4 \pm 5,6$
Fibrose (%)	$4,8 \pm 6,8$
Makrophagen (pro $\text{mm}^2$ )	$7,4 \pm 8,2$
T-Lymphozyten/CD3 (pro $\text{mm}^2$ )	$4,0 \pm 4,6$
$\text{CD4}^+$ -Zellen	$0,6 \pm 1,4$
$\text{CD8}^+$ -Zellen	$1,4 \pm 2,5$
HLA II-Intensität* n (%)	
0	113 (41,1)
1	162 (58,9)
Inflammationszellen ( $\geq 14 / < 14 / \text{mm}^2$ )	80 / 181
Inflammationszellen ( $\geq 14 / \leq 3 / \text{mm}^2$ )	80 / 67

\* 0= keine oder geringe HLA-Intensität / 1= mittelstarke oder starke HLA-Intensität

Nach den Kriterien der inflammatorischen Kardiomyopathie wurden die Patienten mit 14 oder mehr Entzündungszellen (Makrophagen + T-Lymphozyten) pro  $\text{mm}^2$  von denen unter 14 Zellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe unterschieden. Ebenfalls wurde eine zusätzliche Gruppe mit 3 oder weniger Zellen pro  $\text{mm}^2$  gebildet. 80 Patienten zählten in die Gruppe mit  $\geq 14$

Zellen (30,7) gegen 181 Patienten in der <14 Zellen-Gruppe. In die  $\leq 3$  Zellen-Gruppe gehörten 67 Patienten (siehe Tab. 2).

### **5.3 Univariate Analyse der klinischen, histologischen und immunhistochemischen Daten nach transplantatfreiem Überleben**

Das Alter hat keinen statistisch signifikanten Einfluss auf das transplantatfreie Überleben ( $p: 0,149$ ). Geschlecht ( $p: 0,695$ ) und BMI ( $p: 0,452$ ) bleiben ohne statistische Signifikanz. Im Vergleich von NYHA-Stadium I/II und III/IV zeigt sich ein signifikanter Einfluss des NYHA-Stadiums auf das Überleben mit einem  $p$ -Wert von  $0,002$ . Arterielle Hypertonie ( $p: 0,452$ ), Diabetes ( $p: 0,241$ ) und ein Schenkelblock im EKG ( $p: 0,963$ ) sind nicht statistisch signifikant. Bei den Medikamenten ergaben sich für den Beta-Blocker hohe statistische Signifikanz mit einem  $p$ -Wert von  $0,001$ . 91,5% der Überlebenden nahmen einen Beta-Blocker ein, während dies von den Verstorbenen nur 74,3% taten. Diuretika-Einnahme erfolgte in der Überlebenden-Gruppe zu 76,3% und in der Verstorbenen-Gruppe zu 91,4%, auch dieser Unterschied ist statistisch signifikant mit einem  $p$ -Wert von  $0,008$ . Glykoside wurden von den Verstorbenen/Transplantierten in 57,1% und von den Überlebenden nur in 32,2% der Fälle eingenommen, auch hier ergibt sich eine hohe Signifikanz mit einem  $p$ -Wert von  $0,007$ . Für ACE-Hemmer/Sartane ( $p: 0,461$ ), Kalzium-Antagonisten ( $p: 0,187$ ) und Aldosteron-Antagonisten ( $p: 0,920$ ) ergaben sich keine statistisch signifikanten Unterschiede. Der Virusnachweis erfolgte in der Überlebenden-Gruppe in 54,5% der Fälle und in der Tod/HTX-Gruppe in 68,6% der Fälle. Mit einem  $p$ -Wert von  $0,223$  ist der Unterschied aber nicht statistisch signifikant. Auch der Vergleich der Patienten mit 14 oder mehr Entzündungszellen pro  $\text{mm}^2$  mit den Patienten mit weniger als 14 Zellen ( $p: 0,992$ ) oder 3 und weniger Zellen ( $p: 0,762$ ) ergibt keine statistische Signifikanz, 32,3% hatten bei den Überlebenden 14 oder mehr Zellen und 67,7% weniger als 14, während bei den Verstorbenen/Transplantierten 26,8% in die  $\geq 14$  Zellen-Gruppe und 73,2% in die <14 Zellen-Gruppe zählen.



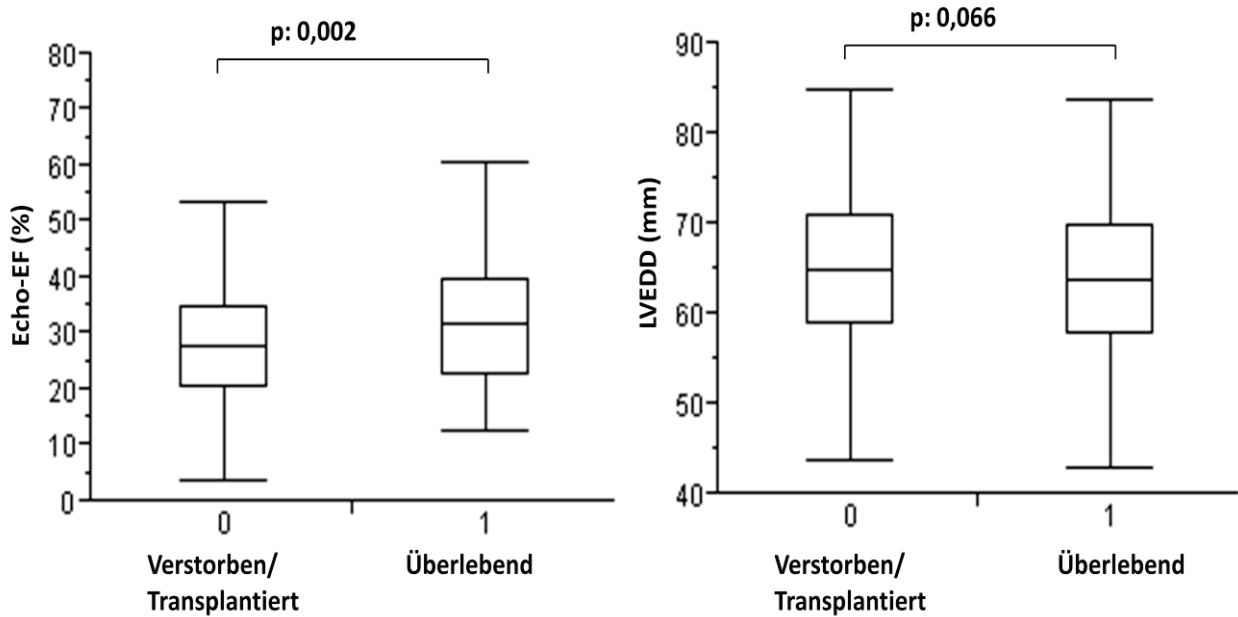


Abb.3: Vergleich von Ejektionsfraktion und LVEDD zwischen der Gruppe der Verstorbenen/Transplantierten und der Gruppe der überlebenden Patienten

Die Echo-EF ist mit einem p-Wert von 0,002 statistisch hoch signifikant. In der Überlebenden-Gruppe liegt sie bei  $33,0 \pm 12,2\%$  und bei den Verstorbenen/Transplantierten bei  $28,6 \pm 10,7\%$ . Der LVEDD ist bei den Verstorbenen  $65,8 \pm 8,5\text{mm}$  und bei den Überlebenden  $63,8 \pm 8,5\text{mm}$ , aber der Unterschied ist mit einem p-Wert von 0,066 nicht statistisch signifikant (siehe Abb. 3).

In den histologischen und immunhistochemischen Ergebnissen, wie Myozytendurchmesser (p-Wert: 0,428), Grad der Fibrose (p: 0,445), sowie Makrophagen (p: 0,378), T-Lymphozyten (p-Wert: 0,393), CD4<sup>+</sup> (p: 0,766) und CD8<sup>+</sup>-Zellen (p: 0,902) gibt es keine statistisch signifikanten Unterschiede. Die Stärke der HLA Klasse II-Expression im Myokardgewebe ergibt keinen signifikanten Einfluss auf das transplantatfreie Überleben mit einem p-Wert von 0,832. In der Überlebenden-Gruppe hatten 89 Patienten (45,0%) keine oder geringe HLA II-Intensität (0) und 109 (55,0%) hatten mittelstarke oder starke HLA II-Intensität (1). In der Tod/HTX-Gruppe verteilten sich die Patienten auf 23 (30,3%) mit keiner oder geringer und 53 (69,7%) mit mittlerer oder starker HLA II-Aktivierung. Die mittlere Überlebenszeit beträgt für die Patienten mit Ereignis  $46,2 \pm 35,8$  Monate nach der Biopsie.

Tab. 3a: Univariater Vergleich der Gruppe der Überlebenden und der Tod/HTX-Gruppe mittels Cox-Regressionsanalyse

	Überlebend n=223	Tod/HTX n=84	p-Wert
Alter (Jahre)	48,3 ± 11,8	50,9 ± 12,0	0,149
Geschlecht (m/w)	178 / 45	69 / 15	0,695
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,2 ± 4,7	27,8 ± 5,4	0,452
NYHA I/II vs. III/IV n (%)	109 (53,7) vs. 94 (46,3)	32 (42,1) vs. 44 (57,9)	0,002
BNP (pg/ml)	537,3 ± 984,7	653,1 ± 1109,5	0,034
Hypertonie n (%)	46 (26,1)	16 (30,2)	0,452
Diabetes n (%)	29 (16,4)	12 (22,2)	0,241
Schenkelblock n (%)	34 (21,3)	11 (22,5)	0,963
Medikamente (%)			
ACE-H./Sartan	91,5	92,9	0,461
Beta-Blocker	91,5	74,3	0,001
Ca-Antagonist	10,9	8,6	0,187
Diuretika	76,3	91,4	0,008
Glycosid	32,2	57,1	0,007
Aldosteron-Antag.	32,2	32,9	0,920
Echo-EF (%)	33,0 ± 12,2	28,6 ± 10,7	0,002
LVEDD (mm)	63,8 ± 8,5	65,8 ± 8,5	0,066
Virus pos. n (%)	97 (54,5)	35 (68,6)	0,223
Inflammation n (%)			
≥14 vs. <14/mm <sup>2</sup>	61 (32,3) vs. 128 (67,7)	19 (26,8) vs. 52 (73,2)	0,992
≥14 vs. ≤3/mm <sup>2</sup>	61 (59,2) vs. 42 (40,8)	19 (43,2) vs. 25 (56,8)	0,762
Myozytendurchmesser (µm)	27,3 ± 5,7	27,6 ± 5,5	0,428
Fibrose (%)	4,7 ± 7,1	5,1 ± 6,2	0,445
Makrophagen (/mm <sup>2</sup> )	7,6 ± 7,9	7,0 ± 9,1	0,378
T-Lymph. (/mm <sup>2</sup> )	4,3 ± 4,5	3,4 ± 4,9	0,393
CD4 <sup>+</sup> (/mm <sup>2</sup> )	0,6 ± 1,3	0,6 ± 1,7	0,766
CD8 <sup>+</sup> (/mm <sup>2</sup> )	1,4 ± 2,4	1,3 ± 2,4	0,902
HLA Klasse II (0/1)* n (%)	89 (45,0) / 109 (55,0)	23 (30,3) / 53 (69,7)	0,823

\* 0= keine oder geringe HLA-Intensität / 1= mittelstarke oder starke HLA-Intensität

Die Tabelle 3b zeigt die Hazard Ratio und die zugehörigen 95%-Konfidenzintervalle zu den wichtigen Werten.

Tab. 3b: Hazard Ratio und Konfidenzintervalle der univariaten Cox-Regressionsanalyse

	Hazard Ratio	95%-Konfidenzintervall
Alter (Jahren)	1,013	0,995-1,032
Geschlecht		
Männlich (n=247)	0,897	0,521-1,546
Weiblich (n=60)	1	
NYHA		
Stadium I	1	
Stadium II	2,155	0,756-6,146
Stadium III	3,228	1,142-9,130
Stadium IV	6,549	2,149-19,955
NYHA I/II vs. III/IV		
I/II	1	
III/IV	2,019	1,283-3,178
ACE-H./Sartan-Einnahme	1,409	0,566-3,508
Beta-Blocker-Einnahme	0,403	0,237-0,687
Diuretika-Einnahme	3,088	1,339-7,123
Aldosteronantag.-Einnahme	0,976	0,601-1,582
Echo EF (%)	0,969	0,959-0,988
LVEDD (mm)	1,025	0,998-1,053
Virusnachweis		
positiv	1,431	0,804-2,584
negativ	1	
Inflammation $\geq 14 / < 14$ (/mm <sup>2</sup> )		
$\geq 14$	0,997	0,588-1,690
$< 14$	1	
Inflammation $\geq 14 / \leq 3$ (/mm <sup>2</sup> )		
$\geq 14$	0,910	0,496-1,041
$\leq 3$	1	
Makrophagen (/mm <sup>2</sup> )	1,012	0,985-1,523
T-Lymphozyten (/mm <sup>2</sup> )	0,976	0,922-1,032

Dabei ergibt sich mit höherem NYHA-Stadium ein gesteigertes Risiko zu versterben, bei NYHA-Stadium II 2,2fach, NYHA III 3,2fach und im Stadium IV 6,5fach. Auch der Vergleich NYHA-Stadium I/ II mit NYHA III/IV ergibt für letzteres eine Hazard Ratio von 2,0. Bei Einnahme von Beta-Blockern ist das Risiko zu versterben vermindert mit einer Ratio von 0,4. Die Diuretika-einnahme ist mit einem 3,1fach erhöhten Risiko verbunden, dass sich aber durch den Einsatz dieser Medikamente in höheren Krankheitsstadien erklärt. Die Echo-EF zeigt ein signifikant niedrigeres Risiko je höher die Auswurfraction ist. Für Virusnachweis und Inflammation ergibt sich keine statistisch signifikante Risikoerhöhung (siehe Tab. 3b).

## 5.4 Multivariate Analyse nach transplantatfreiem Überleben und Überlebenszeit

### 5.4.1 Analyse der Parameter nach inhaltlichem Aspekt

Analysiert wurden klinische Parameter, Alter, NYHA-Stadium, ACE-Hemmer- und Beta-Blocker-Einnahme, die Echo-EF zum Biopsiezeitpunkt, Viruslast, Inflammation mit  $\geq 14 / < 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe und die HLA Klasse II-Vermehrung. In die Analyse konnten 157 Patienten eingeschlossen werden, von denen waren 30 (19,1%) verstorben und 127 (80,9%) hatten kein Ereignis im Beobachtungszeitraum.

Tab. 4: Multivariate Analyse der klinischen und histologischen/immunhistochemischen Daten nach inhaltlichem Aspekt

	p-Wert
Alter (Jahre)	0,738
NYHA I+II vs. III+IV	0,294
ACE-Hemmer/Sartan	0,521
Beta-Blocker	0,0930
Echo-EF (%)	0,0422
Virus (pos./neg.)	0,441
Inflammation $\geq 14 / < 14$ Zellen	0,955
HLA Klasse II (0/1)*	0,796

\* 0=keine oder geringe HLA-Intensität / 1=mittelstarke oder starke HLA-Intensität

Bei den klinischen Parametern ergibt sich keine statistische Signifikanz für Alter (p: 0,738), NYHA-Stadium I/II gegen III/IV (p: 0,294), ACE-Hemmer- (p: 0,521) und Beta-Blocker-Einnahme (p: 0,0930). Die Echo-EF ergab einen signifikanten Einfluss auf Überleben und

Überlebenszeit mit einem p-Wert von 0,0422. Viruslast (p: 0,441), Inflammation (p: 0,955) und HLA II-Intensität (p: 0,796) bleiben ohne statistische Signifikanz (siehe Tab. 4).

#### 5.4.2 Analyse der Parameter mit einem p-Wert <0,1 in der univariaten Analyse

In einer weiteren Analyse wurden alle Parameter untersucht, die im univariaten Vergleich zwischen den Überlebenden und den Verstorbenen/Transplantierten einen p-Wert von <0,1 ergaben. In die Analyse konnten 261 Patienten eingeschlossen werden, 66 (25,3%) sind verstorben oder transplantiert worden und 195 (74,7%) hatten kein Ereignis. Um einen Einfluss des Alters auszuschließen, wurde die Analyse ein weiteres Mal unter Einschluss des Alters durchgeführt. Die Echo-EF ergab einen statistisch signifikanten Unterschied mit einem p-Wert von 0,0138, auch mit Einschluss des Alters bleibt diese Signifikanz bestehen (p: 0,0119). Der LVEDD zeigt keine Signifikanz in beiden Analysen. Das NYHA-Stadium ist in der multivariaten Analyse nicht mehr signifikant mit einem p-Wert von 0,123 ohne und 0,174 mit Einschluss des Alters. Die Einnahme von Beta-Blockern ergab einen hoch signifikanten Unterschied mit einem p-Wert von 0,0009 der auch in der Analyse unter Einschluss des Patientenalters bestehen bleibt. Die Einnahme von Diuretika wurde trotz einem p-Wert von <0,05 in der univariaten Analyse ausgeschlossen, da ein systematischer Fehler durch die Gabe in höheren Krankheitsstadien zu vermuten ist. Die Glycosid- und Statin-Einnahme wurde hier ebenfalls wegen geringer Patientenzahlen ausgeschlossen.

Tab. 5: Multivariate Cox-Regressionsanalyse der Parameter mit einem p-Wert <0,05 in der univariaten Analyse nach der transplantatfreien Überlebenszeit

	p-Wert Ausschluss des Alter	p-Wert Einschluss des Alters (p=0,293)
Echo-EF (%)	0,0138	0,0119
LVEDD (mm)	0,744	0,735
NYHA I+II vs. III+IV	0,123	0,174
Beta-Blocker	0,0009	0,0019

## **5.5 Analyse der Daten mit Einteilung nach positivem oder negativem Virusnachweis im Myokard**

### **5.5.1 Klinische und laborchemische Daten der Virusgruppen**

Das Geschlecht, Alter und BMI waren in beiden Gruppen ohne statistische Signifikanz, tendenziell waren die Patienten ohne Virusnachweis älter mit  $50,4 \pm 11,5$  Jahren im Vergleich zu Virus-positiv-Gruppe mit  $47,6 \pm 12,5$  Jahren, der p-Wert liegt bei 0,0851. Vom Auftreten erster Symptome bis zu Biopsie vergingen im Durchschnitt  $85,1 \pm 178,7$  Tage in der Virus-positiv-Gruppe und  $148,4 \pm 277,7$  Tage in der Virus-negativ-Gruppe. Der Unterschied ist mit einem p-Wert von 0,0974 aber nicht statistisch signifikant. Nach dem NYHA-Stadium wurden die Patienten in eine Gruppe mit NYHA-Stadium I und II und in eine Gruppe mit NYHA III und IV eingeteilt. In der Gruppe mit positivem Virusnachweis hatten zum Zeitpunkt der Biopsie 48,3% NYHA I oder II und 51,7% NYHA III oder IV, 52,9% der Virus-Negativen hatten NYHA I/II und 47,1% NYHA III/IV. Zum Kontrollzeitpunkt hatten 79% der Virus-Positiven und 85,5% der Virus-Negativen NYHA I/II und 21% der Virus-Positiven und 14,5% der Virus-Negativen NYHA III/IV. Zu beiden Zeitpunkten ergab sich im NYHA-Stadium keine statistische Signifikanz (p: 0,515, p: 0,674). Auch der BNP-Spiegel im Serum der Patienten ergab zwischen Virus-positiv und Virus-negativ keinen statistisch signifikanten Unterschied (p: 0,625), ebenso bei den Begleiterkrankungen arterieller Hypertonus (p: 0,0677), Diabetes mellitus (p: 0,0975) und der Diagnose eines Schenkelblockbildes im EKG (p: 0,365). Auch in der Medikamenteneinnahme ergab sich kein statistisch signifikanter Unterschied. Einen ACE-Hemmer oder ein Sartan nahmen 90,4% der Virus-positiven und 94% der Virus-negativen Patienten ein (p: 0,348). Beta-Blocker wurden ebenfalls sehr häufig eingenommen, zu 88,8% in der Virus-positiv-Gruppe und zu 94% in der Virus-negativ-Gruppe (p: 0,194). Diuretika waren ebenfalls mit 82,4% der Virus-Positiven und 77,1% der Virus-Negativen ein häufig verschriebenes Medikament (0,350). Aldosteron-Antagonisten wurden zu 40% von den Positiven und zu 34,9% von den Negativen eingenommen (p: 0,461). Calcium-Antagonisten waren mit 12% der Virus-Positiven und 9,6% der Virus-Negativen die am wenigsten eingenommenen Medikamente (p: 0,592), während Statine noch zu 23,5% von den Virus-Positiven und zu 27,2% von den Virus-Negativen eingenommen wurden (p: 0,559).

Tab. 6: Vergleich der klinischen Daten der Virus-positiven und Virus-negativen Patienten

	Virus positiv n=133	Virus negativ n=97	p-Wert
Geschlecht (m/w)	107 / 26	75 / 22	0,565
Alter (Jahre)	47,6 ± 12,6	50,4 ± 11,5	0,0851
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,2 ± 5,2	27,3 ± 4,6	0,855
Zeit Symptombeginn bis Biopsie (Tage)	85,1 ± 178,7	148,4 ± 277,7	0,0974
NYHA I+II vs. III+IV (%)	48,3 vs. 51,7	52,9 vs. 47,1	0,515
Kontroll-NYHA I+II vs. III+IV (%)	79,0 vs. 21,0	85,5 vs. 14,5	0,674
BNP (pg/ml)	708,4 ± 1303,7	600,6 ± 765,7	0,625
Hypertonie n (%)	21 (20,4)	27 (32,1)	0,0677
Diabetes n (%)	14 (13,3)	19 (22,6)	0,0975
Schenkelblock n (%)	17 (18,3)	18 (24,0)	0,365
Medikamente (%)			
ACE-Hemmer/Sartan	90,4	94,0	0,348
Beta-Blocker	88,8	94,0	0,194
Ca-Antag.	12,0	9,6	0,592
Diuretikum	82,4	77,1	0,350
Glykosid	36,0	24,1	0,067
Aldosteron-Antag.	40,0	34,9	0,461
Statin	23,5	27,2	0,559
Echo-EF (%)	31,5 ± 12,0	32,7 ± 12,5	0,475
LVEDD (mm)	64,2 ± 8,6	63,5 ± 9,1	0,580
Kontroll-Echo (Monate)	57,8 ± 38,8	49,7 ± 31,1	0,117
Kontroll-EF (%)	43,4 ± 13,0	43,6 ± 14,5	0,946
Kontroll-LVEDD (mm)	59,1 ± 9,7	57,4 ± 8,1	0,221
Delta-EF (%)	12,5 ± 15,3	11,9 ± 16,4	0,820
Delta-LVEDD (mm)	-5,5 ± 7,9	-6,1 ± 9,5	0,692
Entpunkt n (%)	35 (26,3)	16 (16,5)	0,0684
Tod / Transplantiert (%)	85,7 / 14,3	81,3 / 18,7	0,688

Bei der zum Biopsiezeitpunkt durchgeführten Echokardiographie wurde bei den Virus-positiven Patienten eine Echo-EF von  $31,5 \pm 12,0\%$  und bei den Virus-negativen Patienten  $32,7 \pm 12,5\%$  nachgewiesen ( $p: 0,475$ ). Der LVEDD betrug  $64,2 \pm 8,6\text{mm}$  bei den positiven und  $63,5 \pm 9,1\text{mm}$  bei den negativen Patienten (siehe Abb. 4). Eine Kontroll-Echokardiographie wurde bei den Virus-Positiven nach  $57,8 \pm 38,8$  Monaten und bei den Virus-Negativen nach  $49,7 \pm 31,1$  Monaten durchgeführt ( $p: 0,117$ ). Diese ergab eine Kontroll-EF von  $43,4 \pm 13,0\%$  und einen Kontroll-LVEDD von  $59,1 \pm 9,7\text{mm}$  in der Virus-positiv-Gruppe sowie  $43,6 \pm 14,5\%$  und  $57,4 \pm 8,1\text{mm}$  in der Virus-negativ-Gruppe. Somit verbesserten sich die Patienten mit positivem Virusnachweis um  $12,5 \pm 15,3\%$  in der EF und um  $-5,5 \pm 7,9$  im LVEDD, die Patienten mit negativem Virusnachweis verbesserten sich in der EF um  $11,9 \pm 16,4\%$  und im LVEDD um  $-6,1 \pm 9,5\text{mm}$ . Keine der echokardiographischen Daten ergab zwischen den Gruppen einen statistisch signifikanten Unterschied (siehe Tab. 6).

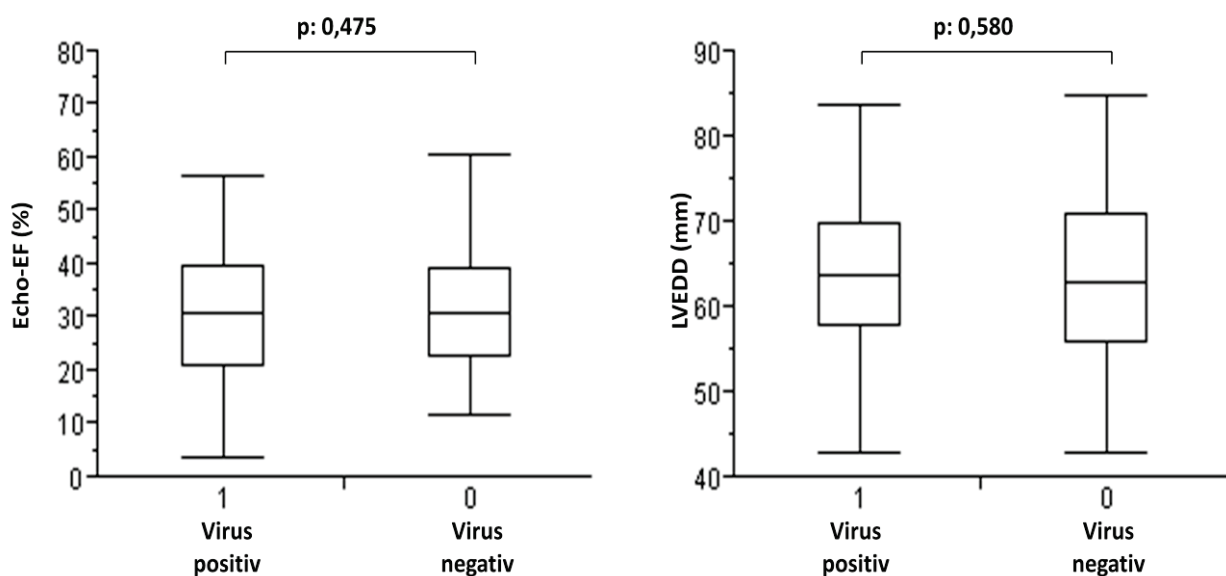


Abb. 4: Vergleich von Ejektionsfraktion und LVEDD zwischen den Patienten mit positivem und den Patienten mit negativem Virusnachweis

Verstorben oder transplantiert waren von den 133 Virus-positiven Patienten 35 (26,3%) und von den 97 Virus-negativen Patienten 16 (16,5%). Der Unterschied ist mit einem p-Wert von 0,0684 nicht statistisch signifikant. Im Verhältnis zwischen Verstorbenen und Transplantierten der beiden Gruppen lässt sich keine Signifikanz feststellen.



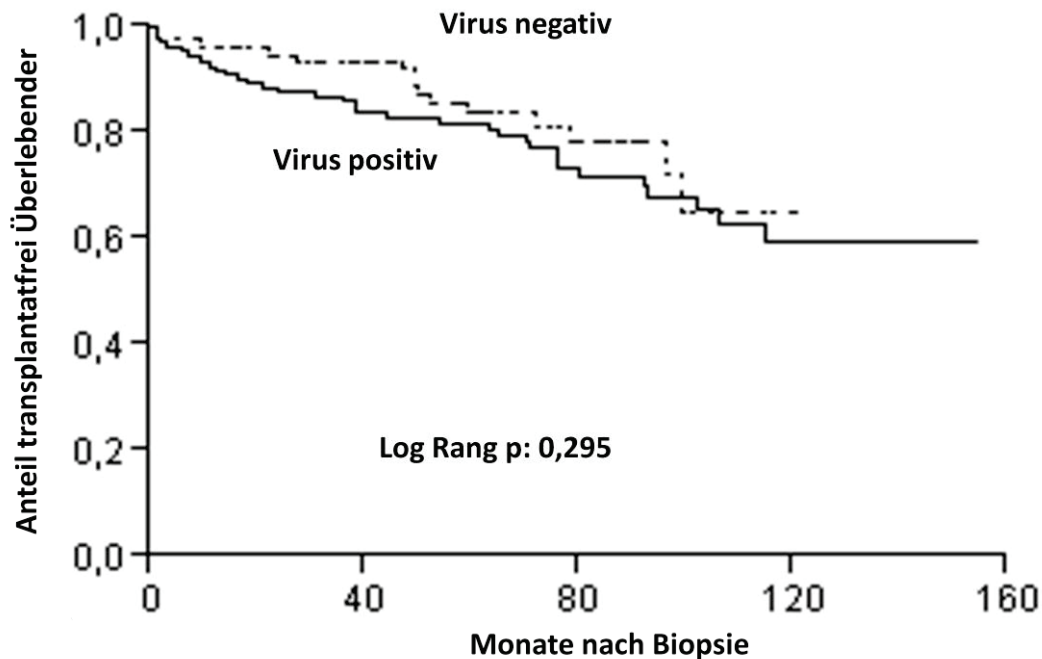


Abb. 5: Vergleich des transplantatfreien Überlebens nach negativem oder positivem Virusnachweis im Myokard

Für die Kaplan-Meier-Analyse nach Viruslast im Myokard konnten 229 Patienten eingeschlossen werden. Insgesamt sind 132 Patienten (57,6%) Virus-positiv, davon waren 35 (26,5%) verstorben oder transplantiert und 97 (73,5%) blieben ohne Ereignis. Von den 97 (42,4%) Virus-negativen Patienten hatten 16 (16,5%) ein Ereignis und 81 (83,5%) der Patienten überlebten. In dem Vergleich der Überlebenszeiten ergibt sich kein statistisch signifikanter Unterschied mit einem p-Wert von 0,295 (siehe Abb. 5). Die mediane Überlebenszeit wurde in der Gruppe mit positiven Virusnachweis auf 202,9 und in der Gruppe ohne Virusnachweis auf 230,4 Monate geschätzt.

### 5.5.2 Histologische und immunhistochemische Daten der Virusgruppen

Die Größe der Myozyten betrug in der Virus-positiv-Gruppe  $26,9 \pm 6,0\mu\text{m}$  und in der Virus-negativ-Gruppe  $28,4 \pm 4,9\mu\text{m}$ . Der Unterschied ist mit einem p-Wert von 0,0333 statistisch signifikant. Der Grad der Fibrose ist nicht signifikant unterschiedlich ( $p: 0,825$ ) und war bei den Virus-Positiven  $4,6 \pm 5,8\%$  und bei den Virus-Negativen  $4,8 \pm 8,3\%$ . Die Anzahl der Makrophagen betrug  $7,2 \pm 8,2/\text{mm}^2$  für Virus-positiv und  $9,0 \pm 7,3/\text{mm}^2$  für Virus-negativ. Der Unterschied ist nicht signifikant, der p-Wert beträgt 0,0923. Bei den T-Lymphozyten ergab die immunhistochemische Untersuchung  $4,4 \pm 5,0/\text{mm}^2$  bei den Virus-positiven Patienten und  $4,1 \pm 3,9/\text{mm}^2$  für die Virus-negativen.  $\text{CD4}^+$ -Zellen waren bei den Virus-

Positiven  $0,7 \pm 1,7/\text{mm}^2$  und bei den Virus-Negativen  $0,5 \pm 1,0/\text{mm}^2$  nachweisbar. Die Virus-positiv-Gruppe hatte  $1,6 \pm 2,8$  CD8<sup>+</sup>-Zellen /mm<sup>2</sup> und die Virus-negativ-Gruppe  $1,2 \pm 2,1$  Zellen /mm<sup>2</sup>. Weder die Anzahl der T-Lymphozyten, noch die der CD4<sup>+</sup>- und CD8<sup>+</sup>-Zellen war statistisch signifikant. Hoch statistisch signifikant ist die Verteilung der HLA Klasse II-Intensität im Myokard. In der Virus-positiv-Gruppe hatten 46 Patienten (37,7%) keine oder geringe HLA II-Intensität (0) und 76 (62,3%) mittelstarke oder starke HLA II-Intensität (1). In der Virus-negativ-Gruppe hatten 52 (63,4%) keine oder geringe (0) und 30 (36,6%) mittelstarke oder starke HLA II-Intensität (1). Der p-Wert beträgt 0,0003. Die Kriterien der Inflammation erfüllten 29,2% der Virus-positiven und 42,4% der Virus-negativen Patienten. Der Unterschied ist signifikant mit einem p-Wert von 0,0456 (siehe Tab. 7).

Tab. 7: Histologische und immunhistochemische Daten der Virus-positiven und Virus-negativen Patienten

	Virus-positiv	Virus-negativ	p-Wert
Myozyten ( $\mu\text{m}$ )	$26,9 \pm 6,0$	$28,4 \pm 4,9$	0,0333
Fibrose (%)	$4,6 \pm 5,8$	$4,8 \pm 8,3$	0,825
Makrophagen (/mm <sup>2</sup> )	$7,2 \pm 8,2$	$9,0 \pm 7,3$	0,0923
T-Lymph. (/mm <sup>2</sup> )	$4,4 \pm 5,0$	$4,1 \pm 3,9$	0,690
CD4 <sup>+</sup> (/mm <sup>2</sup> )	$0,7 \pm 1,7$	$0,5 \pm 1,0$	0,364
CD8 <sup>+</sup> (/mm <sup>2</sup> )	$1,6 \pm 2,8$	$1,2 \pm 2,1$	0,250
HLA Klasse II (0/1)* n (%)	46 (37,7) / 76 (62,3)	52 (63,4) / 30 (36,6)	0,0003
Inflammation n (%) ≥14 vs. <14/mm <sup>2</sup>	35 (29,2)	52 (42,4)	0,0456

\* 0= keine oder geringe HLA-Intensität / 1= mittelstarke oder starke HLA-Intensität

### 5.5.3 Vergleich zwischen Enterovirus-positiven und Enterovirus-negativen Patienten

Im gesamten Biopsiezeitraum von 1997 bis 2007 wurden von 293 Patienten 63 (21,5%) EV-positiv getestet. Von diesen 63 Patienten wurden 55 im Zeitraum 1997 bis 2002 diagnostiziert, 34,6% der gesamt in dem Zeitraum biopsierten Patienten, und 8 im Zeitraum 2003 bis 2007, 6,0% der in diesem Zeitintervall biopsierten Patienten.

Die Echokardiographie zum Biopsiezeitpunkt ergab für die EV-positiv-Gruppe eine EF von  $29,3 \pm 10,8\%$  und für die EV-negativ-Gruppe  $32,0 \pm 12,2\%$  ohne statistisch signifikanten Unterschied (p: 0,0890). Auch der LVEDD ist nicht signifikant (p: 0,302) mit  $65,5 \pm 8,7\text{mm}$  bei den EV-positiven und  $64,2 \pm 8,4\text{mm}$  bei den EV-negativen Patienten. Die Zeit nach der die

Kontroll-Echokardiographie durchgeführt wurde ist hoch statistisch signifikant länger bei den EV-positiven Patienten mit  $71,1 \pm 41,8$  Monaten gegen  $48,2 \pm 34,5$  Monaten in der EV-negativ-Gruppe ( $p: 0,0004$ ). Die Kontroll-EF war mit  $41,9 \pm 13,6\%$  in der EV-positiv-Gruppe und  $42,6 \pm 13,8\%$  in der EV-negativ-Gruppe nicht signifikant unterschiedlich ( $p: 0,714$ ) ebenso wie der Kontroll-LVEDD ( $p: 0,132$ ) mit  $61,3 \pm 10,1$ mm für die EV-positiven und  $59,0 \pm 9,0$ mm für die EV-negativen Patienten.

Tab. 8: Vergleich zwischen den Patienten mit positiven Enterovirusnachweis und den Enterovirus-negativen Patienten

	EV pos. n=63	EV neg. n=230	p-Wert
Echo-EF (%)	$29,3 \pm 10,8$	$32,0 \pm 12,2$	0,0890
LVEDD (mm)	$65,5 \pm 8,7$	$64,2 \pm 8,4$	0,302
Kontrolle (Monate)	$71,1 \pm 41,8$	$48,2 \pm 34,5$	0,0004
Kontroll-EF (%)	$41,9 \pm 13,6$	$42,6 \pm 13,8$	0,714
Kontroll-LVEDD (mm)	$61,3 \pm 10,1$	$59,0 \pm 9,0$	0,132
Delta-EF (%)	$12,6 \pm 15,4$	$11,1 \pm 16,0$	0,546
Delta-LVEDD (mm)	$-4,5 \pm 7,9$	$-5,6 \pm 8,3$	0,380
Inflammation n (%) ( $\geq 14$ Zellen/ $< 14$ Zellen)	10 (19,2) / 42 (80,8)	65 (33,2) / 131 (66,8)	0,0445
HLA Klasse II (0/1)* n (%)	47 (81,0) / 11 (19,0)	111 (53,9) / 95 (46,1)	0,0422
Endpunkt n (%)	17 von 63 (27,0)	63 von 229 (27,5%)	0,934

\* 0= keine oder geringe HLA-Intensität / 1= mittelstarke oder starke HLA-Intensität

Die Differenz von Kontroll-EF und EF zum Biopsiezeitpunkt ergibt für die EV-positiv-Gruppe  $12,6 \pm 15,4\%$  und für die EV-negativ-Gruppe  $11,1 \pm 16,0\%$  mit einem p-Wert von 0,546. Die Differenz von Kontroll-LVEDD und LVEDD zum Biopsiezeitpunkt liegt bei  $-4,5 \pm 7,9$ mm in der EV-positiv- und bei  $-5,6 \pm 8,3$ mm in der EV-negativ-Gruppe ( $p: 0,380$ ). Inflammation im Myokard mit  $\geq 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe hatten 19,2% der EV-positiven Patienten und 33,2% der EV-negativen Patienten mit statistisch signifikanten Unterschied ( $p$ -Wert: 0,0445). Auch die HLA Klasse II-Expression zeigt einen signifikanten Unterschied mit einem p-Wert von 0,0422 mit 81,0% der EV-positiven Patienten mit keiner oder geringer HLA II-Intensität und 19,0% mit mittelstarker oder starker HLA II-Intensität. In der EV-negativ Gruppe hatten 53,9% der Patienten keine oder geringe HLA II-Intensität und 46,1%

mittelstarke oder starke HLA II-Intensität. Verstorben oder transplantiert wurden in der EV-positiv-Gruppe 17 Patienten (27,0%) und in der EV-negativ Gruppe 63 (27,5%), der Unterschied ist nicht statistisch signifikant mit einem p-Wert von 0,934 (siehe Tab. 8).

In einer Analyse wurden die transplantatfreien Überlebenszeiten zwischen Enterovirus (EV)-positiven und EV-negativen Patienten verglichen. Es konnten 292 Patienten eingeschlossen werden, von denen waren 63 (21,6%) EV-positiv und 229 (78,4%) EV-negativ. In der EV-positiven Gruppe sind 17 Patienten (27,0%) verstorben und 46 (73,0%) blieben ohne Ereignis. In der EV-negativen Gruppe verstarben 63 Patienten (27,5%) und 166 (72,5%) überlebten im Beobachtungszeitraum. Die Überlebenszeiten sind nicht signifikant unterschiedlich mit einem p-Wert von 0,199. Die mediane Überlebenszeit wird für die EV-positiven Patienten auf 291,3 und für die EV-negativen auf 137,5 Monate geschätzt.

## **5.6 Vergleich der Patientengruppe mit $\geq 14$ Zellen mit der Gruppe mit $< 14$ Zellen pro $\text{mm}^2$ Myokardgewebe**

### **5.6.1 Klinische Daten und Virusnachweis**

Die Patienten der Inflammationsgruppe ( $\geq 14$  Zellen) hatten ein durchschnittliches Alter von  $48,2 \pm 12,0$  Jahre und waren zu 75% (60 Personen) männlichen Geschlechts, 25% (20 Personen) waren weiblich. In der  $< 14$  Zellen-Gruppe war das durchschnittliche Alter  $49,0 \pm 12,4$ , 83,4% (151 Personen) waren männlich und 16,6% (30 Personen) waren weiblich. Weder im Alter noch in der Geschlechterverteilung gab es statistisch signifikante Unterschiede. Auch die Zeit vom Symptombeginn bis zur Biopsie mit  $110,1 \pm 239,4$  Tagen in der  $\geq 14$  Zellen-Gruppe und  $97,3 \pm 209,1$  Tagen in der  $< 14$  Zellen-Gruppe war nicht statistisch signifikant unterschiedlich. In der Inflammationsgruppe hatten zum Zeitpunkt der Biopsie 46,9% der Patienten NYHA-Stadium I oder II und 53,1% NYHA-Stadium III oder IV, während in der  $< 14$  Zellen-Gruppe 53,8% mit NYHA I oder II und 46,2% mit NYHA III bis IV vertreten waren. Zum Zeitpunkt der Kontrolluntersuchung hatten in der  $\geq 14$  Zellen-Gruppe 82,2% NYHA I oder II und 17,8% NYHA III oder IV. Die  $< 14$  Zellen-Gruppe teilte sich in 81,4% NYHA I oder II und 18,6% NYHA III oder IV auf. Zu keinem der Zeitpunkte ist das NYHA-Stadium signifikant unterschiedlich mit p-Werten von 0,344 und 0,833. Der BNP-Spiegel betrug bei den Inflammation-Patienten  $400,5 \pm 504,5$  pg/ml und bei den Patienten ohne Inflammation  $605,9 \pm 1117,2$  pg/ml und blieb mit einem p-Wert von 0,207 ohne statistische Signifikanz.

Eine arterielle Hypertonie war in der  $\geq 14$  Zellen-Gruppe bei 31% der Patienten vertreten und in der  $< 14$  Zellen-Gruppe bei 25,7%. Diabetes hatten in beiden Gruppen 16,9% der Patienten. Ein Schenkelblockbild im EKG konnte in der Inflammationsgruppe in 14,9% der Fälle und in der Gruppe ohne Inflammation zu 22,6% der Fälle nachgewiesen werden. Weder für den arteriellen Hypertonus noch für Diabetes und Schenkelblock konnte ein statistisch signifikanter Unterschied ermittelt werden. Im Vergleich der Medikamente-Einnahmen ergibt sich für keines der verglichenen Medikamente ein statistisch signifikanter Unterschied. ACE-Hemmer oder Sartane wurden in der  $\geq 14$  Zellen-Gruppe in 94,1% und in der  $< 14$  Zellen-Gruppe in 90,5% der Fälle eingenommen ( $p: 0,353$ ). Beta-Blocker-Einnahme erfolgte in 88,2% der Fälle von den Patienten mit  $\geq 14$  Zellen und in 87,6% der Fälle von den Patienten mit  $< 14$  Zellen ( $p: 0,888$ ). Die Inflammationsgruppe nahm zu 7,4% und die Gruppe ohne Inflammation zu 13,0% Calcium-Antagonisten ein ( $p: 0,197$ ). Diuretika wurden in 76,5% der Fälle den Inflammationspatienten und in 81,1% der Fälle den Patienten ohne Inflammation verordnet ( $p: 0,431$ ). Ein Glycosid nahmen 26,5% der  $\geq 14$  Zellen-Gruppe und 36,7% der  $< 14$  Zellen-Gruppe ein ( $p$ -Wert: 0,128). Aldosteron-Antagonisten wurden von 41,2% der Inflammationspatienten und von 32,0% der Patienten ohne Inflammation eingenommen ( $p: 0,180$ ). Ein Statin war in 25,8% der Fälle in der  $\geq 14$  Zellen-Gruppe und in 23,1% der Fälle in der  $< 14$  Zellen-Gruppe verschrieben worden ( $p: 0,670$ ).

In der  $\geq 14$  Zellen-Gruppe wurden bei 47,3% der Patienten Viren im Myokard nachgewiesen, während in der  $< 14$  Zellen-Gruppe 61,6% der Patienten Viren im Myokard hatten, dieser Unterschied ist statistisch signifikant mit einem  $p$ -Wert von 0,0456. Histologisch wurde der Durchmesser der Myozyten für die  $\geq 14$ -Zellen-Patienten mit  $28,4 \pm 4,7 \mu\text{m}$  und für die  $< 14$  Zellen-Patienten mit  $27,8 \pm 5,6 \mu\text{m}$  bestimmt, im Vergleich der Werte ergibt sich keine statistische Signifikanz ( $p: 0,417$ ). Der Grad der Fibrose ist mit einem  $p$ -Wert von 0,533 ebenfalls nicht signifikant, die Gruppe mit Inflammation hatte  $4,4 \pm 5,8\%$  und die Gruppe ohne Inflammation hatte  $4,9 \pm 7,3\%$ . Die Expression der HLA Klasse II Moleküle im Myokard verteilt sich in der  $\geq 14$  Zellen-Gruppe auf 31 Patienten (43,1%) mit keiner oder geringer HLA II-Intensität (0) und 41 (56,9%) mit mittlerer oder starker Intensität (1). In der  $< 14$  Zellen-Gruppe hatten 80 Patienten (47,6%) keine oder geringe HLA II-Intensität (0) und 88 (52,4%) mittlere oder starke Intensität (1). Der Vergleich ergibt keine statistische Signifikanz mit einem  $p$ -Wert von 0,515. Um die Rolle der Inflammation genauer differenzieren zu können, wurde die HLA II-Vermehrung noch einmal zwischen der  $\geq 14$  Zellen-Gruppe und der  $\leq 3$

Zellen-Gruppe verglichen. Die Inflammationsgruppe verteilt sich wie oben beschrieben und in der  $\leq 3$  Zellen-Gruppe hatten 16 Patienten (25,4%) keine bis geringe HLA II-Intensität (0) und 47 (74,6%) mittelstarke bis starke HLA II-Intensität (1). Hier ist der Unterschied statistisch signifikant mit einem p-Wert von 0,0305.

Tab. 9: Daten der Patientengruppe mit 14 oder mehr Entzündungszellen pro  $\text{mm}^2$  und der Patientengruppe mit weniger als 14 Zellen pro  $\text{mm}^2$

	$\geq 14$ Zellen n=80	< 14 Zellen n=181	p-Wert
Geschlecht (m/w)	60 / 20	151 / 30	0,117
Alter (Jahre)	48,2 $\pm$ 12,0	49,0 $\pm$ 12,4	0,588
BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	27,8 $\pm$ 5,2	27,0 $\pm$ 4,8	0,252
Zeit Symptombeginn bis Biopsie (Tage)	110, 1 $\pm$ 239,4	97,3 $\pm$ 209,1	0,730
NYHA I+II vs. III+IV (%)	46,9 vs. 53,1	53,8 vs. 46,2	0,344
Kontroll-NYHA I+II vs. III+IV (%)	82,2 vs. 17,8	81,4 vs. 18,6	0,833
BNP (pg/ml)	400,5 $\pm$ 504,5	605,9 $\pm$ 1117,2	0,207
Hypertonie n (%)	22 (31,0)	36 (25,7)	0,420
Diabetes n (%)	12 (16,9)	24 (16,9)	1,000
Schenkelblock n (%)	10 ( 14,9)	28 (22,6)	0,198
Medikamente (%)			
ACE-H./Sartan	94,1	90,5	0,353
Beta-Blocker	88,2	87,6	0,888
Ca-Antag.	7,4	13,0	0,197
Diuretika	76,5	81,1	0,431
Glycosid	26,5	36,7	0,128
Aldosteron-Antag.	41,2	32,0	0,180
Statin	25,8	23,1	0,670
Myocyten ( $\mu\text{m}$ )	28,4 $\pm$ 4,7	27,8 $\pm$ 5,6	0,417
Fibrose (%)	4,4 $\pm$ 5,8	4,9 $\pm$ 7,3	0,533
Virus pos. n (%)	35 (47,3)	85 (61,6)	0,0456
HLA Klasse II (0/1)* n (%)	31 (43,1) / 41 (56,9)	80 (47,6) / 88 (52,4)	0,515
Endpunkt n (%)	19 (23,8)	52 (28,7)	0,387
Tod / Transplantation (%)	84,2 / 15,8	86,5 / 13,5	0,805

\* 0= keine oder geringe HLA-Intensität / 1= mittelstarke oder starke HLA-Intensität

Ein Ereignis hatten von den Patienten mit  $\geq 14$  Zellen 19 (23,8%) und von den Patienten mit  $< 14$  Zellen 52 (28,7%) ohne signifikanten Unterschied mit einem p-Wert von 0,387. Von den Patienten mit Ereignis waren in der Inflammationsgruppe 84,2% verstorben und 15,8% sind transplantiert worden, in der Gruppe ohne Inflammation waren es 86,5% Verstorbene und 13,5% Transplantierte. Auch hier ergibt sich im Vergleich keine statistische Signifikanz mit einem p-Wert von 0,805 (siehe Tab. 9).

### 5.6.2 Überlebensdaueranalysen zur Inflammation

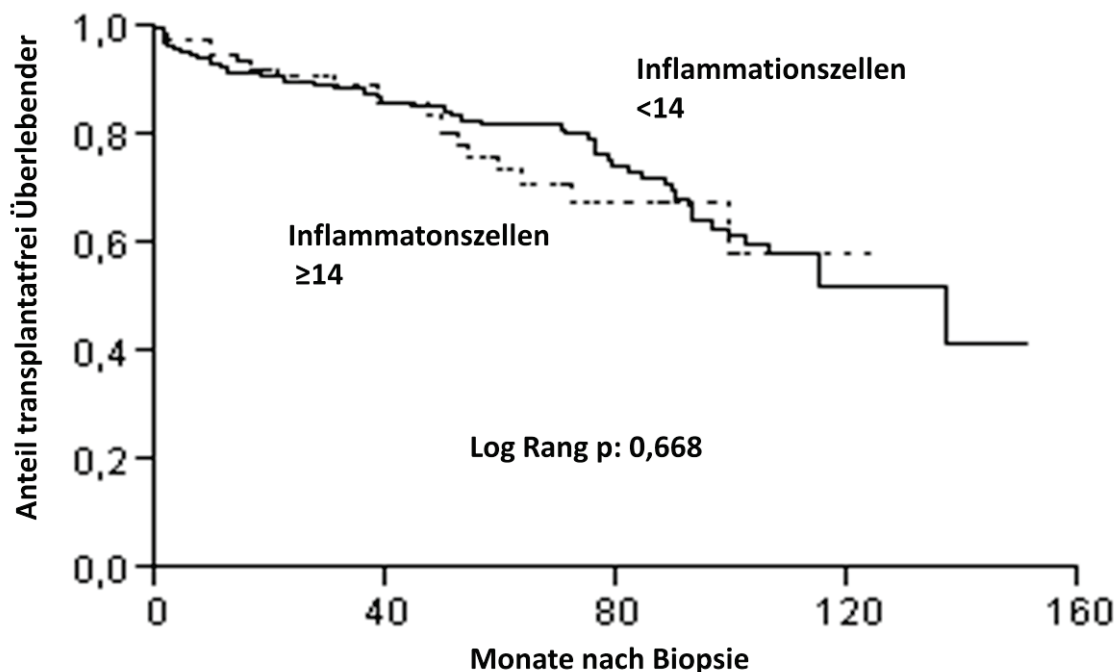


Abb. 6: Vergleich des transplantatfreien Überlebens zwischen den Patienten mit 14 oder mehr Entzündungszellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe und den Patienten mit weniger als 14 Zellen

Mit der Verwendung des für die Diagnose der inflammatorischen Kardiomyopathie festgelegten Grenzwertes von 14 Entzündungszellen pro  $\text{mm}^2$  wurden die Patienten in eine Gruppe mit 14 oder mehr Zellen pro  $\text{mm}^2$  und eine mit weniger als 14 Zellen eingeteilt. Insgesamt wurden 260 Patienten eingeschlossen, 80 (30,8%) haben  $\geq 14$  Zellen, 180 (69,2%) Patienten  $< 14$  Zellen. Verstorben oder transplantiert sind 19 Patienten (23,8%) mit  $\geq 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  und überlebt hatten 61 (76,2%). Von den Patienten mit  $< 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  hatten 52 (28,9%) ein Ereignis und 128 (71,1%) überlebten. Zwischen den Gruppen gibt es keine signifikanten Unterschiede in der transplantatfreien Überlebenszeit, der p-Wert ist

0,668 (siehe Abb. 6). Nach 147,2 Monaten sind 50% der Patienten mit 14 oder mehr Zellen verstorben oder transplantiert, während dies in der <14 Zellen-Gruppe nach 118,4 Monaten der Fall ist.

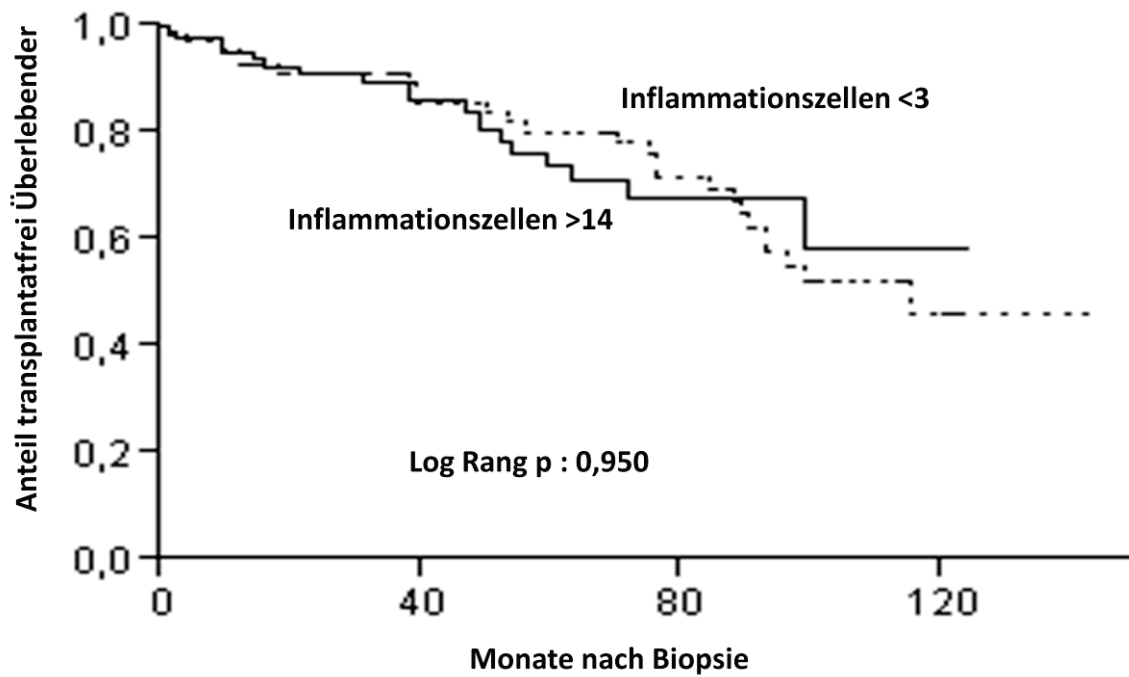


Abb. 7: Vergleich des transplantatfreien Überlebens zwischen den Patienten mit 14 oder mehr Entzündungszellen pro mm<sup>2</sup> Myokardgewebe und den Patienten mit 3 oder weniger Zellen

Um eine genauere Differenzierung der Rolle der Inflammation vornehmen zu können, wurden die Patienten mit 14 oder mehr Entzündungszellen mit denen mit 3 oder weniger Zellen pro mm<sup>2</sup> Myokardgewebe verglichen. Von den insgesamt 147 eingeschlossenen Patienten hatten 80 (54,4%) 14 oder mehr Entzündungszellen pro mm<sup>2</sup> Myokardgewebe und 67 (45,6%) hatten 3 und weniger Zellen pro mm<sup>2</sup>. In der ≥14 Zellen-Gruppe sind 19 (23,8%) verstorben oder transplantiert und 61 (76,2%) blieben ohne Ereignis. Von den Patienten mit ≤3 Zellen pro mm<sup>2</sup> verstarben 25 (37,3%) und 42 (62,7%) blieben ohne Ereignis. Es ist kein statistisch signifikanter Unterschied in der transplantatfreien Lebenszeit, der p-Wert ist 0,950 (siehe Abb. 7). Im Vergleich zu den 147,2 Monaten mediane Überlebenszeit in der Gruppe mit 14 oder mehr Zellen überleben in der Gruppe mit 3 und weniger Zellen 50 % der Patienten 123,0 Monate.



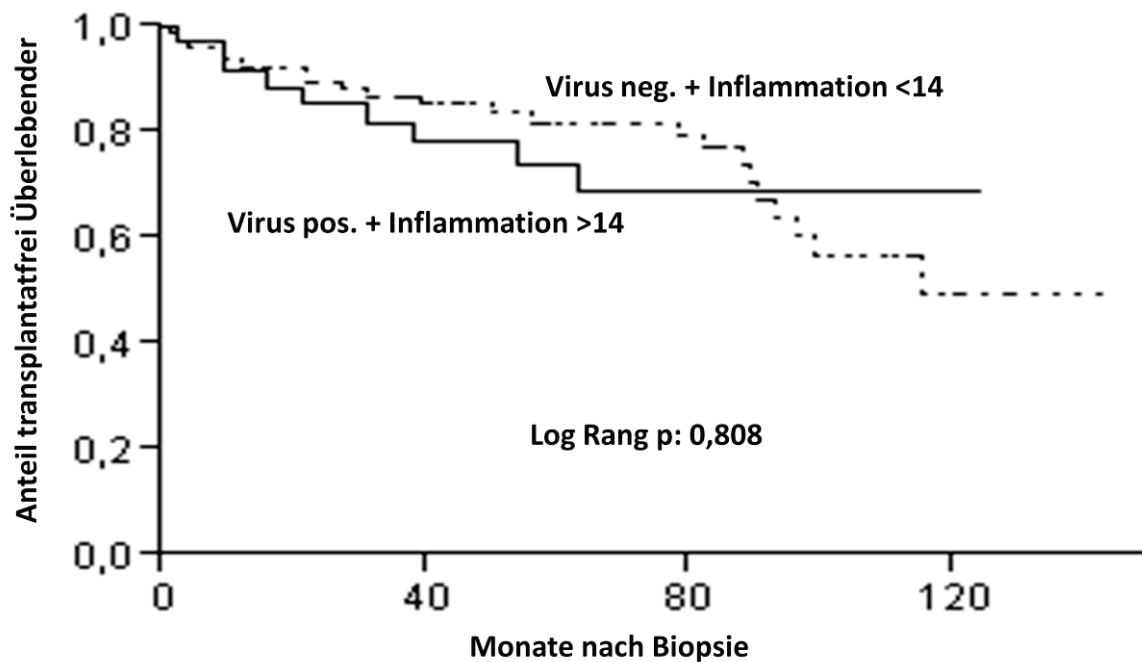


Abb. 8: Vergleich des transplantatfreien Überlebens zwischen den Patienten mit positivem Virusnachweis und 14 und mehr Entzündungszellen pro  $\text{mm}^2$  und den Patienten mit keinem Virusnachweis und weniger als 14 Entzündungszellen

Ein weiterer Vergleich zwischen Patienten mit positivem Virusnachweis und  $\geq 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe und denen mit keinem Virusnachweis und  $< 14$  Zellen schließt 114 Patienten ein. 35 (30,7%) Patienten waren Virus-positiv und hatten  $\geq 14$  Zellen, zur Virus-negativ und  $< 14$  Zellen-Gruppe zählen 79 (69,3%). In der Virus-positiv/ $\geq 14$  Zellen-Gruppe waren 9 Patienten (25,7%) verstorben oder transplantiert und 26 (74,3%) blieben ohne Ereignis. Die Virus-negativ/ $< 14$  Zellen Gruppe teilte sich in 22 (27,8%) mit Ereignis und 57 (72,2%) Überlebende auf. Der Vergleich der transplantatfreien Überlebenszeiten ergibt einen p-Wert 0,808 und zeigt keine statistische Signifikanz (siehe Abb. 8). Die medianen Überlebenszeiten wurden für die Virus positiv und  $\geq 14$  Zellen-Gruppe auf 181,4 Monate und für die Virus negativ und  $< 14$  Zellen-Gruppe auf 162,9 Monate geschätzt.

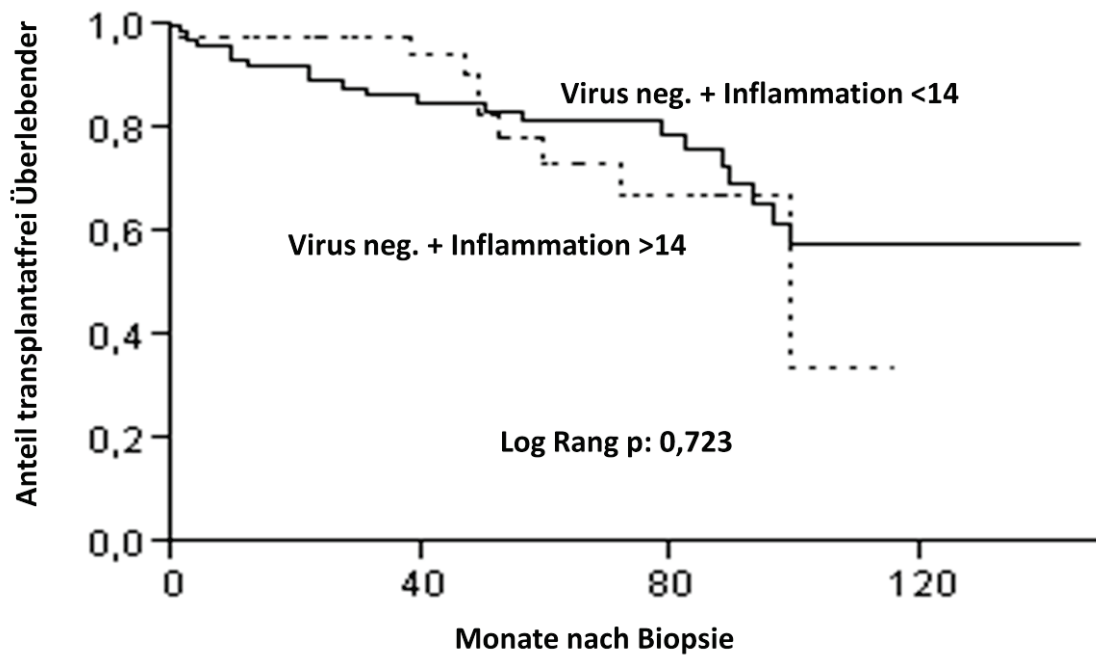


Abb. 9: Vergleich des transplantatfreien Überlebens zwischen den Patienten mit negativem Virusnachweis nach 14 oder mehr Entzündungszellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe und Patienten mit negativem Virusnachweis und weniger als 14 Zellen

Um die Rolle der Inflammation mit möglicherweise autoimmunen Hintergründen genauer zu betrachten, wurde die transplantatfreie Überlebenszeit von Patienten mit negativem Virusnachweis und  $\geq 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe mit denen mit negativem Virusnachweis und  $< 14$  Zellen verglichen. Von den insgesamt 119 Patienten sind 42 (35,3%) Virus-negativ und hatten  $\geq 14$  Zellen, 77 (64,7%) waren Virus-negativ und hatten  $< 14$  Zellen. In der Virus-negativ/ $\geq 14$  Zellen-Gruppe hatten 9 (21,4%) ein Ereignis und 33 (78,6%) überlebten. In der Virus-negativ/ $< 14$  Zellen-Gruppe waren 20 (26,0%) verstorben oder transplantiert und 57 (74,0%) hatten kein Ereignis. Mit einem p-Wert von 0,723 ist kein signifikanter Unterschied nachweisbar (siehe Abb. 9). 50% der Patienten mit keinem Virusnachweis und  $\geq 14$  Zellen überleben 117,7 Monate und 50% der Patienten ohne Virusnachweis und weniger als 14 Zellen überleben ca. 185,4 Monate.

Für die Überlebensanalyse nach der HLA Klasse II-Intensität konnten 274 Patienten eingeschlossen werden. 112 Patienten (40,9%) hatten keine oder eine geringe HLA Klasse II-Intensität und 162 (59,1%) hatten mittelstarke oder starke HLA II-Intensität. In der Gruppe mit keiner oder geringer HLA II-Intensität sind 23 Patienten (20,5%) verstorben oder transplantiert und 89 (79,5%) hatten überlebt. Mit mittelstarker oder starker HLA II-Intensität starben 53 Patienten (32,7%) und 109 (67,3%) hatten kein Ereignis. Die mediane

Überlebenszeit ergab keinen signifikanten Unterschied mit einem p von 0,775 und beträgt für die Patienten mit keiner oder geringer HLA II-Intensität 201,2 Monate und für die Patienten mit mittlerer oder starker HLA II-Intensität 145,3 Monate ohne signifikanten Unterschied mit einem p-Wert von 0,775. In einer weiteren Analyse wurden die transplantatfreien Überlebenszeiten zwischen den Patienten mit HLA II-Intensität 1 und Entzündungszellen  $\geq 14$  pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe und den Patienten mit HLA II-Intensität 0 und  $< 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  verglichen. Mit einem p-Wert von 0,919 ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Die mediane Überlebenszeit wurde für die HLA II-1 und  $\geq 14$  Zellen-Gruppe auf 163,6 und für die HLA II-0 und  $< 14$  Zellen-Gruppe auf 232,4 Monate geschätzt. Auch im Vergleich zwischen den Patienten mit HLA II-Intensität 1 und  $\geq 14$  Zellen und den Patienten mit HLA II-Intensität 0 und  $\leq 3$  Zellen ergab die transplantatfreie Überlebenszeit keinen signifikanten Unterschied mit einem p-Wert von 0,981. Die medianen Überlebenszeiten wurden auf 163,6 Monate in der HLA II-1 und  $\geq 14$  Zellen-Gruppe und 108,9 Monate in der HLA II-0 und  $\leq 3$  Zellen-Gruppe geschätzt. Mit Hinzunahme der Viruslast und Einteilung in eine HLA II-Intensität 1,  $\geq 14$  Zellen und Virus-positiv-Gruppe und eine HLA II-Intensität 0,  $< 14$  Zellen und Virus-negativ-Gruppe ist mit einem p-Wert von 0,797 ebenfalls kein signifikanter Unterschied in der transplantatfreien Überlebenszeit nachweisbar. Die medianen Überlebenszeiten wurden für die erste Gruppe auf 223,8 und für die zweite Gruppe auf 208,1 Monate geschätzt.

### 5.6.3 Echokardiographische Daten

Tab. 10: Echokardiographische Daten der Patienten mit  $\geq 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe und der Patienten mit  $< 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$

	$\geq 14$ Zellen	$< 14$ Zellen	p-Wert
Echo-EF (%)	34,2 $\pm$ 11,4	30,6 $\pm$ 12,5	0,0252
LVEDD (mm)	61,4 $\pm$ 8,0	64,9 $\pm$ 8,4	0,0029
Kontroll-Echo (Monate)	44,8 $\pm$ 28,6	56,6 $\pm$ 36,9	0,0153
Kontroll-EF (%)	42,1 $\pm$ 14,3	44,0 $\pm$ 13,7	0,380
Kontroll-LVEDD (mm)	57,3 $\pm$ 8,8	59,3 $\pm$ 9,3	0,167
Delta-EF (%)	7,9 $\pm$ 14,3	14,0 $\pm$ 16,1	0,0092
Delta-LVEDD (mm)	-3,9 $\pm$ 8,6	-5,8 $\pm$ 8,4	0,182

Die zum Zeitpunkt der Biopsie vorgenommene Echokardiographie ergab für die Patienten mit  $\geq 14$  Zellen eine EF von  $34,2 \pm 11,4\%$  und für die Patienten mit  $< 14$  Zellen  $30,6 \pm 12,5\%$ . Der Unterschied ist statistisch signifikant mit einem p-Wert von 0,0252. Auch der LVEDD ist signifikant unterschiedlich (p: 0,0029) mit  $61,4 \pm 8,0\text{mm}$  in der Inflammationsgruppe und  $64,9 \pm 8,4\text{mm}$  in der Gruppe ohne Inflammation (siehe Tab. 10 und Abb. 10).

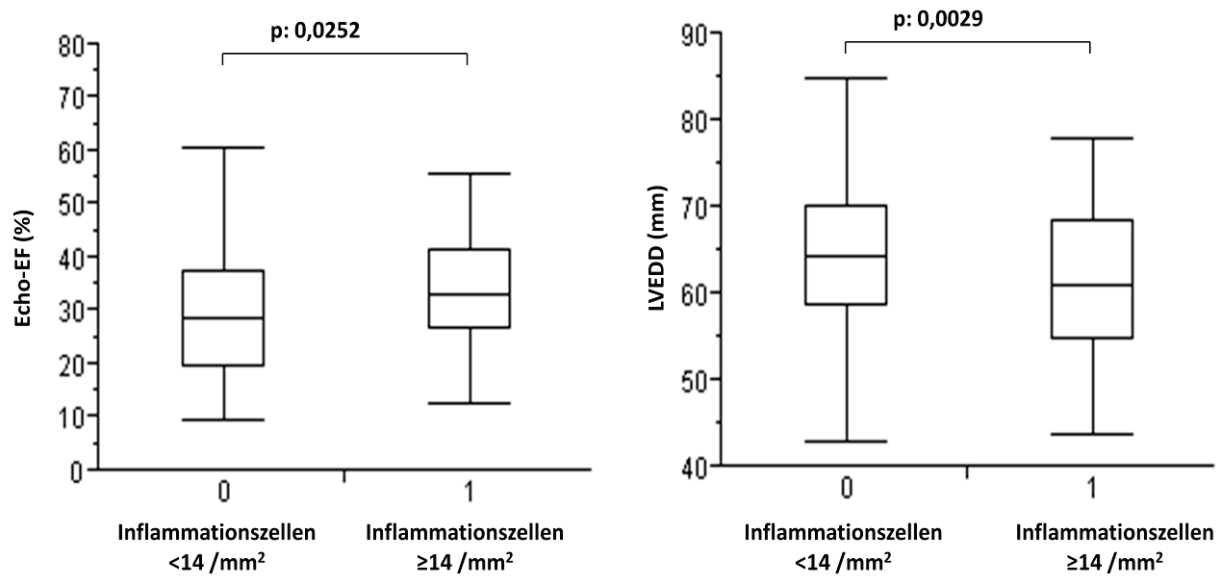


Abb. 10: Vergleich der Ejektionsfraktion und LVEDD zwischen den Patienten mit 14 oder mehr Entzündungszellen pro  $\text{mm}^2$  und den Patienten mit weniger als 14 Zellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe zum Zeitpunkt der EMB

Die echokardiographische Kontrolle erfolgte in der  $\ge 14$  Zellen-Gruppe nach  $44,8 \pm 28,6$  Monaten und in der  $< 14$  Zellen-Gruppe nach  $56,6 \pm 36,9$  Monaten. Der p-Wert beträgt 0,0153 mit signifikant längerer Kontrollzeit in der Gruppe mit  $< 14$  Zellen. Die Kontroll-EF betrug in der Inflammationsgruppe  $42,1 \pm 14,3\%$  und in der Gruppe ohne Inflammation  $44,0 \pm 13,7\%$  ohne signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen (p-Wert: 0,380). Auch der Kontroll-LVEDD ist nicht signifikant unterschiedlich (p: 0,167) mit  $57,3 \pm 8,8\text{mm}$  bei den Patienten mit  $\ge 14$  Zellen und  $59,3 \pm 9,3\text{mm}$  bei den Patienten mit  $< 14$  Zellen (siehe Tab. 10 und Abb. 11).

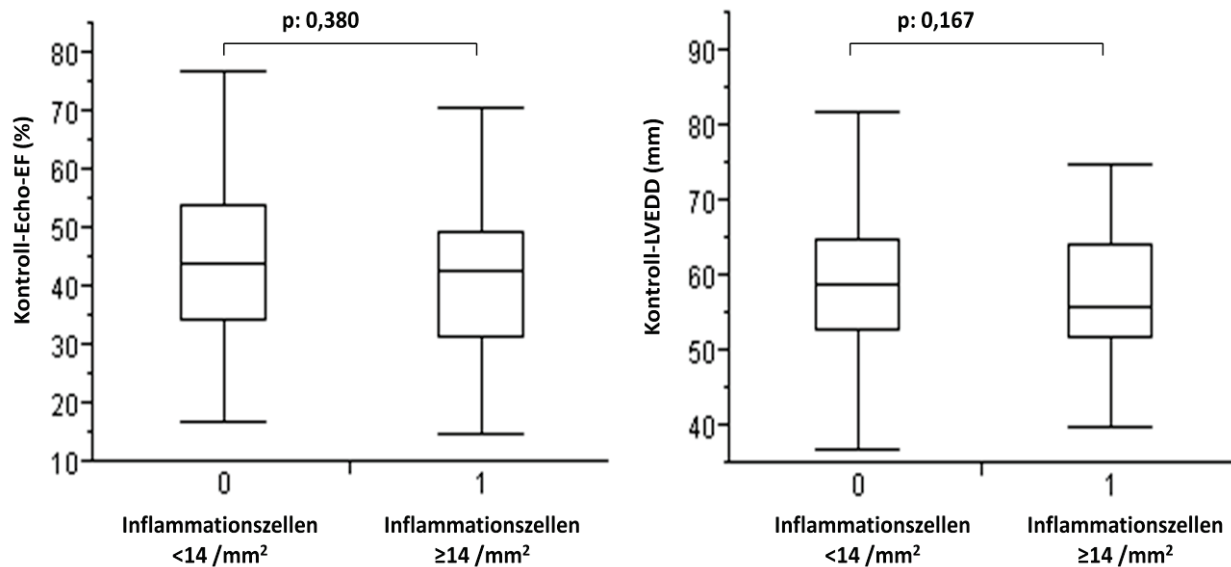


Abb.11: Vergleich der Kontroll-EF und des Kontroll-LVEDD zwischen den Patienten mit  $\geq 14$  Entzündungszellen pro  $\text{mm}^2$  und den Patienten mit weniger als 14 Zellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe

Die Differenz von Kontroll-EF und EF zum Biopsiezeitpunkt ergab für die Patienten mit  $\geq 14$  Zellen eine Verbesserung von  $7,9 \pm 14,3\%$  und für die Patienten mit  $< 14$  Zellen eine Verbesserung von  $14,0 \pm 16,1\%$ . Der Unterschied ist statistisch signifikant mit einem p-Wert von 0,0092. In der  $\geq 14$  Zellen-Gruppe ist die Differenz von Kontroll-LVEDD und LVEDD zum Biopsiezeitpunkt mit  $-3,9 \pm 8,6\text{mm}$  und in der  $< 14$  Zellen-Gruppe mit  $-5,8 \pm 8,4\text{mm}$  nicht signifikant unterschiedlich (siehe Tab. 10 und Abb. 12).

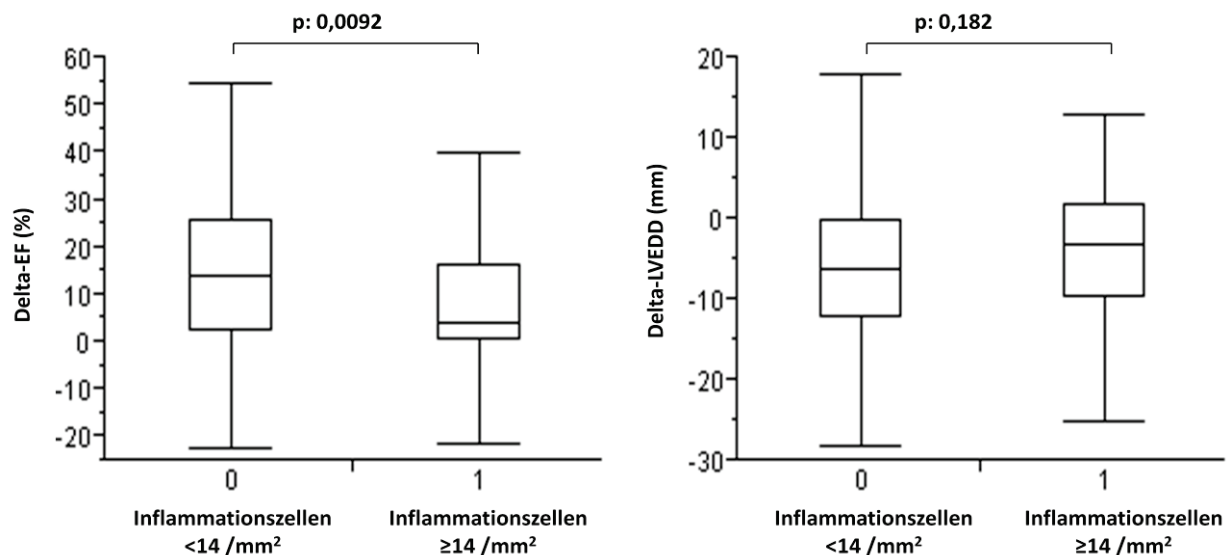


Abb. 12: Vergleich der Veränderung der EF und LVEDD ( $\Delta$ EF und  $\Delta$ LVEDD) über den Beobachtungszeitraum zwischen den Patienten mit  $\geq 14$  Entzündungszellen pro  $\text{mm}^2$  und den Patienten mit weniger als 14 Zellen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe

## 5.7 Analyse nach transplantatfreiem Überleben der Patienten mit Beta-Blocker-Einnahme

### 5.7.1 Univariate Analyse

Um einen systematischen Fehler durch die Einnahme von Beta-Blockern ausschließen zu können, wurden für eine weitere Analyse nur die 245 Patienten eingeschlossen, die einen Beta-Blocker einnahmen. Von diesen blieben 193 ohne Ereignis und 52 verstarben oder wurden transplantiert. Das Alter ist im Gegensatz zum Gesamtpatientenkollektiv nicht mehr signifikant ( $p: 0,223$ ). Die Überlebenden-Gruppe war zum Biopsiezeitpunkt  $48,1 \pm 11,7$  Jahre und die Tod/HTX-Gruppe  $49,5 \pm 11,9$  Jahre alt. Im Geschlecht ( $p: 0,224$ ) und BMI ( $p: 0,363$ ) gibt es keine signifikanten Unterschiede. Wie im Gesamtkollektiv hat auch unter Beta-Blocker-Einnahme das NYHA-Stadium einen signifikanten Einfluss auf das Überleben ( $p: 0,0199$ ). In der Überlebenden-Gruppe hatten 96 (53,3%) Patienten NYHA I/II und 84 (46,7%) NYHA III/IV. In der Tod/HTX-Gruppe hatten nur 21 (42,9%) NYHA I/II und 28 (57,1%) NYHA III/IV. Im Gegensatz zum Gesamtkollektiv zeigt sich im BNP-Spiegel kein Unterschied mit einem  $p$ -Wert von 0,220. Hypertonie ( $p: 0,312$ ), Diabetes mellitus ( $p: 0,702$ ) und ein Schenkelblock im EKG ( $p: 0,666$ ) sind auch unter Beta-Blockern ohne signifikante Unterschiede zwischen den Gruppen.

Tab. 11: Univariate Analyse nach Überleben und Verstorben/Transplantiert von den Patienten mit Betablocker-Einnahme

	Überlebend n=193	Tod/HTX n=52	p-Wert
Alter (Jahre)	48,1 ± 11,7	49,5 ± 11,9	0,223
Geschlecht (m/w)	150 / 43	46 / 6	0,224
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,1 ± 4,6	27,9 ± 5,5	0,363
NYHA I/II vs. III/IV n/(%)	96 (53,3) vs. 84 (46,7)	21 (42,9) vs. 28 (57,1)	0,0199
BNP (pg/ml)	529,6 ± 1004,7	543,5 ± 532,5	0,220
Hypertonie n/(%)	39 (25,0)	5 (16,7)	0,312
Diabetes n/(%)	24 (15,3)	5 (16,1)	0,702
Schenkelblock n/(%)	28 (19,7)	7 (25,0)	0,666
Medikamente (%)			
ACE-Hemmer	91,7	94,2	0,408
Ca-Antag.	8,8	5,8	0,152
Diuretika	79,3	94,2	0,0020
Glycosid	30,6	55,8	0,0162
Aldosteron-Antag.	32,6	42,3	0,374
Statin	27,9	11,9	0,0040
Echo-EF (%)	32,8 ± 12,6	27,8 ± 9,7	0,0085
LVEDD (mm)	63,6 ± 8,4	66,8 ± 7,7	0,0625
Virus pos. n/(%)	88 (56,1)	22 (71,0)	0,434
Inflammation n/(%)			
≥14 vs. <14	51 (31,5) vs. 111 (68,5)	9 (20,0) vs. 36 (80,0)	0,732
≥14 vs. ≤3	51 (61,5) vs. 32 (38,6)	9 (34,6) vs. 17 (65,4)	0,368
Myozytendurchmesser (µm)	27,3 ± 5,7	27,7 ± 6,1	0,420
Fibrose (%)	4,6 ± 7,2	4,8 ± 4,8	0,772
Makrophagen (/mm <sup>2</sup> )	7,6 ± 7,8	6,9 ± 10,4	0,257
T-Lymphozyten (/mm <sup>2</sup> )	4,4 ± 4,6	3,1 ± 5,0	0,327
CD4 <sup>+</sup> (/mm <sup>2</sup> )	0,6 ± 1,3	0,6 ± 2,0	0,746
CD8 <sup>+</sup> (/mm <sup>2</sup> )	1,4 ± 2,4	1,3 ± 3,0	0,919
HLA Klasse II (0/1)* n/(%)	77 (45,3) / 93 (54,7)	12 (24,5) / 37 (75,5)	0,395

\*0=keine oder geringe HLA-Intensität, 1=mittelstarke oder starke HLA-Intensität

Bei der Medikamenteneinnahme zeigte sich keine Unterschiede in der ACE-Hemmer/Sartan- (p: 0,408) und der Calcium-Antagonisten-Einnahme (p: 0,152). Wie im Gesamtkollektiv ist

auch hier die Einnahme von Diuretika (p: 0,0020) und Glycosiden (p: 0,0162) mit einer signifikant höheren Wahrscheinlichkeit für ein Ereignis verbunden, was sich durch die Gabe dieser Medikamente in fortgeschrittenen Krankheitsstadien erklärt. Aldosteron-Antagonisten ergaben keinen Unterschied (p: 0,374). Die Einnahme von Statinen ergibt wie auch im Gesamtkollektiv einen Überlebensvorteil mit einem p-Wert von 0,0040.

Die echokardiographisch gemessene EF war in der Überlebenden-Gruppe signifikant besser mit  $32,8 \pm 12,6\%$  gegen  $27,9 \pm 9,7\%$  in der Tod/HTX-Gruppe (p: 0,0085). Der LVEDD betrug bei den Überlebenden  $63,6 \pm 8,4\text{mm}$  und bei den Verstorbenen/Transplantierten  $66,8 \pm 7,7\text{mm}$  ohne signifikanten Unterschied (p: 0,0625). Der Virusnachweis (p: 0,434) und die Inflammation im Myokard mit  $\geq 14 / < 14$  Zellen/ $\text{mm}^2$  (p: 0,732) und  $\geq 14 / \leq 3$  Zellen (p: 0,368) zeigt auch unter Beta-Blocker-Einnahme keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen. Bei Vergleich der immunhistochemischen Parameter ergeben sich ähnliche Ergebnisse wie im Gesamtkollektiv (siehe Tab. 11). Auch die HLA Klasse II-Intensität ist nicht signifikant unterschiedlich (p: 0,395).

### 5.7.2 Multivariate Analyse

In die multivariate Analyse konnten 143 Patienten eingeschlossen werden, von diesen blieben 119 (83,2%) ohne Ereignis und 24 (16,8%) verstarben oder wurden transplantiert. In das Modell wurden die Faktoren Alter, NYHA-Stadium I/II vs. III/IV, die echokardiographische EF, die Viruslast, die Inflammation mit  $\geq 14 / < 14$  Zellen / $\text{mm}^2$  Myokardgewebe und die HLA Klasse II-Intensität klassifiziert mit 0 als keine oder geringe und 1 als mittelstarke oder starke HLA-Intensität einbezogen. Keiner der Parameter ergab einen statistisch signifikanten Einfluss auf die transplantatfreie Überlebenszeit (siehe Tab. 12).

Tab. 12: Multivariate Analyse nach dem transplantatfreien Überleben von den Patienten mit Beta-Blocker-Einnahme

	p-Wert
Alter	0,844
NYHA I/II vs. III/IV	0,212
Echo-EF	0,245
Virus (pos./neg.)	0,621
Inflammation ( $\geq 14 / < 14$ Zellen / $\text{mm}^2$ )	0,965
HLA Klasse II (0/1)*	0,917

\*0=keine oder geringe HLA-Intensität, 1=mittelstarke oder starke HLA-Intensität



### 5.8 Vergleich von Virusgenomnachweis und Inflammation in den Erkrankungsgruppen

Die Patienten mit Normalbefund hatten zu 76,9% einen positiven Virusnachweis ohne Nachweis einer Entzündung im Myokard. Der Virusnachweis in der DCM-Gruppe erfolgte in 55,7% der Fälle und 29,5% erfüllten die Kriterien für Inflammation. In der Gruppe der akuten Myokarditiden wurden bei 62,8% der Patienten Viren nachgewiesen und bei 62,2% Inflammation. Die Abweichung zum erwarteten 100% Inflammationsnachweis erklärt sich durch Einteilung der ausgeheilten akuten Myokarditiden in diese Gruppe. Die HCM-Patienten hatten zu 35,0% Viren und zu 21,4% Inflammation im Myokard. In der Amyloidose-Gruppe war der Virusnachweis in 62,5% der Fälle positiv und der Inflammationsnachweis erfolgte in 33,3% der Fälle. Die herztransplantierten Patienten hatten in 40% der Fälle Viren und/oder Inflammation im Myokard. In der Gruppe der Churg-Strauss-Syndrom- und Lupus erythematodes-Patienten waren 50% Virus positiv und 71,4% erfüllten die Kriterien für Inflammation. Bei den Speichererkrankungen und der TCM sind die Patientenzahlen niedrig, was die Aussagekraft der Werte vermindert (siehe Tab. 13).

Tab. 13: Vergleich von Virusgenomnachweis und Inflammation zwischen den Erkrankungsgruppen

	Virus positiv (%)	Inflammation positiv (%)
Normalbefund	76,9	0
DCM und chronische Myokarditis	55,7	29,5
Akute Myokarditis	62,8	62,2
HCM	35,0	21,4
Amyloidose	62,5	33,3
HTX	40,0	40,0
CSS und LE	50,0	71,4
Speichererkrankungen	25,0	50,0
TCM	66,7	66,7

## 6. Diskussion

### 6.1 Prädiktoren für das Outcome von Patienten mit DCM

Über die Faktoren, die einen unabhängigen Einfluss auf die Prognose der DCM-Erkrankung haben, sind schon viele Untersuchungen durchgeführt wurden. Ein NYHA-Stadium III oder IV ist mit einer schlechteren Prognose verbunden. Das Risiko zu versterben oder eine Transplantation zu benötigen ist um 3,2 im Stadium III und 6,5 im Stadium IV erhöht gegenüber NYHA-Stadium I. Das Geschlecht zeigte hier keinen Einfluss auf das Überleben im Gegensatz zu anderen Studien, die ein erhöhtes Risiko für das männliche Geschlecht im Mausmodell und bei Patienten nachwies (Harding et al, 2010; McNamara et al, 2011). Die Echo-EF und der LVEDD erwiesen sich ebenfalls als Prädiktoren für das Outcome. Zum Biopsiezeitpunkt hatten die Patienten mit Ereignis im Mittel eine niedrigere EF gegenüber den Überlebenden und der LVEDD zeigte ebenfalls höhere Werte. Auch in der multivariaten Analyse blieb die Echo-EF als unabhängiger Faktor signifikant. Die Schwere der Funktionseinschränkung und Dilatation zum Diagnosezeitpunkt kann als Anhaltspunkt für den weiteren Verlauf der Erkrankung genommen werden. Dies wurde auch in anderen Studien belegt. McNamara et al zeigten in der IMAC-2-Studie (Intervention in Myocarditis and Acute Cardiomyopathy), dass ein geringerer LVEDD mit einer besseren EF nach 6 Monaten verbunden war (McNamara et al, 2011) Für den LVEDD wurde ein Cut-off-Wert von 64mm als prognostisch relevant betrachtet, was sich mit den Ergebnissen dieser Arbeit deckt (Bielecka-Dabrowa et al, 2008). Auch für Patienten mit Myokarditis ist die initiale Echo-EF und LVEDD ein unabhängiger Prädiktor für eine mögliche Progression der Erkrankung, Tod und Transplantation (Kindermann et al, 2008).

Die Einnahme von Beta-Blockern zeigte einen Überlebensvorteil. Es nahmen hochsignifikant mehr Patienten der Überlebenden-Gruppe Beta-Blocker ein gegenüber der Gruppe der Verstorbenen oder Transplantierten. Auch die Überlebensdauer war für die Beta-Blocker positiven Patienten signifikant länger. Schon bei akut einsetzender DCM oder Myokarditis mit Symptomen einer Herzinsuffizienz verbessert ein Beta-Blocker die ventrikuläre Funktion, reduziert die Hospitalisierungsrate und verbessert das Überleben (Kindermann et al, 2012). Im Jahr 2008 wurde in einer Studie von Kindermann et al die Einnahme von Beta-Blockern als Prädiktor für verbessertes transplantationsfreies Überleben nachgewiesen. In der Marburger Cardiomyopathy Study ergaben eine niedrige Echo-EF und eine fehlende Beta-

Blocker-Therapie ein erhöhtes Risiko für Arrhythmien (Grimm et al, 2003). Für den positiven Effekt der Beta-Blocker ist keine exzessive Sympatikusaktivierung nötig, der positive Effekt bleibt auch bei der verminderten Expression der Beta-Rezeptoren im chronisch insuffizienten Herzen bestehen (Negila et al, 2002). Um den Einfluss der Beta-Blocker-Einnahme auf die Ergebnisse der Analyse für das transplantationsfreien Überleben zu untersuchen und die Patienten auszuschließen, die auf Grund der Schwere ihrer Herzinsuffizienz keinen Beta-Blocker mehr vertrugen, wurden für eine weitere Analyse nur die Patienten mit Beta-Blocker-Einnahme eingeschlossen. Die Ergebnisse zeigten keine nennenswerten Unterschiede zur Gesamtanalyse. Das NYHA-Stadium, die Echo-EF und der LVEDD blieben auch unter Beta-Blocker-Einnahme ein Prädiktor für Tod oder Transplantation.

Die signifikant häufiger durchgeführte Therapie mit Diuretika und Glycosiden in der Gruppe der Verstorbenen oder Transplantierten erklärt sich aus dem Einsatz der Medikamente in höheren Krankheitsstadien, ergo in höheren NYHA-Stadien. Die Daten belegen eine signifikante Korrelation der NYHA-Stadien III und IV und der Echo-EF mit der Einnahme von Diuretika und Glycosiden. Als laborchemische Marker wurde in dieser Arbeit der BNP-Spiegel untersucht. Hier ergab sich ein signifikant höherer BNP-Spiegel bei den Patienten mit Ereignis. Höhere BNP-Spiegel sind signifikant verknüpft mit NYHA-Stadium III/IV und einer schlechteren Echo-EF. Somit eignet sich das BNP zur Objektivierung des Schweregrades der Herzinsuffizienz und zum Einschätzen der Prognose der DCM-Patienten in der Kombination mit den anderen Prädiktoren.

## **6.2 Bedeutung von Viren im Myokard für Verlauf und Prognose der DCM**

### **6.2.1 Prävalenz von Virusgenom in der EMB**

In einer Untersuchung zur Prävalenz von Virusgenom im Myokard von Kühl et al 2008 wurden in 67,4% der Fälle Viren nachgewiesen. Davon waren 51,4% Parvovirus B19, 9,4% Enteroviren und 2% Adenoviren nachweisbar, zusätzlich wurde in 21,6% der Fälle HHV 6 in der EMB entdeckt (Kühl et al, 2005,1). In einer weiteren Untersuchung ergab sich die Virenverteilung wie folgt: 48,8% PVB19, 32,6% Enteroviren 10,5% HHV 6 und 8,1% Adenoviren (Kühl et al, 2005,2). Im Marburger PCR Register wurde eine Häufigkeit von 8% für Coxsackievirus A und B und von 6% für Adenoviren im DCM-Patientenkollektiv registriert. Die Häufigkeit von PVB19 wird auf 30 bis zu 67% geschätzt (Maisch et al, 2005). Die

Ergebnisse dieser Arbeit können die vorhergehenden Untersuchungen bestätigen, denn es ergaben sich für die Häufigkeiten der Virusgenomnachweise ähnliche Werte. Im Marburger PCR Biopsieregister konnte Veränderung der Häufigkeiten von EV und AV als Führende in den 1980er und 90er Jahren zu gegenwärtig PVB19 und HHV 6 gezeigt werden. Der Rückgang der EV-Genomnachweise konnte auch in dieser Arbeit nachvollzogen werden.

### **6.2.2 Einfluss der Viren auf das Outcome der DCM-Patienten**

Zum Einfluss des Nachweises von Virusgenom im Myokard bei Myokarditis und DCM gibt es sehr unterschiedliche Ergebnisse. In einer Studie von Kühl et al wurde die Veränderung der Echo-EF nach Viruselimination oder -persistenz untersucht. Das Ergebnis zeigte unabhängig von der Art des nachgewiesenen Virusgenoms signifikante Verbesserung der Echo-EF nach spontaner Viruselimination, während die Patienten mit Viruspersistenz in der Kontrolle eine schlechtere Echo-EF vorwiesen. Dieses Ergebnis wurde mit einer virusinduzierten Progression der Erkrankung über direkte zytopathogene Effekte, entzündungsfördernde Zytokinausschüttung, Veränderungen der extrazellulären Matrix und resultierend chronischen Inflammation des Myokards erklärt (Kühl et al, 2005,2). Why et al fanden in einer Untersuchung ein signifikant schlechteres Outcome für Patienten mit Myokarditis oder DCM und einem positiven EV-Nachweis im Myokard. Die Präsenz von EV wurde als unabhängiger Prädiktor für ein schlechtere Prognose für Tod und Transplantation angenommen (Why et al, 1994). Selbst der idiopathischen DCM wird eine Virusinfektion als Ursache zu Grunde gelegt. Der verursachte Schaden durch die initiale Virusinfektion soll auch nach Elimination des Virus zu fortschreitenden Strukturveränderungen und letztendlich zu kardialen Dysfunktion und Dilatation führen (Kühl et al, 2005,1).

Im Gegensatz gibt es Studienergebnisse, die keine oder sogar eine positive Assoziation von Virusgenom im Myokard zur Prognose von Patienten mit Myokarditis oder DCM festgestellt haben. Figulla et al verglichen EV-positive und EV-negative DCM-Patienten und zeigten eine signifikant bessere transplantationsfreie Überlebenszeit für die Patienten mit EV im Myokard. Die EV-positiven Patienten mit Verschlechterung der linksventrikulären Funktion zeigten unter Interferon  $\alpha$  wiederum eine Verbesserung. Es wurde die EV-positive DCM als eigenes Krankheitsbild mit besserer Prognose als die idiopathische DCM dargestellt (Figulla et al, 1995). Kütke et al fanden keinen Einfluss des positiven EV-Nachweises auf die linksventrikuläre Dysfunktion oder das transplantationsfreie Überleben. Um zwischen Latenz

und Replikation unterscheiden zu können, wurde hier die Minus Strang-RNA als Marker für die aktive Replikation nachgewiesen. Doch auch bei aktiver Replikation blieb die Verbesserung der linksventrikulären Funktion vergleichbar mit der der Virus-negativen Patienten (Küthe et al, 2007). Kindermann et al fanden in ihrer Studie keinen Einfluss von positiven Virusnachweis auf das transplantationsfreie Überleben von Patienten mit Myokarditis. Bei Patienten ohne myokardiale Inflammation wurde eine latente Genompersistenz im Myokard ohne Replikation angenommen. Auch bei den Patienten mit immunhistochemischen Zeichen der Inflammation war kein Unterschied im Überleben zwischen Virus-Positiven und Virus-Negativen zu erkennen (Kindermann et al, 2008).

Die Daten dieser Arbeit zeigen keinen signifikanten Unterschied in der Anzahl der Virus-positiven Patienten zwischen den Überlebenden und den Verstorbenen / Transplantierten. Die Analyse nach der transplantationsfreien Überlebenszeit ergab ebenfalls keinen signifikanten Unterschied zwischen den Virus-positiven und negativen Patienten. Zum Zeitpunkt der EMB gab es keinen Unterschied im NYHA-Stadium, 51,7% der Virus-positiven und 47,1% der Virus-negativen Patienten hatten NYHA III oder IV. Im Follow up war die Verbesserung im NYHA-Stadium gleichermaßen, 79% in der Virus-Gruppe und 85,5% in der Negativ-Gruppe hatten NYHA I bis II. Die echokardiographischen Parameter EF und LVEDD wiesen zum EMB-Zeitpunkt und zum Follow up keine Unterschiede zwischen den Gruppen auf. Beide Gruppen wiesen eine Echo-EF-Steigerung im Mittel um 12,5% bei den Virus-positiven und 11,9% bei den negativen Patienten auf. Der LVEDD sank bei den Virus-Positiven im Schnitt um 5,5mm und bei den Virus-Negativen um 6,1mm. In der Histologie hatten die Myozyten der Virus-negativen Patienten einen signifikant größeren Durchmesser als die Virus-positiven. Der Grad der Fibrose zeigte keinen Unterschied. Bei den immunhistochemischen Analysen wurden bei den Virus-Negativen tendenziell mehr Makrophagen pro  $\text{mm}^2$  nachgewiesen, aber für keinen der immunhistochemischen Zellnachweise ergab sich ein statistisch signifikanter Unterschied. Die WHO-Kriterien der Inflammation mit  $>14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  erfüllen 29,2% der Virus-positiven und 42,4% der Virus-negativen Patienten. Die vermehrte Inflammation bei negativen Virusgenomnachweis ist statistisch signifikant. Die Expression von HLA Klasse II zeigt eine signifikant höhere Aktivierung in der Virus-Gruppe. Dort hatten nur 37,7% keine oder leichte HLA II-Intensität gegen 63,4% in der Virus-negativ-Gruppe.

Unsere Daten zeigen, dass der Virusgenomnachweis im Myokard keinen Einfluss weder auf die harten Endpunkte Tod und Transplantation noch auf die Entwicklung der klinischen Parameter im Krankheitsverlauf hat. Einzig die Inflammation ist signifikant weniger vertreten bei positivem Virusgenomnachweis. Die HLA-Intensität verhält sich nicht konform zur Inflammation.

Es stellt sich nun die Frage, warum in den Studien die Ergebnisse so uneinheitlich und widersprüchlich sind. Zum einen fehlen Studien mit hohen Patientenzahlen. Es wurden zwischen 80 und 197 Patienten untersucht. In dieser Arbeit wurden insgesamt 310 DCM-Patienten untersucht. Weitere Unterschiede ergeben sich im Studienaufbau. Kütke et al, Figulla et al und Why et al beschränkten sich auf den EV-Nachweis, Kühl et al untersuchte ausschließlich Virus-positive Patienten und die Kindermann et al-Studie untersuchte Patienten mit vermuteter Myokarditis und kardialer Funktionseinschränkung. Auch die Nachbeobachtungszeiten variierten von 6,8 bis 58,9 Monate (Figulla et al, 1994; Why et al, 1994; Kühl et al, 2005,2; Kütke et al, 2007; Kindermann et al, 2008). Einheitliche Studien zum Outcome von DCM-Patienten abhängig von Virusnachweis im Myokard existieren noch nicht. Eine Limitation dieser Arbeit ist die fehlende Folgebiopsie, sodass keine Aussage zum Einfluss von Virusclearance aus dem Myokard auf die Prognose getroffen werden kann. Kühl et al untersuchte die Viruselimination durch eine Folgebiopsie, doch es fehlt der Vergleich mit einem von Beginn an Virus-negativem Vergleichskollektiv (Kühl et al, 2005,2).

Trotz dieser uneinheitlichen Ergebnisse wurde die virale Kardiomyopathie von dem Expertenkomitee des WHF Council on Cardiomyopathies durch den Nachweis von Virusgenom im Myokard durch PCR definiert (Maisch et al, 2000). Daraus resultierend wurden Studien zur spezifischen Therapie der Virusinfektion mit Interferonen durchgeführt. 1995 behandelten Figulla et al 4 EV-positive Patienten, die sich im Follow up klinisch verschlechtert hatten, mit INF  $\alpha$ . Es trat bei allen Patienten eine klinische Verbesserung ein, ohne dass eine 100%ige Virusclearance erreicht werden konnte (Figulla et al, 1995). In einer Studie zu INF  $\beta$  mit 22 Patienten zeigte sich vollständige Virusclearance bei allen Patienten und ein klinischer Benefit, aber es fehlte der Vergleich zu einer Kontrollgruppe (Kühl et al, 2003). In einer Studie mit 110 Patienten mit Virus-positiver DCM zeigte sich keinerlei Unterschied in den klinischen und echokardiographischen Parametern zwischen der INF  $\beta$ - und der Kontrollgruppe. Im Follow up konnten sogar zeitweise bessere Werte in der Kontrollgruppe nachgewiesen werden (Zimmermann et al, 2010).

Es zeigen sich genauso uneinheitliche Ergebnisse zur Wirksamkeit der Virustherapie wie zum Einfluss der Viren auf die Prognose der DCM überhaupt. Ohne eine klare Aussage zur Rolle der Viren in der Pathogenese und dem Verlauf der DCM bleiben auch die Therapieansätze umstritten. Sollten sich die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen, die keinen Einfluss der Viren auf die Prognose zeigt, ergibt sich die Frage nach der Sinnhaftigkeit solcher Therapieansätze, da sie dem Patienten auch dem Risiko von Nebenwirkungen aussetzt.

### **6.2.3 Enteroviren – Link von Myokarditis zur DCM?**

In der DCM-Forschung werden die EV als das Modell der Verbindung von Virusmyokarditis und der Entwicklung einer DCM angesehen. Viele Studien beschäftigen sich mit den Einzelheiten der Wirkung von EV auf den Herzmuskel im Rahmen der akuten Myokarditis und den vermuteten Faktoren des Übergangs in die DCM. Anhand von Mausmodellen wurde die Pathogenese der DCM aus der akuten Virusinfektion in drei Phasen konstruiert, die bisher nicht auf den Menschen übertragen werden konnte.

Ein vermuteter Schädigungsmechanismus ist die virale Proteinase 2A, die im Rahmen akuter Infektionen mit EV gebildet wird (Maekawa et al, 2007). In vitro konnte eine Spaltung des Dystrophin-Sarkoglykan-Komplexes durch das Enzym gezeigt werden. In Herzen von CVB3 infizierten Mäusen wurde eine Störung der Zytoskelettintegrität gesehen (Badorff et al, 1999). Nachdem bei einem Patienten mit akuter linksventrikulärer Dysfunktion und EV-Infektion ebenfalls fokale Verminderungen von Dystrophin und Sarkoglykan nachgewiesen werden konnte, wurde daraus verallgemeinert, dass die EV-Infektion darüber zur Ausbildung der chronischen linksventrikulären Funktionsstörung und DCM führen soll (Badorff, Knowlton, 2004). In einer transgenen Maus bildete sich nach längerer Exposition zu Protease 2A ein DCM-Phänotyp aus (Xiong et al, 2007). Trotz fehlender Nachweise beim Menschen wurde auch hier auf das EV-Genom-positive DCM-Patientenkollektiv verallgemeinert. Es bleibt die Frage offen, ob dies für die DCM unter klinischen Realbedingungen eine Rolle spielt, wo nur in der aktiven Virusreplikationsphase, die wenige Tage dauert, Protease 2A gebildet wird (Maekawa et al, 2007).

Auch der vermehrte Nachweis von CAR in DCM-Herzen wird als Argument für die EV als DCM-Ursache verwendet. Das CAR-Molekül ist als ein Tight-Junktion-Protein wichtig für Zell-Zell-Kommunikation und der Zellmembran-Integrität (Maekawa et al, 2007). Im gesunden Herzen wurde CAR nur subendothelial und auf interstitiellen mononukleären Zellen

gefunden, während die Myokardzellen keinerlei Expression zeigen. Im DCM-Herzen ist eine starke Expression von CAR auf den Kardiomyozyten zu finden. Poller et al fanden diese CAR-Expression auf den Myozyten ausschließlich in DCM-Herzen (Poller et al, 2002), während eine Hochregulation der mRNA für den CAR auch in ischämischen Herzen gefunden werden konnte (Tatrai et al, 2011). CAR wird die Funktion eines „Wegfinde“-Proteins für die Entstehung neuer Zell-Zell-Kontakte zugeschrieben mit Folge einer Aktivierung im erkrankten Myokard zur Regeneration der beschädigten Areale (Tatrai et al, 2011). Durch Immunaktivierung kommt es auch zu einer vermehrten Expression des CAR. Es stellt sich die Frage, ob die Infektion mit EV nicht Folge der Expression von CAR im Rahmen des Myokardschadens durch die DCM ist (Tatrai et al, 2011).

Auch wenn nicht ausgeschlossen ist, dass EV bei akuter linksventrikulärer Dysfunktion bei Myokarditiden eine Rolle spielen, gibt es bisher keinen Beweis dafür, dass EV ursächlich für chronische linksventrikuläre Dysfunktion und DCM sind. Trotzdem ist die virale Kardiomyopathie laut Klassifikation eine eigene Entität, die eine spezifische Therapie rechtfertigt.

Betrachtet man den Einfluss der EV auf das Outcome, so ergibt sich in dieser Arbeit kein Unterschied in echokardiographischen Parametern und Überleben zwischen EV-positiven und EV-negativen Patienten. Auch zum Kontrollzeitpunkt sind beide Gruppen ähnlich in EF und LVEDD. Der signifikant längere Beobachtungszeitraum bei den EV-positiven Patienten erklärt sich durch das häufigere Vorkommen von EV in den Jahren 1997 bis 2002. In der transplantatfreien Überlebenszeit gibt es keinen Unterschied zwischen EV-positiv und EV-negativ, EV-Positive überleben sogar tendenziell länger. Diese Ergebnisse stützen die Funde anderer Studien. So fanden Figulla et al bei EV-positiven Patienten ein signifikant besseres Überleben und Verbesserung der klinischen Parameter im Vergleich zum EV-negativen Kollektiv (Figulla et al, 1995). Why et al hingegen stellten in ihrem Patientenkollektiv ein schlechteres Outcome bei EV-Genomnachweis fest (Why et al, 1994). Allerdings gibt es Unterschiede in der Auswahl der Patienten, denn für die Studie wurden Patienten mit Herzmuskelerkrankungen im Allgemeinen eingeschlossen. Die gegensätzlichen Ergebnisse erklären sich vielleicht aus dem Anteil an akuten Myokarditiden. In einer Studie mit Vergleich EV-positiv und EV-negativ unter aktueller Herzinsuffizienztherapie von Kütke et al ergab sich kein Unterschied zwischen den Gruppen. Hier wurden speziell die DCM-Patienten untersucht (Kütke et al, 2007). So gibt es laut Studienlage keinen sicheren Hinweis auf eine



Verschlechterung der Prognose durch EV-Genom im Myokard. Damit erübrigt sich auch aus unserer Sicht für die EV im Speziellen die Klassifikation als virale Kardiomyopathie, denn es ergeben sich für den Patienten keinerlei klinische Konsequenzen.

#### **6.2.4 PVB19 – ein Bystander im Myokard**

PVB19 ist das am häufigsten in der EMB nachzuweisende Virus im Myokard (Kühl et al, 2005, 1). Die Nachweisraten gehen von 42% bis zu 65% der viruspositiven EMB (Lotze et al, 2004; Kütke et al, 2009). Auf Grund ihrer Häufigkeit wurde in den PVB19 ein wichtiger Faktor in der Entstehung der DCM gesehen. Eine serologische Narbe als Folge einer abgelaufenen PVB19-Infektion wurde bei 70% der gesunden deutschen Bevölkerung gefunden (Mahfoud et al, 2011). Die häufigste Infektion durch PVB19 bei immunkompetenten Patienten ist das Erythema infectiosum. Außerdem kann PVB19 noch Ursache für Athralgien, Arthritis, Leukopenie, Thrombopenie, Anämie, Vaskulitis und Hydrops fetalis sein (Modrow, 2006). Der vermutete Schädigungsmechanismus der PVB19 wird durch die Infektion von Endothelzellen mit darauffolgender endothelialer Dysfunktion und Fortschreiten zur chronischen Herzinsuffizienz erklärt. Über einen komplexen Mechanismus, der Zytokine wie IL 6 oder TNF  $\alpha$  und Induktion von Apoptose beinhaltet, soll PVB19 Endothelzellen schädigen und so zu einer chronischen Ischämie der Myokardzellen führen (Schultheiss et al, 2011).

Es wurde eine lebenslange Persistenz des Virusgenoms in humanem Gewebe nach einer Infektion in der Kindheit festgestellt (Norja et al, 2006). In einer Untersuchung an Patienten, die einer offenen Herzoperation unterzogen wurden und nachweislich nicht an DCM oder Myokarditis erkrankt waren, konnte in 85% der Fälle PVB19 in den Myokardproben nachgewiesen werden (Kütke et al, 2009). In einer weiteren Untersuchung wurde gezeigt, dass bei DCM-Patienten und der Kontrollgruppe mit normaler Herzfunktion die Anzahl der Genkopien von PVB19 im Myokard gleichermaßen häufig und niedrig nachweisbar waren (Lotze et al, 2010). Von PVB19 existieren drei verschiedene Genotypen. Im Rahmen einer Untersuchung von 523 Gewebeproben aus Haut, Synovia, Tonsillen oder Leber und 1640 Serumproben von Geburtsjahren 1913 bis 2000 konnte festgestellt werden, dass Genotyp 2 nur in Individuen, die vor 1973 geboren wurden, nachgewiesen werden konnte. Bei den jüngeren Studienteilnehmern kam nur Genotyp 1 vor. Genotyp 3 ist in Europa nicht endemisch und deshalb nur selten bei Patienten mit ausländischer Herkunft zu finden (Norja et al, 2006). In einer Studie mit 139 Patienten wurde zwischen Genotyp 1 und 2

unterschieden und im Vergleich zu einer virusnegativen Kontrollgruppe eine Immunglobulintherapie durchgeführt. Die PVB19-Gruppe insgesamt war in den echokardiographischen Parametern vergleichbar mit der Kontrollgruppe, nur wurde eine Verschlechterung der Herzfunktion bei nachgewiesenen Genotyp 2 gefunden (Ruppert et al, 2011). Allerdings liegt hier ein systematischer Fehler zugrunde, denn Genotyp 2 wird häufiger bei älteren Patienten nachgewiesen, die möglicherweise schon einen längeren Krankheitsverlauf hinter sich haben und deshalb eher eine Verschlechterung der Herzfunktion zeigen. In einer weiteren Untersuchung von Kühl et al wurde der Nachweis von Genotyp 1 bei jüngeren Patienten mit einem schwereren Krankheitsverlauf assoziiert (Kühl et al, 2008). Auch hier ist es wahrscheinlich, dass die schlechtere Herzfunktion bei früherem Krankheitsbeginn ein Ausdruck anderer Krankheitscharakteristika wie genetische Prädisposition darstellt, denn Genotyp 1 ist durch das Verschwinden von Genotyp 2 seit den 1970er Jahren der prädominierende Genotyp in jüngeren Patienten und demnach bei diesen häufiger nachweisbar (Küthe et al, 2009; Norja et al, 2009). IgG-Antikörper sind 100% kreuzreaktiv für Genotyp 1 und 2. Für T-Zellen wurde die Kreuzreaktivität noch nicht untersucht. Auf Grund der uneinheitlichen Studienergebnisse und der ähnlichen Immunreaktion auf die PVB19-Genotypen ist von keiner unterschiedlichen Virulenz auszugehen (Ekmann et al, 2007; Küthe et al, 2009). Der stattgefundene Genotyp-Shift von Genotyp 2 zu Genotyp 1 stellt ein Indiz für die Persistenz von PVB19-Genom dar. Eine Infektion mit Genotyp 2 war nur in Individuen, die vor 1973 geboren wurden, möglich. In den Geweben jüngerer Individuen konnte nur noch Genotyp 1 gefunden werden. Demnach schließt sich eine Reinfektion als Ursache für die Positivität für Genotyp 2 bei älteren Patienten aus und ist nur durch Persistenz zu erklären (Norja et al, 2009).

Auf Grund der häufigen Funde von PVB19 in verschiedenen menschlichen Geweben einschließlich des Myokards in gesunden Erwachsenen ohne Myokarditis oder DCM und des fehlenden Einflusses auf die Entwicklung der linksventrikulären Funktion und das Outcome der DCM wird der PVB19-Nachweis als harmlose Viruspersistenz im Myokard angesehen (Küthe et al, 2009; Schenk et al, 2009). In Myokardproben aus Autopsien von PVB19-seropositiven Verstorbenen konnte bei 96% auch PVB19-Genom nachgewiesen werden, unabhängig von der Todesursache. Dies wurde als Beweis einer lebenslangen Persistenz im Myokard angenommen (Schenk et al, 2009). Eine Untersuchung zeigte eine mögliche Ursache für die hohe Prävalenz von PVB19-Nachweisen in entzündeten Herzen. Der Virus

konnte in mononukleären Inflammationszellen aber nicht in Myozyten oder Endothelzellen nachgewiesen werden. Die durch einen Inflammationsreiz eingewanderten PVB19-positiven Entzündungszellen würden in der virologischen Untersuchung einen PVB19-Genomnachweis im Myokard erzeugen ohne eine ätiologische Rolle in der Erkrankung zu spielen (Koepsell et al, 2012).

### **6.3 Die Rolle der Inflammation im Myokard in der DCM-Erkrankung**

#### **6.3.1 Einfluss der Inflammation auf das Outcome von DCM-Patienten**

In dieser DCM-Patientenpopulation konnte in 30,7% der Fälle Inflammation in Myokard nachgewiesen werden. 58,9% der Patienten hatte eine mittelstarke bis starke HLA Klasse II-Intensität. Im Schnitt wurden 7,4 Makrophagen und 4,0 T-Lymphozyten pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe in der immunhistochemischen Untersuchung gesehen. In dieser Arbeit wurden dann die Patienten mit Inflammation im Myokard mit denen ohne Inflammation verglichen. Als Diagnosekriterium galt der immunhistochemische Nachweis von 14 oder mehr T-Lymphozyten und Makrophagen pro  $\text{mm}^2$  Myokardgewebe, wie es vom Expertenkomitee der WHF festgelegt worden war (Maisch et al, 2000). Die Gruppen zeigen keine signifikanten Unterschiede in der Verteilung von Alter, Geschlecht, Begleiterkrankung und medikamentöser Therapie. Das NYHA-Stadium zeigt keine signifikante Differenz zum EMB-Zeitpunkt. Zum Kontrollzeitpunkt ergaben sich ebenfalls ähnliche Werte in den Gruppen. Damit hat in dieser Untersuchung Inflammation keinen Einfluss auf die Ausprägung und den Verlauf der Herzinsuffizienzsymptomatik. Histologisch zeigte sich ein ähnliches Ausmaß an Myozytenvergrößerung und Fibrose in beiden Gruppen. In den echokardiographischen Parametern wies die Inflammationsgruppe signifikant bessere Werte für Echo-EF und LVEDD auf. Im der Kontrollechokardiographie glichen sich die Werte zwischen beiden Gruppen an. Damit verbesserte sich die Gruppe ohne Inflammation um 14,0%-Punkte in der Echo-EF gegen 7,9%-Punkte in der Inflammationsgruppe. Ein Fehlerfaktor könnte hier der signifikant kürzere Zeitraum zwischen der EMB und der Kontrollechokardiographie in der Inflammationsgruppe sein. Eine mögliche Erklärung sind die kürzeren Nachbeobachtungszeiten auf Grund der zu Beginn schon besseren Ausgangsparameter. In den harten Endpunkten Tod und Transplantation konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden. Tendenziell erreichten in der Gruppe ohne Inflammation mehr Patienten einen Endpunkt. Auch in den Analysen zur Überlebenszeit

zeigt sich eine Tendenz zu längeren Überlebensdauern für die Patienten mit Inflammation im Myokard. Dies ist im Vergleich zwischen Patienten mit  $\geq 14$  Zellen und  $< 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  und dem mit  $\geq 14$  und  $\leq 3$  Zellen zu sehen.

Es gibt bisher nur sehr wenige Untersuchungen, die das Outcome von DCM-Patienten in Abhängigkeit von vorhandener immunhistochemischer Inflammation untersucht haben, ohne gleich neue Therapieansätze zu testen. In einer Untersuchung von Zimmermann et al. ergaben sich für die Patienten mit Inflammation zum Zeitpunkt der EMB schlechtere echokardiographische Werte, zeigten aber das beste Outcome im Vergleich zu den anderen Patienten. Inflammatorische Aktivität wurde als möglicher Indikator für noch intakte Reparaturmechanismen in Myokard angesehen, was in den Inflammationspatienten zu dieser deutlichen Verbesserung der echokardiographischen Werte geführt haben könnte (Zimmermann et al., 2005). Es kann die Vermutung aufgestellt werden, dass das Vorhandensein von Inflammation im Myokard im Krankheitsverlauf der DCM ein früheres Stadium darstellt, in dem die Inflammationsprozesse ein noch intaktes Endothel anzeigen, durch das die Einwanderung der Entzündungszellen möglich ist. In dieser Arbeit kann der Nachweis nicht geführt werden, denn es fehlen die Folgebiopsien um den Rückgang der Inflammation bei fortschreitender Erkrankung zeigen zu können. Bei Myokarditispatienten scheint die Inflammation eine andere Bedeutung zu haben, denn in einer Untersuchung ergab sich der immunhistochemische Nachweis von Inflammation als unabhängiger Prädiktor für schlechteres Outcome, während der Nachweis von Virusgenom keine prognostische Bedeutung besaß. Als Kriterien für myokardiale Inflammation wurde hier aber neben den  $\geq 14$  Zellen pro  $\text{mm}^2$  auch die HLA-Expression herangezogen (Kindermann et al., 2008).

Aus den derzeitigen Studienergebnissen lässt sich keine genaue Aussage zur Rolle der Inflammation für die Prognose und das Outcome bei DCM treffen. Die Untersuchungen konzentrieren sich zum jetzigen Zeitpunkt auf den Einfluss der Inflammation auf die Ätiologie der DCM und wie man sie als auslösenden Faktor therapeutisch bekämpfen kann. Die Daten dieser Arbeit zeigen ein tendenziell besseres Outcome für DCM-Patienten mit Inflammation im Myokard mit zum EMB-Zeitpunkt besseren echokardiographischen Parametern, die sich in den Kontrolluntersuchungen den Patienten ohne Inflammation angleichen. Dies unterstützt die Vermutung, dass bei DCM die myokardiale Inflammation möglicherweise ein früheres Stadium der Erkrankung darstellt.

### **6.3.2 Die vermutete Rolle der Inflammation in der Ätiologie der DCM**

Laut Klassifikation werden die Patienten mit einer DCM und nachgewiesener Inflammation bei positivem Virusnachweis in die Gruppe der viralen inflammatorischen Kardiomyopathie und bei negativem Virusgenomnachweis in die Gruppe der autoimmunen inflammatorischen Kardiomyopathie eingeteilt. Als Grundlage hierfür dienen die Theorien, dass zum einen chronische Virusmyokarditis und zum anderen autoimmune Faktoren eine DCM verursachen können.

Die Ausbildung einer DCM im Rahmen einer Virusmyokarditis wird auf die direkten Schädigungsmechanismen der Viren und die Aktivierung des Immunsystems mit chronischer Inflammation im Myokard zurückgeführt (Maekawa et al, 2007). Eine große Rolle bei der Inflammation wird den T-Zellen zugeschrieben, denn in Mausmodellen war eine starke Reduktion der myokardialen Inflammation feststellbar, wenn die T-Zellen inaktiviert wurden (Woodruff, Woodruff, 1974). Außerdem konnte myokardiale Inflammation in gesunden Mäusen durch einen Transfer von T-Zellen aus Myokarditis-erkrankten Mäusen ausgelöst werden (Pummerer et al, 1996). Auch dem Gleichgewicht von pro- und antiinflammatorischen Zytokinen wird große Bedeutung zugemessen (Glück, 2002). So ist in Mausmodellen nachgewiesen worden, dass TH 17-Zellen und das von diesen produzierte IL 17A zur Chronifizierung der Inflammation und Ausbildung eines DCM-Phänotyps führen (Baldeviano et al, 2010, Marchant et al, 2012). Regulatorische T-Zellen haben wiederum einen immunmodulatorischen Einfluss. In T-reg-behandelten Mäusen konnte eine Verminderung der Inflammation und Virusreplikation bei CVB3-Myokarditis festgestellt werden (Shi et al, 2010). Die Verbindung von Virusmyokarditis und DCM über inflammatorische Faktoren konnte bisher nur im Tierexperiment gezeigt werden. Die Forschung konzentriert sich derzeit auf die Untersuchung von Einzelfaktoren in Mausmodellen. Größere Studien am Menschen fehlen und viele der Mechanismen aus den Mausmodellen konnten noch nicht auf den Menschen übertragen werden (Schultheiss et al, 2011). Deshalb ergeben sich aus diesen Forschungen für den DCM-Patienten derzeit keine klinischen Konsequenzen. Eine prognostische Bedeutung der viralen inflammatorischen Kardiomyopathie konnte in dieser Arbeit nicht gezeigt werden, denn DCM-Patienten mit positivem Virusnachweis und Inflammation zeigen in der transplantatfreien Überlebenszeit keinen Unterschied zu Patienten ohne Virusgenom und ohne Inflammation.

Neben dem Nachweis von Entzündungszellen wird zur Diagnostik von myokardialer Inflammation die HLA-Expression verwendet. Im gesunden Herzen exprimieren Myozyten keine HLA. Anders als bei fokalen entzündlichen Infiltraten ist ein Sampling Error weniger wahrscheinlich, da HLA bei Inflammation im gesamten Myokard heraufreguliert werden (Wojnicz et al, 2001). Bei der akuten Myokarditis ist der Nachweis von vermehrter HLA-Expression ein unabhängiger Risikofaktor für eine schlechte Prognose (Kindermann et al, 2008). In dieser Arbeit ergab sich für die transplantatfreie Überlebenszeit kein Unterschied zwischen den Patienten mit mittelstarker und starker oder mit keiner und leichter HLA Klasse II-Aktivierung. Auch mit positivem Virusgenom, mehr als 14 Zellen und vermehrter HLA-Expression ist die transplantatfreie Überlebenszeit nicht abweichend zu DCM-Patienten ohne Erfüllung dieser Kriterien.

Der Nachweis von HLA wurde mit Autoimmunreaktionen assoziiert (Parrillo, 2001). Auch genetische Faktoren sind in der Diskussion. So können z. B. genetische Polymorphismen der HLA II-Gene eine Vulnerabilität für die Entwicklung einer autoimmunen Inflammation darstellen. Es wurde eine erhöhte Rate von anderen Autoimmunerkrankungen bei DCM-Patienten als in der Allgemeinbevölkerung gefunden und auch Angehörige der Betroffenen haben eine erhöhte Inzidenz von Erkrankungen wie Psoriasis, Schilddrüsenerkrankungen, Rheumatoider Arthritis und hämolytischer Anämie. In Untersuchungen konnte eine vermehrte Expression bestimmter HLA-Typen bei DCM-Patienten festgestellt werden. Deshalb werden den HLA Klasse II-Polymorphismen eine wichtige Rolle in der Entwicklung der DCM über autoimmune Mechanismen mit verlängerter Antigenpräsentation und persistierender Immunaktivität zugeschrieben (Yoshikawa, 2011; Maisch et al, 2005). In einer Studie von Kütke et al wurden bei DCM-Patienten mit erhöhter HLA Klasse II-Expression signifikant mehr Th2-Zell-Infiltration festgestellt als bei Patienten mit schwacher HLA II-Expression. Die HLA-Expression zeigte keinen Einfluss auf die Ausprägung der Herzinsuffizienz. Allerdings kann der gezeigte Shift zu Th2-Zytokinen zur Autoimmunität und Bildung von Autoantikörpern prädisponieren (Kütke et al, 2006).

Die Klassifikation definiert DCM-Patienten mit Inflammation und ohne Virusgenom im Myokard als inflammatorische Kardiomyopathie (Maisch et al, 2005). In dieser Arbeit zeigte der Vergleich der transplantatfreien Überlebenszeit für Patienten mit virusnegativer inflammatorischer Kardiomyopathie keinen Unterschied zu virusnegativen Patienten ohne Inflammation. Auch Inflammation und verstärkte HLA-Expression zusammen ergeben keine

Veränderung der Überlebenszeit zu Patienten ohne diese Kriterien. Prognostisch gesehen sind die Kriterien der autoimmunen Inflammation ohne Bedeutung.

Eine vermutete Ursache für die Ausbildung der DCM durch autoimmune Mechanismen stellt die Bildung von Autoantikörper dar. In ca. 85% der DCM-Patienten wurden im Serum ein Autoantikörper gefunden (Yoshikawa, 2011). Zu ihrer Entstehung gibt es zwei Hypothesen. Die Autoantikörper könnten durch molekulares Mimikri entstanden sein oder durch eine Triggerung des Immunsystems durch eine plötzliche oder chronische Freisetzung einer kritischen Menge von Autoantigenen im Rahmen eines inflammatorischen oder ischämischen Myokardschadens (Caforio et al, 2008; Jahns et al, 2010). Der häufigste Antikörper ist gegen die schwere Kette des Myosins gerichtet (Rose, 2009). Im ungeschädigten Herzen sind Myosinantikörper nicht in der Lage, eine Myokarditis oder DCM auszulösen, doch die Präsenz der Autoantikörper wurde mit einer persistierenden kardialen Dysfunktion in Patienten mit chronischer Myokarditis und DCM verbunden (Yoshikawa, 2011; Rose, 2009). Ein weiterer wichtiger Autoantikörper ist gegen den  $\beta$ 1-Adrenorezeptor im Herzgewebe gerichtet (Jahns et al, 2010). Im Mausmodell konnte durch diese Antikörper bei chronischer Exposition ein DCM-Krankheitsbild erzeugt werden (Yoshikawa, 2011). Beim Menschen gibt es bisher nur Hinweise, dass das Vorhandensein des Antikörpers die Prognose negativ beeinflusst, woraus sich der Therapieansatz der Immunoabsorption entwickelt hat (Yoshikawa, 2011, Bulut et al, 2010). Ob Autoantikörper als ätiologischer Faktor für die Entstehung der DCM in Frage kommen, ist noch nicht geklärt. Die WHF-Expertenkomitees sehen in den Autoantikörpern einen Indikator für Myokardschäden, während ihnen in der Pathogenese keine wichtige Rolle zukommen soll (Maisch et al, 2000). In dieser Arbeit wurde das Vorhandensein von Autoantikörpern nicht untersucht, sodass keine Aussage zum Einfluss dieser getroffen werden kann.

Ein weiterer Mechanismus der autoimmunen Inflammation ist z.B. die Wirkung von TNF  $\alpha$ , einem wichtigen proinflammatorischen Zytokin. Bei DCM-Patienten wurden erhöhte TNF  $\alpha$ -Spiegel gemessen. In Untersuchungen von DCM-Herzen ist eine Unterexpression von Dystrophin und Titin festgestellt worden, die mit der Schwere der Herzinsuffizienzsymptomatik korreliert. In vitro supprimierte TNF  $\alpha$  die m-RNA von Dystrophin, sodass in TNF  $\alpha$  ein wichtiger Faktor bei der Entstehung der DCM gesehen wird (Ahmad et al, 2010). In dieser Arbeit wurde der TNF  $\alpha$ -Spiegel der Patienten nicht gemessen, was eine Limitation darstellt.

### **6.3.3 Therapiestudien zur Behandlung der Inflammation bei Myokarditis und DCM**

Um die Wirkung von Immunsuppression auf den Verlauf und die autoimmunen Komponenten der inflammatorischen Kardiomyopathie zu untersuchen, wurden mehrere Studien durchgeführt. Eine der ersten randomisierten kontrollierten Studien wurde von Parrillo et al 1989 publiziert. An 102 DCM-Patienten wurde die Wirkung von Prednisolon versus Placebo getestet. Nach 3 Monaten konnte eine Verbesserung der Echo-EF in der Prednisolongruppe festgestellt werden, die nach 9 Monaten nicht mehr nachweisbar war. In der Mortalität gab es keine Unterschiede zwischen den Gruppen. Als Diagnosekriterium galt hier der Nachweis von Inflammation im Myokard (Parrillo, 2001). In einer weiteren Studie, dem Myocarditis Treatment Trial, wurden 111 Patienten mit Myokarditis und schlechter Echo-EF mit Prednisolon und Azathioprin oder Cyclosporin versus Placebo behandelt. Hier ergaben sich keine Unterschiede in echokardiographischen Parametern oder dem Überleben. Die Limitation wurde in der histologischen Diagnose der Inflammation mittels der Dallas-Kriterien gesehen mit 39% Uneinigkeit in der Diagnose unter den Experten (Mason et al, 1995). Für die Studie von Wojnicz et al wurden 84 Patienten mit starker HLA-Expression eingeschlossen und mit Prednisolon und Azathioprin versus Placebo behandelt. In den primären Endpunkten Tod, Transplantation und Krankenhausaufenthalt konnten keine Verbesserungen durch die Therapie festgestellt werden, aber in den echokardiographischen Parametern ergaben sich bei den Folgeuntersuchungen vom 3. Monat bis 2 Jahren bessere Ergebnisse für die Immunsuppressionsgruppe. Der immunhistochemische Nachweis von HLA-Vermehrung wurde als bester Parameter für die Diagnose fortlaufender Inflammation im Myokard postuliert. Der klinische Benefit für die Patienten mit kurzzeitiger Immunsuppression wurde mit der Unterbrechung der autoimmunen Reaktionen unabhängig von ihrem Triggermechanismus erklärt (Wojnicz et al, 2001). In einer retrospektiven Untersuchung wurde ein hoher Anteil an Virusnachweisen bei den Nonrespondern auf die Immunsuppression gefunden. Um einen möglicherweise schlechten Einfluss von Virusgenom im Myokard auf die immunsuppressive Therapie auszuschließen, wurden in eine weitere randomisierte kontrollierte Studie, der TIMIC-Studie, nur virusnegative Patienten mit inflammatorischer Kardiomyopathie eingeschlossen, die nicht auf die konventionelle Therapie ansprachen. Die Immunsuppression erfolgte auch hier mit Prednisolon und Azathioprin. Die 85 eingeschlossenen Patienten wurden auf Verbesserung der linksventrikulären Funktion nach 6 Monaten untersucht. Es konnte eine



signifikante Erhöhung der Echo-EF und Erniedrigung des LVEDD in der Immunsuppressionsgruppe festgestellt werden, während die Placebogruppe keine Verbesserungen zeigte (Frustaci et al, 2009). Erste Zwischenergebnisse der ESETICID-Studie (European Study of Epidemiology and Treatment of Inflammatory Heart Disease) zeigten eine Eradikation der Inflammation unter Immunsuppression von 59%, aber bei 40% der Placebogruppe verschwand die Inflammation spontan (Hufnagel et al, 2000). Die uneinheitlichen Studienergebnisse lassen noch kein einheitliches Konzept der Therapie der inflammatorischen Kardiomyopathie erkennen. Weitere randomisierte kontrollierte Studien mit einheitlichen Diagnosekriterien unter Einbeziehung des Virusgenomnachweises sind notwendig. Außerdem sollte der natürliche Verlauf der myokardialen Inflammation einschließlich der spontanen Elimination der Inflammation in Betracht gezogen werden.

Ein weiterer Ansatz ist die Therapie mit Immunglobulinen. Immunglobulinen wird eine antivirale und antientzündliche Wirkung zugeschrieben. Bisher liegen nur kleinere Studien zu dieser Therapieoption vor. Die Ergebnisse sind uneinheitlich. Die einzige randomisierte kontrollierte Studie zeigte keinen Benefit, in kleinen Fall- und Kohortenstudien konnte ein positiver Effekt gezeigt werden (Maisch et al, 2004).

Die Beseitigung zirkulierender Autoantikörper durch Immunadsorption zeigt in kleineren Therapiestudien positive Effekte auf die linksventrikuläre Funktion von DCM-Patienten. Es konnten Hinweise auf positive immunmodulatorische Prozesse und längerfristige Effekte durch Immunadsorption gefunden werden. Auch in diesem Gebiet sind randomisierte kontrollierte Studien mit größeren Patientenzahlen notwendig (Felix et al, 2008; Felix, Staudt 2008; Trimpert et al, 2010; Ameling et al, 2012).

Die Studienergebnisse zur Therapie der myokardialen Inflammation sind uneinheitlich. Eine Erklärung kann sein, dass die Rolle der Inflammation in der DCM-Erkrankung nicht vollständig geklärt ist und sehr viele Faktoren, wie Virusinfektion, Autoimmunität und Genetik, Einfluss auf das Geschehen haben. Ein wichtiges Augenmerk sollte auf den natürlichen Verlauf der DCM-Erkrankung mit Untersuchungen zum Einfluss von Inflammation im Myokard auf das Outcome von DCM-Patienten gelegt werden.

#### **6.3.4 Rate von Inflammation und Virusgenom im Myokard bei anderen Erkrankungen**

Für einen Überblick zu Inflammation und Virusnachweis bei anderen das Herz betreffenden Erkrankungen wurde in dieser Arbeit die Häufigkeit des Auftretens verglichen. Bei den Patienten mit DCM oder chronischer Myokarditis war die Häufigkeit von Viren 55,7% und von Inflammation 29,5%. Bei den Patienten mit Normalbefund in der Histologie des Myokards wurden in 76,9% der Fälle Viren nachgewiesen. Dies unterstützt Ergebnisse anderer Untersuchungen, wo in gesunde Vergleichsgruppen ähnliche Virusraten, z.B. PVB19, gezeigt werden konnten (Küthe et al, 2009). Auch bei Erkrankungen wie Amyloidose und den Autoimmunerkrankungen Churg-Strauss-Syndrom und Lupus erythematodes sind die Raten von Virusgenom im Myokard vergleichbar. Inflammation ist wie erwartet bei entzündlichen Erkrankungen, wie akute Myokarditis und die Autoimmunerkrankungen, in höherer Rate anzutreffen. Ähnliche Häufigkeit von Inflammation zeigt sich bei Amyloidose, HCM und DCM. Die Virusrate bei HCM ist niedriger als bei den anderen Erkrankungen, eine mögliche Ursache könnte der hauptsächlich genetische Hintergrund der Erkrankung sein. Diese Untersuchung hat als Limitation die geringen Patientenzahlen. Trotzdem kann hier der Blick auf den Virus als Bystander im gesunden und in verschiedenem Maße erkrankten Myokard und Inflammation als Symptom vieler myokardialer Erkrankungen geworfen werden. Verschiedene Ursachen, wie Ischämie, Sepsis oder Transplantatabstoßung, münden in ähnlichen Signalwegen und Mechanismen der Inflammation (Marchant et al, 2012). Dieser Vergleich soll einen Ansatz für weitere Untersuchungen mit größeren Patientenzahlen liefern, in denen die Rolle der Inflammation und von Virusgenom verglichen und möglicherweise genauer differenziert werden könnte.

#### **6.4 Bedeutung der Myokardbiopsie im Rahmen der Ergebnisse dieser Arbeit**

Die EMB wird als Goldstandard der Diagnostik der Myokarditis und DCM angesehen. Die Klassifikation der WHF/ISFC basiert die Definitionen von viraler und inflammatorischer Kardiomyopathie auf den Befunden der EMB (Maisch et al, 2000). Auch die Therapieoptionen leiten sich aus den EMB-Ergebnissen ab. Im Rahmen der Ergebnisse dieser Arbeit ist der Stellenwert und klinische Nutzen der EMB für Patienten mit DCM nicht nachvollziehbar. Es ist für das klinische Outcome ohne Bedeutung, ob Virusgenom oder entzündliche Infiltrate im Herzmuskel vorhanden sind. Deshalb ergeben sich daraus auch keine gesonderten Therapieoptionen. Auf Grundlage der Ergebnisse dieser Arbeit postulieren wir, dass bei

DCM-Patienten keine Indikation für eine EMB zu stellen ist. Einzig der Ausschluss von Speichererkrankungen, Amyloidose oder CCS und der Einsatz zu Forschungszwecken rechtfertigt eine EMB. Eine Expertenkommission der AHA/ACCF/ESC publizierte 2007 eine Definition der Rolle der EMB anhand von 14 klinischen Szenarien und empfiehlt eine EMB bei akuter Herzinsuffizienz > 3 Monate und chronischer Herzinsuffizienz < 3 Monate nur bei Ventrikeldilatation mit begleitend auftretenden Rhythmusstörungen, AV-Block Grad II bis III und kein Ansprechen auf konservative Therapie. Liegen keine Rhythmusstörungen vor und spricht der Patient auf die konservative Therapie an, ist die EMB nicht mehr empfohlen (Cooper et al, 2007).

### **6.5 Alternative Forschungsansätze mit Bedeutung für Prognose und Outcome der Erkrankung**

Die Ergebnisse der DCM-Forschung zum Einfluss von Virusgenom und Inflammation im Myokard sind enttäuschend, denn für den DCM-Patienten mit chronischer linksventrikulärer Dysfunktion hat dieser Ansatz keinen Stellenwert für Prognose und Outcome. Auch die daraus resultierenden Therapieansätze zeigen ausbleibende Erfolge, sodass ein Umdenken in der DCM-Forschung anzuraten ist. Neue vielversprechende Ansätze zu Entstehung und Verlauf der DCM-Erkrankung liegen z.B. in der Erforschung der veränderten Gefäß- und Endothelfunktion am DCM-Herzen sowie in der Entstehung der Myokardfibrose, die letztendlich das Outcome bestimmt. Im Folgenden wird ein Überblick über diese Ansätze gegeben.

Schon in den 1940er Jahren wurde ein Ungleichgewicht zwischen Koronararteriengröße und linksventrikulärer Masse im DCM-Herzen festgestellt. Auch die Mikrovaskularisation des Myokards wurde in DCM-Patienten als geringer beschrieben im Vergleich zu Gesunden. Gefäße mit einem Durchmesser unter 200µm regulieren direkt die Blutversorgung des Gewebes und sind in ihrer Anzahl in DCM-Herzen signifikant weniger gefunden worden als in normalen Herzen (Roura, Bayes-Genis, 2009). In einer Untersuchung von Negila et al an 67 Patienten wurde eine Verminderung des myokardialen Blutflusses und der Blutflussreserve als einen unabhängiger Risikofaktor für Tod und Transplantation gezeigt. Das Ausmaß der Einschränkung des Blutflusses war mehr Ausdruck der Schwere der Mikrozirkulationsstörung als der ventrikulären Funktionsstörung (Negila et al, 2002). Die Perfusionsstörung zeigte eine Begrenzung auf das Herz, die vaskuläre Funktion in der Brachialarterie und die periphere

endotheliale Funktion sind auch bei DCM-Patienten nicht eingeschränkt. Dies weist auf unabhängige Regulationsmechanismen für die myokardiale Perfusion hin (Stolen et al, 2004). Roura et al zeigte in einer Untersuchung, dass bei DCM die Dichte der mikrovaskulären Gefäße epikardial am deutlichsten verringert ist. Eine Erhöhung der endothelialen Progenitorzellen und VEGF konnte zwar festgestellt werden, aber keine effektive Revaskularisierung wurde in Gang gesetzt. Gründe hierfür könnten die Fibrose, unreife Progenitorzellen oder defekte Signalwege in der selektiven Attraktion von Progenitorzellen sein. Auch  $\beta$ -Catenin, das das Überleben, die Proliferation und Migration von reifen Progenitorzellen fördert, ist in den Gefäßen unterexprimiert (Roura et al, 2007). Hypoperfusion und repetitive Ischämie kann zu linksventrikulärer Dilatation und systolischer Pumpfunktionsstörung führen (Negila et al, 2002). Es besteht die Möglichkeit, dass die DCM als Folge von Störung der myokardialen vaskulären Versorgung entsteht, die trotz hochgeregelter Neoangiogenesefaktoren nicht repariert werden kann. Eine neue Sicht auf die Pathogenese der DCM ist entstanden, doch es sind weitere Untersuchungen notwendig (Roura, Bayes-Genis, 2009).

Ein wichtiges Merkmal der DCM ist die Fibrose im Myokard. Der Entstehung der Fibrose liegen komplexe Mechanismen zu Grunde, die noch nicht vollständig verstanden sind. Charakteristisch ist die vermehrte Anhäufung von Kollagen, das zur Ventrikelversteifung und diastolischer Funktionsstörung führen kann. Im gesunden Herzen ist die Extrazellulärmatrix (EZM) eine feinregulierte Homöostase aus Auf- und Abbau der einzelnen Komponenten. Die gewebeständigen Fibroblasten sind die Hauptregulatoren und produzieren neben den EZM-Faktoren auch Matrix-Metalloproteasen (MMP) und deren Inhibitoren (TIMP) (Kania et al, 2009). Das System der MMP und TIMP hat nicht nur die Fähigkeit die EZM abzubauen, sie beeinflussen auch das Inflammationsgeschehen durch Förderung der Migration der Entzündungszellen und Aktivierung von proinflammatorischen aber auch antiinflammatorischen Zytokinen. In Mausmodellen konnten die Funktionen von einzelnen MMPs und TIMPs charakterisiert werden (Papageorgiou, Heymans, 2012). An der kardialen Fibrose im Rahmen von Myokarditis und DCM sind nicht nur die herzständigen Fibroblasten beteiligt, sondern auch eingewanderte Fibroblasten aus dem Knochenmark. In Mausmodellen wurde ein Anteil von bis zu 60% Knochenmark-Fibroblasten bei durch autoimmune Inflammation ausgelösten DCM gefunden (Kania et al, 2009). Welche Veränderungen in der EZM durch die Inflammationsprozesse stattfinden, wurde in einer

Untersuchung an Coxackie-vulnerablen Mäusen im Rahmen einer virusinduzierten Kardiomyopathie untersucht. Dabei wurden eine Vermehrung von Kollagen, Laminin und anderen EZM-Proteinen und eine Verminderung der Muskelproteine, wie Myosin und Troponin, in den Herzen der Mäuse gefunden (Nishtala et al, 2011). Der Auslöser für die Veränderungen in der EZM wird in inflammatorischen Prozessen vermutet. Den Zytokinen kommt eine große Bedeutung zu, indem sie die gewebeständigen Fibroblasten aktivieren und die Einwanderung von Entzündungszellen und Fibroblasten aus dem Knochenmark fördern. Dabei hat TGF- $\beta$  eine Schlüsselrolle, denn es induziert die Reifung von Fibroblasten zu pathologischen Myofibroblasten. Eine Inhibition von TGF- $\beta$  durch Antikörper verhindert die Ausbildung von Fibrose und DCM nach Inflammation. Ein weiterer Faktor ist Angiotensin II, es fördert die Proliferation von Fibroblasten und die Bildung von EZM-Proteinen. In dieser Form sind viele Faktoren bekannt, die die Entstehung der Fibrose beeinflussen (Kania et al, 2009). Signalmoleküle im Rahmen der Fibroseentstehung können in der Diagnostik des DCM-Patienten genutzt werden, um den aktuellen Krankheitszustand und eine mögliche Prognose zu beurteilen. Tenascin C ist im Serum von DCM-Patienten erhöht und wird nur im Rahmen von Remodelingvorgängen im Herzen exprimiert. Durch Tenascin C werden die Verbindungen von Kardiomyozyten und Bindegewebe gelöst und MMPs aktiviert. Somit ist es an der ventrikulären Dilatation und den ersten Schritten der Entstehung der Fibrose beteiligt. Erhöhte Werte im Serum sind mit erhöhter Hospitalisierungs- und Herztodrate verbunden. Somit kann das Risiko des Patienten eingeschätzt werden. Da Tenascin C besonders in inflammatorischen Läsionen exprimiert wird, kann es auch als Marker für die Beteiligung von Inflammation im Myokard genutzt werden (Fujimoto et al, 2009; Terasaki et al, 2007). Weitere Marker sind in Untersuchung. Darunter auch Osteopontin, das eine Rolle in den Signalwegen der Inflammation, Remodeling und Fibrose nach Myokarditis spielt. Erhöhte Plasmaspiegel treten aber auch bei anderen entzündlichen Vorgängen im Körper auf, sodass Osteopontin als ein unspezifischer Marker für aktive immunologische Reparaturprozesse angesehen wird (Klingel, Kandolf, 2010).

In DCM-Hezen konnten Veränderungen im Energiestoffwechsel als ein Krankheitsfaktor nachgewiesen werden. In seinem Versuch zeigte Nishtala et al eine Verminderung von Proteinen des Energiestoffwechsels insbesondere die der  $\beta$ -Oxidation der Fettsäuren. Die Proteine jeder Schritte der Fettsäureoxidation waren betroffen. Auch in der Atmungskette gab es Störungen durch Verminderung einzelner Proteine. Aus diesen Befunden kann man

auf einen chronischen Mangel an ATP im DCM-Herzen schließen (Nishtala et al, 2011). Durch metabolische Bildgebung mit markierten Substraten des Glukose- und Fettstoffwechsels konnten auch beim Menschen Veränderungen festgestellt werden. Der Sauerstoff-Metabolismus war proportional zur Störung der linksventrikulären Funktion vermindert und es wurde mehr Sauerstoff für dieselbe kontraktile Arbeit benötigt als im gesunden Herzen. Diese Befunde weisen auf eine unabhängige Störung in den Mitochondrien hin. Auch der verminderte myokardiale Blutfluss konnte nachgewiesen werden mit Nachweis von Mismatch von verminderten Blutfluss und erhöhter Glukoseausschöpfung, wie es bei Ischämie der Fall ist (Negila et al, 2002). Die Verbindung von verminderter Blutversorgung und gestörten Energiestoffwechsel weist auf eine massive Unterversorgung des Myokards bei DCM hin. Die Frage, ob die vaskulären und energetischen Veränderungen vielleicht bei der Entstehung der DCM eine Rolle spielen, muss in weiteren Studien geklärt werden.

Einige Veränderungen im Rahmen der DCM-Erkrankung können Ansätze für neue Therapien sein. Mechanische Dysynchronität des linken Ventrikels ist bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz und breitem QRS-Komplex allgemein bekannt, aber auch Patienten mit neu aufgetretener Kardiomyopathie und schmalen QRS-Komplex haben linksventrikuläre Dysynchronität und profitieren von ihrer Behandlung. Die mechanische Dysynchronität wurde als wichtiger Mechanismus mit Folge der Progredienz der Herzinsuffizienz und des linksventrikulären Remodelings identifiziert (Takana et al, 2011). Die Hemmung der Mineralkortikoidrezeptoren wird therapeutisch durch die Anwendung der Aldosteronantagonisten genutzt. In Untersuchungen im Mausmodell konnte eine Aktivierung dieser Rezeptoren auch durch Inflammation gezeigt werden mit dem Resultat von erhöhten oxidativen Stress und Remodeling (Wilson et al, 2009). Weitere Ansätze sind z.B. die Proteinabbausysteme, wie das Ubiquitin-Proteasom-System, die bei Remodeling und Apoptoseinduktion eine Rolle spielen und mögliche Ziele für therapeutische Strategien sein können (Luo et al, 2010).

## 7. Schlussfolgerungen

Als Prädiktoren für eine ungünstige Prognose bei dilatativer Kardiomyopathie bestätigten sich NYHA-Stadium III und IV sowie schlechte Echo-EF und LVEDD-Werte. Zusammen mit dem BNP eignen sich diese klinischen Parameter für das Einschätzen der Prognose. Die Einnahme von Beta-Blockern ergibt einen eindeutigen Überlebensvorteil für Patienten mit DCM und sollte deshalb nach Möglichkeit immer mit zur Standardtherapie gehören. Der positive Effekt der Beta-Blocker wurde auch in anderen Studien für DCM- und Myokarditispatienten nachgewiesen. Diuretika und Glycoside werden in fortgeschrittenen Krankheitsstadien verabreicht und sind daher mit einem höheren NYHA-Stadium und schlechterer Prognose verbunden.

Der Nachweis von Virusgenom in der EMB bei DCM-Patienten ist ein häufiger Befund. In dieser Arbeit ergab sich kein Einfluss von Viren im Myokard auf die Prognose der Erkrankung. Auch für die EV im Speziellen, für die ein direkter Schädigungsmechanismus über die Protease 2A bekannt ist, konnte keine Verschlechterung des Überlebens mit DCM festgestellt werden. Für PVB19 bestätigt sich seine mögliche Rolle als harmloser Bystander im Myokard. Damit ergibt sich klinisch kein Unterschied zwischen den Patientengruppen in der Symptompräsentation und alle Patienten profitieren gleichermaßen von einer konsequenten Standard-Herzinsuffizienztherapie. Bisher konnte auch in Studien zu antiviralen Therapien keine Beeinflussung des Überlebens und nur teilweise Verbesserung der klinischen Parameter erreicht werden. Die Bedeutung des Virusgenomnachweises in der Ätiologie der DCM bleibt weiterhin unklar. Der Ablauf von der Virusmyokarditis zu DCM in den drei Phasen Virusinfektion, Inflammation und Remodeling ist bisher nur in Mausmodellen nachgewiesen. Beim Menschen stellt sich die Unterscheidung zum Verlauf der idiopathischen DCM schwierig dar, bei der ebenfalls eine Inflammation im Verlauf und persistierendes Virusgenom auftreten kann. Die hohe Rate an Virusgenomnachweis bei Patienten mit Normalbefund ergibt die Vermutung, dass diese Persistenz ein Zeichen abgelaufener Infektion ähnlich dem IgG-Antikörper im Serum sein kann. Die von der WHF klassifizierte virale Kardiomyopathie stellt somit nur eine vermutete Ätiologie dar und hat keinen Einfluss auf die klinische Beurteilung und Therapie der Patienten. Die klinischen Studien zu antiviralen Therapie mit Interferonen oder Immunglobulinen zeigen uneinheitliche Ergebnisse mit meist keiner Verbesserung der Prognose. Damit erübrigen sich

diese Therapieansätze für DCM-Patienten, da sie auch teuer sind und Nebenwirkungen verursachen.

Die myokardiale Inflammation im Rahmen der DCM wurde von der WHF als inflammatorische Kardiomyopathie definiert. Im Vergleich zu den Patienten ohne Inflammation schnitten die Patienten mit iDCM bei den klinischen Parametern wie der Echo-EF signifikant besser ab, auch beim transplantatfreien Überleben waren die Ergebnisse tendenziell besser, wenn auch nicht signifikant. In den Kontrolluntersuchungen glichen sich die echokardiographischen Werte an. Für die Entstehung der DCM gibt es zwei bestehende Theorien. Die eine befasst sich mit der Inflammation im Rahmen der Virusmyokarditis, die durch ein Ungleichgewicht in den einzelnen Faktoren des Immunsystems persistiert und zu einem fortschreitenden Myokardschaden führt. Erkenntnisse hierzu wurden hauptsächlich in Mausmodelle gewonnen. In der zweiten Theorie sind Autoimmunität und Autoantikörperbildung als Mechanismen verantwortlich für die Ausbildung der DCM. Hinweise auf genetische Prädisponierung durch z.B. HLA-Genvarianten existieren. Hier gehen die Vermutungen bis zur Einordnung der DCM in die Autoimmunerkrankungen. Entsprechende immunsupprimierende Therapien zeigen in Studien uneinheitliche Ergebnisse. Nicht in Betracht gezogen wurde die Inflammation als Symptom der DCM-Erkrankung. Auch bei anderen Erkrankungen des Myokards ist Inflammation nachweisbar. Es fehlen Studien, die den natürlichen Verlauf der DCM-Erkrankung unter aktueller standardisierter Herzinsuffizienztherapie untersuchen und Patienten von der Erstdiagnose an mit regelmäßigen Folgebiopsien begleiten. Damit könnte die Rolle und der Verlauf der Inflammation genauer charakterisiert und der vermutete Nutzen von den derzeit in Studien untersuchten immunsuppressiven Therapieansätzen relativiert werden.

Neben dem Virusnachweis und der Inflammation existieren weitere Faktoren, die in der Entstehung der DCM eine Rolle spielen können. Die Funktion des Endothels und die myokardiale Blutversorgung sind nicht nur zu beachtende Faktoren für die Inflammation, sie können möglicherweise auch selbst eine DCM auslösen. Die Entstehung der Fibrose und Veränderungen im Energiestoffwechsel im Myokard bleiben ebenfalls Gegenstand der wissenschaftlichen Untersuchungen zur Entstehung und dem Verlauf der DCM.



## Literaturverzeichnis

- Ahmad S, Singh Rai T, Khullar M, Bahl A, Saikia UN, Thungapathra M, Kumar RM, Mahajan R, Talwar KK: Decreased Myokardial Expression of Dystrophin and Titin mRNA and Protein in Dilated Cardiomyopathy: Possibly an Adverse Effect of TNF- $\alpha$ , *Journal of Clinical Immunology* 30: 520-530, 2010
- Ameling S, Herda LR, Hammer E, Steil L, Teumer A, Trimpert C, Dörr M, Kroemer HK, Klingel K, Kandolf R, Völker U, Felix SB: Myocardial gene expression profiles and Cardiodepressant autoantibodies predict response of patients with dilated cardiomyopathy to immunoadsorption therapy, *European Heart Journal* Advanced Access published October 25, 2012
- Arbustini A, Morbini P, Pilotto A, Gavazzi A, Tavazzi L: Genetics of Idiopathic Dilated Cardiomyopathy, *Herz* 25 (3): 156-160, 2000
- Badorff C, Lee GH, Lamphear BJ, Martone ME, Campell KP, Rhoads RE, Knowlton KU: Enteroviral protease 2A cleaves dystrophin: Evidence of cytoskeletal disruption in an acquired cardiomyopathy, *Nature Medicine* 5: 320-326, 1999
- Badorff C, Knowlton KU: Dystrophin disruption in enterovirus-induced myocarditis and dilated cardiomyopathy: from bench to bedside, *Medical Microbiology and Immunology* 193: 121-126, 2004
- Baldeviano GC, Barin JG, Talor MV, Srinivasan S, Bedja D, Zheng D, Gabrielson K, Iwakura Y, Rose NR, Cihakova D: Interleukin-17A Is Dispensable for Myocarditis but Essential for the Progression to Dilated Cardiomyopathy, *Circulation Research* 106: 1646-1655, 2010
- Baughman KL: Diagnosis of Myocarditis Death of Dallas Criteria, *Circulation* 113: 593-595, 2006
- Bennett SJ, Oldridge NB, Eckert GJ, Embree JL, Browning S, Hou N, Deer M, Murray MD: Discriminant properties of commonly used quality of life measures in heart failure, *Quality of Life Research* 11: 349-359, 2002
- Bielecka-Dabrowa A, Wierzbicka M, Dabrowa M, Goch A: New methods in laboratory diagnostics of dilated cardiomyopathy, *Cardiology Journal* 15 (4): 388-395, 2008

- Bulut D, Schleeler M, Niedballa LM, Miebach T, Mügge A: Effects of immunoadsorption on endothelial function, circulating endothelial progenitors cells and circulating microparticles in patients with inflammatory dilated cardiomyopathy, *Clinical Research Cardiology* 2011
- Bulut D, Schleeler M, Wichmann T, Börgel J, Miebach T, Mügge A: Effect of protein A immunoadsorption on T cell activation in patients with inflammatory dilated cardiomyopathy, *Clinical Research Cardiology* 99: 633-638, 2010
- Caforio ALP, Vinci A, Iliceto S: Anti-heart antibodies in familial dilated cardiomyopathy, *Autoimmunity* 41 (9): 462-469, 2008
- Calabrese F, Thiene G: Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: microbiological and molecular biological aspects, *Cardiovascular Research* 60: 11-25, 2003
- Cevik C, FESC, Nugent K, Perez-Verdia A, Fish RD, FAHA: Prophylactic Implantation of Cardioverter Defibrillators in Idiopathic Nonischemic Cardiomyopathy for the Primary Prevention of Death: A Narrative Review, *Clinical Cardiology* 33: 254-260, 2010
- Cruz-Adalia A, Jiménez-Borreguero LJ, Ramírez-Huesca M, Chico-Calero I, Barreiro O, López-Conesa E, Fresno M, Sánchez-Madrid F, Martín P: CD69 Limits the Severity of Cardiomyopathy after Autoimmune Myocarditis, *Circulation* 122: 1396-1404, 2010
- Cooper LT, Baughmann KL, Feldmann AM, Frustaci A, Jessup M, Kuhl U, Levine GN, Narula J, Starling RC, Towbin J, Virmani R: The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease A Scientific Statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology, *European Heart Journal* 28: 3076-3093, 2007
- Cooper LT, Virmani R, Chapman NM, Frustaci A, Rodeheffer RJ, Cunningham MW, McNamara DM: National Institutes of Health-Sponsored Workshop on Inflammation and Immunity in Dilated Cardiomyopathy, *Mayo Clinic Proceedings* 81(2): 199-204, 2006
- Deo R, MacRae CA: The genetics of cardiomyopathies: what clinicians should know, *Current Heart Failure Reports* 4, (4): 229-235, 2007
- Doerr HW, Gerlich WH: Medizinische Virologie – Grundlagen, Diagnostik, Prävention und Therapie viraler Erkrankungen, 447-477, 2010
- Dutak E, Lubinski A, Bissinger A, Przybylski A, Sterlinski M, Filipecki A, Pazdyga A, Zienciuk A, Królak T, Szwed H, Trusz-Gluza M, Kargul W: Recurrence of ventricular arrhythmias in

- patients with non-ischaemic dilated cardiomyopathy: evidence-based predictors, *Kardiologia Polska* 67 (8): 837-844, 2009
- Ekman A, Hokynar K, Kakkola L, Kantola K, Hedman L, Bonén H, Gessner M, Aberham C, Norja P, Miettinen S, Hedman K, Söderlund-Venermo M: Biological and immunological relations among human parvovirus genotypes 1 to 3, *Journal of Virology* 81 (13): 6927-6935, 2007
- Elliott P, Andersson B, Arbustin E, et al: Classification of the Cardiomyopathies: a position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases, *European Heart Journal* 29: 270-276, 2008
- Felix SB, Dörr M, Herda LR, Beug D, Staudt A: Immunadsorption als Therapieverfahren der dilatativen Kardiomyopathie, *Internist* 49: 51-56, 2008
- Felix SB, Staudt A: Immunoadsorption as treatment option in dilated cardiomyopathy, *Autoimmunity* 41 (6): 484-489, 2008
- Figulla HR, Stille-Siegener M, Mall G, Heim A, Kreuzer H: Myocardial Enterovirus Infection With Left Ventricular Dysfunction: A Benign Disease Compared With Idiopathic Dilated Cardiomyopathy, *Journal of the American College of Cardiology* 25 (5): 1170-1175, 1995
- Frustaci A, Russo MA, Chimenti C: Randomized study on the efficacy of immunosuppressive therapy in patients with virus-negative inflammatory cardiomyopathy: the TIMIC study, *European Heart Journal* 30: 1995-2002, 2009
- Fujimoto N, Onishi K, Sato A, Terasaki F, Tsukada B, Nozato T, Yamada T, Imanaka-Yoshida K, Yoshida T, Ito M, Hiroe M: Incremental Prognostic Values of Serum Tenascin-C Levels With Blood B-type Natriuretic Peptide Testing at Discharge in Patients With Dilated Cardiomyopathy and Decompensated Heart Failure, *Journal of Cardiac Failure* 15 (10): 898-905, 2009
- Glück B: Die Zytokinantwort in der enteroviral-induzierten Myokarditis, *Aktuelle Aspekte der Enterovirus-Forschung*: 69-78, 2002
- Grimm W, Alter P, Maisch B: Arrhythmia Risk Stratification with Regard to Prophylactic Implantable Defibrillator Therapy in Patients with Dilated Cardiomyopathy, *Herz* 29 (3): 348-352, 2004
- Grimm W, Christ M, Bach J, Müller HH, Maisch B: Noninvasive arrhythmia risk stratification in idiopathic dilated cardiomyopathy: results of the Marburg Cardiomyopathy Study,

- Circulation 108: 2883-2891, 2003
- Harding P, Yang XP, Yang J, Shesely E, He Q, LaPointe M: Gene expression profiling of dilated cardiomyopathy in older male EP4 knockout mice, *AJP-Heart and Circulatory Physiology* 298: H623-H632, 2010
- Hubner SA, Feldmann AM, Sartini D: Coxsackievirus B3 induces T regulatory cells, which inhibit cardiomyopathy in tumor necrosis factor-alpha transgenic mice, *Circulation Research* 99: 1109-1116, 2006
- Hufnagel G, Pankuweit S, Richter A, Schönain U, Maisch B: The European Study of Epidemiology and Treatment of Cardiac Inflammatory Diseases (ESETCID) – First Epidemiological Results, *Herz* 25 (3): 279-285, 2000
- Iakovis P, Anyfantakis AZ, Limas C, Kroupis C, Degiannis D, Cokkinos DV: Increased inflammatory Response in Patients With Dilated Cardiomyopathy Is Associated With Dyslipidemia: Effects of Statin Therapy, *Angiology* 62: 55-61, 2011
- Jahns R, Schlipp A, Boivin V, Lohse MJ: Targeting Receptor Antibodies in Immune Cardiomyopathy, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 36 (2): 212-218, 2010
- Jefferies JL, Towbin JA: Seminar Dilated Cardiomyopathy, *The Lancet* 375 (9716): 752-762, 2010
- Kania G, Blyszczuk P, Eriksson U: Mechanisms of Cardiac Fibrosis in Inflammatory Heart Disease, *Trends Cardiovascular Medicine* 19 (8): 247-252, 2009
- Kindermann I, Barth C, Mahfoud F, Ukena C, Lenski M, Yilmaz A, Klingel K, Kandolf R, Sechtem U, Cooper LT, Böhm M: Update on Myocarditis, *Journal of the American College of Cardiology* 59 (9): 779-792, 2012
- Kindermann I, Kindermann M, Kandlof R, Klingel K, Bültmann B, Müller T, Lindinger A, Böhm M: Predictors of Outcome in Patients With Suspected Myocarditis, *Circulation* 118: 639-648. 2008
- Klingel K, Kandolf R: Osteopoetin:A Biomarker to Predict the Outcome of Inflammatory Heart Disease, *Seminars in Thrombosis and Hemostasis* 36: 195-202, 2010
- Koepsell SA, Anderson DR, Radio SJ: Parvovirus B19 is a bystander in adult myocarditis, *Cardiovascular Pathology (Online Publication)*, 2012
- Kühl U, Noutsias M, Schultheiss HP: Immunohistochemistry in dilated cardiomyopathy, *European Heart Journal* 16 (Supplement O): 100-106, 1995
- Kühl U, Pauschinger M, Noutsias M, Kapp JF, Schultheiss HP: Diagnosis and treatment of

- patients with virus induced inflammatory cardiomyopathy, *European Heart Journal Supplements* 4: 173-180, 2002
- Kühl U, Pauschinger M, Schwimmbeck PL, Seeberg B, Lober C, Noutsias M, Poller W, Schultheiss HP: Interferon-beta treatment eliminates cardiotropic viruses and improves left ventricular function in patients with myocardial persistence of viral genomes and left ventricular dysfunction, *Circulation* 107 (22): 2793-2798, 2003
- Kühl U, Pauschinger M, Noutsias M, Seeberg B, Bock T, Lassner D, Poller W, Kandlof R, Schultheiss HP: High Prevalence of Viral Genomes and Multiple Infections in the Myocardium of Adults With "Idiopathic" Left Ventricular Dysfunction, *Circulation* 111: 887-893, 2005 (1)
- Kühl U, Pauschinger M, Seeberg B, Lassner D, Noutsias M, Poller W, Schultheiss HP: Viral Persistence in the Myocardium Is Associated With Progressive Cardiac Dysfunction, *Circulation* 112: 1965-1970, 2005 (2)
- Kühl U, Lassner D, Pauschinger M, Gross UM, Seeberg B, Noutsias M, Poller W, Schultheiss HP: Prevalence of erythrovirus genotypes in the myocardium of patients with dilated cardiomyopathy, *Journal of Medical Virology* 80 (7): 1243-1251, 2008
- Kueth F, Braun RK, Foerster M, Schlenker Y, Sigusch HH, Kroegel C, Figulla HR: Immunopathogenesis of Dilated Cardiomyopathy. Evidence of the Role of TH2-Type CD4+T Lymphocytes and Association with Myocardial HLA-DR Expression, *Journal of Clinical Immunology* 26 (1): 33-39, 2006
- Kueth F, Lindner J, Matschke K, Wentzel JJ, Norja P, Ploetze K, Schaal S, Kamvissi V, Bornstein SR, Schwanebeck U, Modrow S: Prevalence of Parvovirus B19 and Human Bocavirus DNA in the Heart of Patients with no Evidence of Dilated Cardiomyopathy or Myocarditis, *Clinical Infectious Diseases* 49: 1660-1666, 2009
- Kueth F, Sigusch HH, Hilbig K, Tresselt C, Glück B, Egerer R, Figulla HR: Detection of viral genome in the myocardium: Lack of prognostic and functional relevance in patients with acute dilated cardiomyopathy, *American Heart Journal* 153 (5): 850-858, 2007
- Leipner C: Die Modulation der Coxsackievirus-B3-Infektion durch das adaptive Immunsystem, *Aktuelle Aspekte der Enterovirus-Forschung*: 56-68, 2002
- Li K, Wu W, Guo Q, Jiang Z, Wang P, Yue Y, Xiong S: Differential macrophage polarization in male and female BALB/c mice infected with coxsackievirus B3 defines susceptibility to viral myocarditis, *Circulation Research* 105 (4): 353-364, 2009

- Lotze U, Egerer R, Glück B, Zell R, Sigusch H, Erhardt C, Heim A, Kandolf R, Bock T, Wutzler P, Figulla HR: Low Level Myocardial Parvovirus B19 Persistence Is a Frequent Finding in Patients With Heart Disease But Unrelated to Ongoing Myocardial Injury, *Journal of Medical Virology* 82: 1449-1457, 2010
- Lotze U, Egerer R, Tresselt C, Glück B, Dannberg G, Stelzner A, Figulla HR: Frequent detection of parvovirus B19 genome in the myocardium of adult patients with idiopathic dilated cardiomyopathy, *Medical Microbiology and Immunology* 193 (2-3): 75-82, 2004
- Luo H, Wong J, Wong B: Protein degradation systems in viral myocarditis leading to dilated cardiomyopathy, *Cardiovascular Research* 85: 347-356, 2010
- Maekawa Y, Ouzounian M, Opavsky AM, Liu PP: Connecting the Missing Link Between Dilated Cardiomyopathy and Viral Myocarditis, *Circulation* 115: 5-8, 2007
- Mahon NG, Zal B, Arno G, Risley P, Pinto-Basto J, McKenna WJ, Davies MJ, Baboonian C: Absence of viral nuclear acids in early and late dilated cardiomyopathy, *Heart Journal* 86: 687-692, 2001
- Maisch B: Einteilung der Kardiomyopathien nach der WHO/ISFC Task Force – Mehr Fragen als Antworten?, *Medizinische Klinik* 93 (4): 199-209, 1998
- Maisch B, Hufnagel G, Kölsch S, Funck R, Richter A, Rupp H, Herzum M, Pankuweit S: Treatment of Inflammatory Dilated Cardiomyopathy and (Peri)Myocarditis with Immunosuppression and i.v. Immunoglobulins, *Herz* 29 (6): 624-636, 2004
- Maisch B, Portig I, Ristic A, Hufnagel G, Pankuweit S: Definition of Inflammatory Cardiomyopathy (Myocarditis): On the Way to Consensus, *Herz* 25 (3): 200-209, 2000
- Maisch B, Richter A, Sandmüller A, Portig I, Pankuweit S: Inflammatory Dilated Cardiomyopathy (DCMI), *Herz* 30 (6): 535-544, 2005
- Maisch B, Pankuweit S: Therapie der fortgeschrittenen Herzinsuffizienz: medikamentös, Resynchronisation (CRT), Operation, *Herz* 35: 94-101, 2010
- Maron BJ, Towbin JA, Thiene G, et al: Contemporary definitions and classification of the cardiomyopathies: an American Heart Association scientific statement from the Council of Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council of Epidemiology and Prevention, *Circulation* 113: 1807-16, 2006
- Marchant DJ, Boyd JH, Lin DC, Granville DJ, Gramaroudi FS, McManus BM: Inflammation in

- Myocardial Diseases, *Circulation Research* 110: 126-144, 2012
- Mason JW, O'Connell JB, Herskowitz A, Rose NR, McManus BM, Billingham ME, Moon TE: A clinical trial of immunosuppressive therapy for myocarditis. The Myocarditis Treatment Trial Investigators, *New England Journal of Medicine* 333: 269-275, 1995
- McNamara DM, Starling RC, Cooper LT, Boehmer JP, Mather PJ, Janosko KM, Gorcsan J, Kip KE, Dec GW: Clinical and Demographic Predictors of Outcomes in Recent Onset Dilated Cardiomyopathy, *Journal of the American College of Cardiology* 58 (11): 1112-1118, 2011
- Merkle I, Leipner C: Murine Coxsackievirus-Infektionen als Modell der menschlichen dilatativen Kardiomyopathie, *Aktuelle Aspekte der Enteroviren-Forschung*: 38-44, 2002
- Modrow S: Parvovirus B19: the causative agent of dilated cardiomyopathy or a harmless passenger of the human myocard?, *Ernst Schering Res. Found. Workshop* 55: 63-82, 2006
- Negila D, Michelassi C, Trivieri MG, Sambuceti G, Giorgetti A, Pratali L, Gallopin M, Salvadori P, Sorace O, Carpeggiani C, Poddighe R, L'Abbate A, Parodi O: Prognostic Role of Myocardial Blood Flow Impairment in Idiopathic Left Ventricular Dysfunction, *Circulation* 105: 186-193, 2002
- Negila D, Sambuceti G, Iozzo P, L'Abbate A, Strauss W: Myocardial metabolic and receptor imaging in idiopathic dilated cardiomyopathy, *European Journal of Nuclear Medicine* 29 (10): 1403-1413, 2002
- Nishtala K, Phong TQ, Steil L, Sauter M, Salazar MG, Kandolf R, Kroemer HK, Felix SB, Klingel K, Hammer E: Virus-induced dilated cardiomyopathy is characterized by increased levels of fibrotic extracellular matrix proteins and reduced amounts of energy-producing enzymes, *Proteomics* 11: 4310-4320, 2011
- Norja P, Hokynar K, Aaltonen LM, Chen R, Ranki A, Partio EK, Kiviluoto O, Davidkin I, Leivo T, Eis-Hübinger AM, Schneider B, Fischer HP, Tolba R, Vapalahti O, Vaheri A, Söderlund-Venermo M, Hedman K: Bioportfolio: Lifelong persistence of variant and prototypic erythrovirus DNA genomes in human tissue, *Proc Natl Acad Sci USA* 103 (19): 7450-7453, 2006
- Noutsias M, Pankuweit S, Maisch B: Biomarkers in Inflammatory and Noninflammatory Cardiomyopathy, *Herz* 34: 614-623, 2009

- Onyimba JA, Coronado MJ, Garton AE, Kkim JB, Bucet A, Bedja D, Gabrielson KL, Guilarte TR, Fairweather D: The innate immune response to coxsackievirus B3 predicts progression to cardiovascular disease and heart failure in male mice, *Biology of Sex Differences* 2: 2-14, 2011
- Pankuweit S, Richter A, Ruppert V, Maisch B: Familiäre Prädisposition und mikrobielle Ätiologie bei dilatativer Kardiomyopathie, *Herz* 34: 110-116, 2009 (1)
- Pankuweit S, Maisch B: Das Herz bei viralen Infektionen, *Internist* 51: 836-843, 2010
- Pankuweit S, Richter A, Ruppert V, Maisch B: Kardiomyopathien und Myokardbiopsie im Spiegel der neuen Klassifikationen, *Herz* 34: 55-62, 2009 (2)
- Papageorgiou AP, Heymans S: Interactions between the extracellular matrix and inflammation during viral myocarditis, *Immunobiology* 217: 503-510, 2012
- Parrillo JE: Inflammatory Cardiomyopathy (Myocarditis) Which Patients Should Be Treated With Anti-Inflammatory Therapy?, *Circulation* 104: 4, 2001
- Pauschinger M, Doerner A, Kuehl U, Schwimmbeck PL, Poller W, Kandolf R, Schultheiss HP: Enteroviral RNA replication in the myocardium of patients with left ventricular dysfunction and clinical suspected myocarditis, *Circulation* 99 (7): 889-895, 1999
- Pauschinger M, Bowles NE, Fuentes-Garcia FJ, Pham V, Kuhl U, Schwimmbeck PL, Schultheiss HP, Towbin JA: Detection of adenoviral genome in the myocardium of adult patients with idiopathic left ventricular dysfunction, *Circulation* 99 (10): 1348-1354, 1999
- Pinkert S, Westermann D, Wang X, Klingel K, Dörner A, Savvatis K, Größl T, Krohn S; Tschöpe C, Zeichhardt H, Kotsch K, Weitmann K, Hoffmann W, Schultheiss HP, Spiller OB, Poller W, Fechner H: Prevention of Cardiac Dysfunction in Acute Coxsackievirus B3 Cardiomyopathy by Inducible Expression of a Soluble Coxsackievirus-Adenovirus Receptor, *Circulation* 120: 2358-2366, 2009
- Poller W, Fechner H, Noutsias M, Tschöpe C, Schultheiss HP: Highly variable expression of virus receptors in the human cardiovascular system, *Zeitschrift für Kardiologie* 91 (12): 978-991, 2002
- Prochorec-Sobieszek M, Bilinska ZT, Grzybowski J, Mazurkiewicz L, Skwarek M, Walczak E, Michalak E, Cedro K, Chmielak Z, Debski A, Demkow M, Witkowski A, Wagner T, Ruzytto W: Assessment of the inflammatory process by endomyocardial biopsy in patients with dilated cardiomyopathy based on pathological and immunohistochemical methods, *Kardiologia Polska* 64 (5): 479-487, 2006



- Pummerer CL, Grassl G, Sailer M, Bachmaier KV; Penninger JM, Neu N: Cardiac myosin – induced myocarditis : target recognition by autoreactive T cells requires prior activation of cardiac interstitial cells, *Lab Invest* 74: 845-852, 1996
- Rose NR: Myocarditis: Infection Versus Autoimmunity, *Journal of Clinical Immunology* 29: 730-737, 2009
- Roura S, Bayes-Genis A: Vascular dysfunction idiopathic dilated cardiomyopathy, *Nature Review Cardiology* 6: 590-598, 2009
- Roura S, Planas F, Prat-Vidal C, Leta R, Soler-Botija C, Carreras F, Llach A, Hove-Madsen L, Lladó GP, Farré J, Cinca J, Bayes-Genis A: Idiopathic dilated cardiomyopathy exhibits defective vascularization and vessel formation, *European Journal of Heart Failure* 9: 995-1002, 2007
- Ruppert V, Meyer T, Balbach A, Richter A, Müller HH, Maisch B, Pankuweit S: Genotype-Specific Effects on Left Ventricular Function in Parvovirus B19-Positive Patients With Dilated Cardiomyopathy, *Journal of Medical Virology* 83: 1818-1825, 2011
- Sagar S, Liu PP, Cooper LT: Myocarditis, *Lancet* 379: 738-47, 2012
- Schenk T, Enders M, Pollak S, Hahn R, Huzly, D: High Prevalence of Human Parvovirus B19 DNA in Myocardial Autopsy Samples from Subjects without Myocarditis or Dilated Cardiomyopathy, *Journal of Clinical Microbiology* 47 (1): 106-110, 2009
- Schmidtke M, Zautner A, Hammerschmidt E: Bedeutung von Rezeptoren und Mutationen in viralen Hüllproteinen für die Pathogenese von Enterovirusinfektionen, *Aktuelle Aspekte der Enterovirus-Forschung*: 45-55, 2002
- Schultheiss HP, Kühl U: Stand der Diagnostik und Therapie der inflammatorischen Kardiomyopathie, *Internist* 49: 7-16, 2008: 2616-2625, 2011
- Schultheiss HP, Kühl U, Cooper LT: Management of myocarditis, *European Heart Journal* 32: 2616-2625, 2011
- Shi Y, Fukuoka M, Li G, Liu Y, Chen M, Konviser M, Chen X, Opavsky MA, Liu PP: Regulatory T Cells Protect Mice Against Coxsackievirus-Induced Myocarditis Through the Transforming Growth Factor  $\beta$ -Coxsackie-Adenovirus Receptor Pathway, *Circulation* 121: 2624-2634, 2010
- Stolen KQ, Kempainen J, Kalliokoski KK, Karanko H, Toikka J, Janatuinen T, Raitakari OT,

- Airakisinen KEJ, Nuutia P, Knuuti J: Myocardial Perfusion Reserve and Peripheral Endothelial Function in Patients With Idiopathic Dilated Cardiomyopathy, *The American Journal of Cardiology* 93: 64-68, 2004
- Tanaka H, Tanabe M, Simon MA, Starling RC, Markham D, Thohan V, Mather P, McNamara DM, Gorcsan J: Left Ventricular Mechanical Dyssynchrony in Acute Onset Cardiomyopathy, *JACC: Cardiovascular Imaging* 4 (5): 445-456, 2011
- Tatrai E, Bedi K, Kovalszky I, Hartyanszky I, Laszik A, Acsady G, Sotonyi P, Hubay M: No mutation but high mRNA expression of Coxsackie-Adenovirus Receptor was observed in both dilated and ischemic cardiomyopathy, *Forensic Science International* 212: 47-50, 2011
- Terasaki F, Okamoto H, Onishi K, Sato A, Shimomura H, Tsukada B, Imanaka-Yoshida, Hiroe M, Yoshida T, Kitaura Y, Kitabatake A: Higher Serum Tenascin-C Levels Reflect the Severity of Heart Failure, Left Ventricular Dysfunction and Remodeling in Patients With Dilated Cardiomyopathy, *Circulation Journal* 71: 327-330, 2007
- Trimpert C, Herda LR, Eckerle LG, Pohle S, Müller C, Landsberger M, Felix SB, Staudt A: Immunoabsorption in dilated cardiomyopathy: long-term reduction of cardiodepressant antibodies, *Eur J Clin Invest* 40 (8): 685–691, 2010
- Wilson P, Morgan J, Funder JW, Fuller PJ, Young MJ: Mediators of mineralocorticoid receptor-induced profibrotic inflammatory responses in the heart, *Clinical Science* 116: 731-739, 2009
- Why HJF, Meany BT, Richardson PJ, Olsen EGJ, Bowles NE, Cunningham L, Freeke CA, Archard LC: Heart Failure / Cardiac Transplantation / Artificial Heart Disease: Clinical and Prognostic Significance of Detection of Enteroviral RNA in the Myocardium of Patients With Myocarditis or Dilated Cardiomyopathy, *Circulation* 89 (6): 2582-2589, 1994
- Wojnicz R, Nowalany-Kozielska E, Wojciechowska C, Glanowska G, Wilczewski P, Niklewski T, Zembala M, Polonski L, Rozek M, Wodniecki J: Randomized, Placebo-Controlled Study for Immunosuppressive Treatment of Inflammatory Dilated Cardiomyopathy – Two Years Follow Up Results, *Circulation* 104: 39-45, 2001
- Woodruff JF, Woodruff JJ: Involvement of T lymphocytes in the pathogenesis of coxsackie virus B3 heart disease, *Journal of Immunology* 113: 1723-1726, 1974
- Xiong D, Yalima T, Lim BK, Stenbit A, Dublin A, Dalton ND, Summers-Torres D, Molkenstein JD,

- Duplain H, Wessely R, Chen J, Knowlton KU: Inducible cardiac-restricted expression of enteroviral protease 2A is sufficient to induce dilated cardiomyopathy, *Circulation* 115 (1): 94-102, 2007
- Yilmaz A, Kindermann I, Kindermann M, Mahfoud F, Ukena C, Athanasiadis A, Hill S, Mahrholdt H, Voehringer M, Schieber M, Klingel K, Kandolf R, Böhm M, Sechtem U: Comparative Evaluation of Left and Right Ventricular Endomyocardial Biopsy Differences in Complication Rate and Diagnostic Performance, *Circulation* 121: 900-909, 2010
- Yoshikawa T: Contribution of Acquired Factors to the Pathogenesis of Dilated Cardiomyopathy – The Cause of Dilated Cardiomyopathy: Genetic or Acquired? (Acquired – Side) – , *Circulation Journal* 75: 1766-1773, 2011
- Zimmermann O, Kochs M, Zwaka TP, Kaya Z, Lepper PM, Bienek-Ziolkowski M, Hoher M, Hombach V, Torzewski J: Myokardial biopsy based classification and treatment in patients with dilated cardiomyopathy, *International Journal of Cardiology* 104: 92-100, 2005
- Zimmermann O, Rodewald C, Rademacher M, Vetter M, Wiehe JM, Bienek-Ziolkowski M, Hombach V, Torzewski J: Interferon  $\beta$ -1b Therapy in Chronic Viral Dilated Cardiomyopathy – Is there a Role for Specific Therapy?, *Journal of Cardiac Failure* 16 (4): 348-356, 2010

## Anhang

### Patientenfragebogen

Die folgenden 21 Fragen sind auf den Zeitraum der **letzten 4 Wochen** bezogen. Bitte beantworten Sie jede Frage auf einer Skala von 1 bis 5 (1=ein wenig zutreffend, 5=sehr stark zutreffend) und kreuzen die jeweilige Zahl an. Falls eine Frage nicht auf Sie zutreffen sollte, kreuzen Sie bitte ‚0=nicht zutreffend‘ an.

Hat Ihre Herzschwäche sie daran gehindert, Ihr Leben in den <b>letzten 4 Wochen</b> so zu leben, wie sie es möchten, dadurch, dass...	nein	ein wenig				sehr stark
1) ...geschwollene Knöchel oder Beine aufgetreten sind?	0	1	2	3	4	5
2) ...Sie sich am Tage hinsetzen oder hinlegen mussten, um sich auszuruhen?	0	1	2	3	4	5
3) ...es Ihnen schwer fiel, umher zu gehen oder Treppen zu steigen?	0	1	2	3	4	5
4) ...es Ihnen Probleme machte, alltägliche Arbeit im Haus oder Garten zu erledigen?	0	1	2	3	4	5
5) ...es Ihnen Probleme machte, das Haus zu verlassen, um Erledigungen zu tätigen?	0	1	2	3	4	5
6) ...Sie Nachts nicht durchschlafen konnten?	0	1	2	3	4	5
7) ...Sie sich eingeschränkt fühlten, etwas mit Ihren Freunden oder Ihrer Familie zu unternehmen?	0	1	2	3	4	5
8) ...es Sie erschwerte, Ihren Lebensunterhalt zu verdienen?	0	1	2	3	4	5
9) ...Sie in Ihrer Freizeitgestaltung (Ausüben von Sport, Hobbies) eingeschränkt wurden?	0	1	2	3	4	5
10) ...Sie in Ihrem Sexualleben beeinträchtigt wurden?	0	1	2	3	4	5
11) ...Sie auf Speisen verzichten mussten, die Sie sonst gerne zu sich nehmen würden?	0	1	2	3	4	5
12) ...Sie kurzatmig waren?	0	1	2	3	4	5
13) ...Sie müde, erschöpft oder kraftlos waren?	0	1	2	3	4	5
14) ...Sie ins Krankenhaus mussten?	0	1	2	3	4	5
15) ...Ihnen Kosten für eine medizinische Versorgung (z.B. Tabletten) entstanden sind?	0	1	2	3	4	5
16) ...Sie Nebenwirkungen der Medikamenteneinnahme verspürten?	0	1	2	3	4	5
17) ...Sie sich als Belastung für Ihre Freunde oder Familie empfanden?	0	1	2	3	4	5
18) ...Sie die Kontrolle über Ihr Leben bzw. Ihre Lebensführung verloren haben?	0	1	2	3	4	5
19) ...Sie sich Sorgen machten?	0	1	2	3	4	5
20) ...Sie Schwierigkeiten hatten, sich zu konzentrieren oder Dinge zu merken?	0	1	2	3	4	5
21) ...Sie sich traurig oder deprimiert fühlten?	0	1	2	3	4	5

**Bitte wenden**

**Angaben über ihre eigene Person:**

Name, Vorname: \_\_\_\_\_

Geboren am: \_\_\_\_\_

Adresse: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Angaben über Ihren behandelnden Hausarzt:**

Name, Vorname: \_\_\_\_\_

Adresse: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Angaben über Ihren behandelten Kardiologen (falls vorhanden):**

Name, Vorname: \_\_\_\_\_

Adresse: \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Falls zutreffend:**

Herztransplantation erhalten am \_\_\_\_\_

Hiermit erkläre ich, dass im Rahmen dieser Studie Daten aus meiner Krankenakte (Labordaten, Echokardiographiebefunde, Medikation) von oben genannten Ärzten an Ärzte des Universitätsklinikums Jena übermittelt werden dürfen. Ich bin damit einverstanden, dass diese Daten zum Zweck der wissenschaftlichen Auswertung genutzt und in pseudonymisierter Form gespeichert werden dürfen.

Ort, Datum \_\_\_\_\_

Unterschrift \_\_\_\_\_

## Hausarztfragebogen

**Wenn zutreffend:**

Verstorben  Datum \_\_\_\_\_

Herztransplantiert  Datum \_\_\_\_\_

**Aktuelles NYHA-Stadium:**

I                       II                       III                       IV

**Aktuelle Medikation:**

ACE-Hemmer/ AT1-Blocker	ja	nein
Beta-Blocker	ja	nein
Calzium-Antagonist	ja	nein
Diuretikum	ja	nein
Glycosid	ja	nein
Aldosteron-Antagonist	ja	nein
Statin	ja	nein

Falls vorhanden:

**Aktuellstes Spiroergometrieergebnis:**

Maximale Sauerstoffaufnahme: \_\_\_\_\_

Sauerstoffaufnahme an der anaeroben Grenze: \_\_\_\_\_

Bitte eine Kopie der aktuellsten Echokardiographie beilegen.

Vielen Dank für Ihre Mitarbeit!

## **Danksagung**

Mein Dank für die hilfreiche Unterstützung bei der Erstellung meiner Doktorarbeit geht vor allem an meinen Doktorvater PD Dr. Friedhelm Küthe. Ebenfalls danke ich MTA Annett Schmidt für die Bereitstellung der Unterlagen der Patienten aus dem Forschungszentrum. Auch möchte ich meiner Familie und meinen Freunden danken, die mich tatkräftig unterstützten und stets aufbauten.

## **Ehrenwörtliche Erklärung**

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben: PD Dr. Friedhelm Kütke, MTA Annett Schmidt

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Ort, Datum

Unterschrift des Verfassers