

Aus der Klinik für Kardiologie und Pulmologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Klinischer Verlauf und immunhistologische Befunde von
Patienten mit Verdacht auf entzündliche Kardiomyopathie

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Bettina Seeberg

aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. H.-P. Schultheiss
2. Prof. Dr. med. M. Pauschinger
3. Prof. Dr. med. W. Haverkamp

Datum der Promotion: 21.11. 2008

Meinem Großvater Professor Harald Dutz gewidmet

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AICD	Automatischer implantierbarer Cardioverter/Defibrillator
A.p.	Angina pectoris
BSG	Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit
Bx	Biopsie(n)
CAM	Cellular adhesion molecules (zelluläre Adhäsionsmoleküle)
CRP	C-reaktives Protein
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
Dia.	Diastolisch
EMB	Endomyokardbiopsie
EBV	Epstein-Barr-Virus
EF	Ejektionsfraktion
FCS	Fetales Kälberserum
FS	Fractional shortening
HHV6	Humanes Herpesvirus Typ 6
HLA	Human leukocyte antigen
ICAM	Intercellular adhesion molecules
IFN	Interferon
IL2	Interleukin 2
KHK	Koronare Herzkrankheit
LA	Linker Vorhof
LSB	Linksschenkelblock
LVEDD	Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser
LVEDP	Linksventrikulärer enddiastolischer Druck
LVESD	Linksventrikulärer endsystolischer Durchmesser
LVF	Linksventrikuläre Funktion
MC	Myokarditis
MRT	Magnetresonanztomografie
MSS-Abstand	Mitralsegel-Septum-Abstand
NT-pro-BNP	N-terminales B-natriuretisches Peptid
n.a.	nicht anwendbar
NYHA	New York Heart Association
PA(-Druck)	Pulmonalarteriendruck
PC	Pulmonal-kapillärer Druck
PBS	Phosphat-buffered saline
PCR	Polymerase chain reaction
PE	Perikarderguss
PVB19	Parvovirus B19
RA	Rechter Vorhof
RR	Blutdruck (Riva-Rocci)
RSB	Rechtsschenkelblock
RV	Rechter Ventrikel
RVEDP	Rechtsventrikulärer enddiastolischer Druck
SVES	Supraventrikuläre Extrasystolen
Sys.	systolisch
TNF	Tumor-Nekrose-Faktor
VES	Ventrikuläre Extrasystolen
VT	Ventrikuläre Tachykardie

INHALTSVERZEICHNIS

1	EINLEITUNG	3
1.1	MYOKARDITIS	3
1.1.1	KLINISCHES BILD	3
1.1.2	EPIDEMIOLOGIE UND PROGNOSE	4
1.1.3	APPARATIVE DIAGNOSTIK	5
1.1.4	URSACHEN DER ERKRANKUNG	7
1.1.5	THERAPIE	8
1.2	DILATATIVE KARDIOMYOPATHIE (DCM)	10
1.2.1	KLINISCHES BILD	10
1.2.2	EPIDEMIOLOGIE UND PROGNOSE	10
1.2.3	DIAGNOSTIK	11
1.2.4	URSACHEN DER ERKRANKUNG	12
1.2.5	THERAPIE	13
1.3	ÜBERGANG EINER MYOKARDITIS IN EINE DCM	14
1.4	SPEZIELLE DIAGNOSTIK	16
1.4.1	MYOKARDBIOPSIEENTNAHME	16
1.4.2	DALLAS-KRITERIEN	17
1.4.3	IMMUNHISTOLOGIE	18
1.4.4	VIRUSNACHWEIS IM MYOKARD	21
1.5	ZIEL DER VORLIEGENDEN ARBEIT	22
2	PATIENTENKOLLEKTIV, MATERIAL UND METHODEN	23
2.1	PATIENTEN	23
2.2	GEWINNUNG VON PROBENMATERIAL UND AUFARBEITUNG	24
2.3	STATISTISCHE ANALYSE	26
3	ERGEBNISSE	27
3.1	ERGEBNISSE ZUM ZEITPUNKT DER 1. INVASIVEN DIAGNOSTIK	27
3.1.1	ALTER UND PUMPFUNKTION (ANGIOGRAFIE UND ECHOKARDIOGRAFIE)	27
3.1.2	IMMUNHISTOLOGISCHE BEFUNDE	29
3.1.3	IMMUNHISTOLOGIE – BEWERTUNG	34
3.1.4	LV-PUMPFUNKTION UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNG	34
3.1.5	NYHA-KLASSIFIKATION UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNG	37
3.1.6	ANAMNESEDAUER UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNG	39
3.1.7	INFEKTANAMNESE UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNG	40
3.1.8	ANGINA PECTORIS UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNG	41
3.1.9	HERZRHYTHMUSSTÖRUNGEN UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNG	44
3.1.10	EKG-VERÄNDERUNGEN UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNG	46
3.1.11	BEGLEITERKRANKUNGEN, RISIKOFAKTOREN UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNG	48
3.1.12	VIRUSNACHWEIS IM MYOKARD UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNG	50
3.1.13	KONVENTIONELL-HISTOLOGISCHE BEFUNDE	52
3.1.14	KLINISCHE UNTERSCHIEDE HISTOLOGISCH POSITIVER UND NEGATIVER PATIENTEN	53
3.1.15	VERGLEICH ZWISCHEN HISTOLOGISCHEN UND IMMUNHISTOLOGISCHEN BEFUNDEN	55
3.1.16	VERGLEICH DER PATIENTEN MIT HOHER UND NIEDRIGER CD3-ZAHL	56
3.1.17	VERGLEICH MIT DEM GESAMTKOLLEKTIV	57

3.1.18	VERGLEICH DER 25%- UND DER 75%-CD3-PERZENTILE AM GESAMTKOLLEKTIV	58
3.1.19	VERGLEICH DER PATIENTEN MIT DER SCHLECHTESTEN/BESTEN PUMPFUNKTION	60
3.1.20	CD3-GRENZWERTE ZUR DEFINITION DER MYOKARDIALEN ENTZÜNDUNG	61
3.1.21	WEITERE LYMPHOZYTEN- / CAM-MARKER UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNG	63
3.2	ERGEBNISSE ZUM ZEITPUNKT DER 2. INVASIVEN DIAGNOSTIK	65
3.2.1	VERLAUF DER PUMPFUNKTION DES GESAMTKOLLEKTIVS	65
3.2.2	ERGEBNISSE DER HISTOLOGIE UND IMMUNHISTOLOGIE IM VERLAUF	69
3.2.3	EINFLUSS DER CD3-ZELLZAHL IN DER 1. BIOPSIE AUF DIE LVF IN DER 2. BIOPSIE	70
3.2.4	CD8 ALS PROGNOSEFAKTOR DER LF-FUNKTION	71
3.2.5	ICAM ALS PROGNOSEFAKTOR DER LV-FUNKTION	73
3.2.6	PROGNOSE-SCORE (CD8 UND ICAM)	74
3.2.7	MARKER EINER GÜNSTIGEN PROGNOSE (MAKROPHAGEN)	77
3.2.8	LV-FUNKTION UND MYOKARDIALE ENTZÜNDUNGSPERSISTENZ IN DER 2. BIOPSIE	78
3.2.9	VERLAUF DER PUMPFUNKTION BEI EINER ANFANGS-EF \leq 30%	81
3.2.10	VERLAUF DER MYOKARDIALEN ENTZÜNDUNG BEI ANFANGS-EF $>$ 30%	82
3.2.11	VERLAUF BEI AUSGEPRÄGTER ENTZÜNDUNG IN DER 1. BIOPSIE	83
3.2.12	ZUSAMMENFASSUNG DER IMMUNHISTOLOGIE BEZÜGLICH DER PUMPFUNKTION	84
3.2.13	VIRUSINFEKTION UND LV-FUNKTION IM VERLAUF	85
3.2.14	EINFLUSS EINER VIRUSPERSISTENZ IN DER 2. BIOPSIE AUF DIE LV-FUNKTION	86
3.2.15	IMMUNHISTOLOGIE IM VERLAUF BEI VIRUSPOSITIVEN UND –NEGATIVEN PATIENTEN	87
3.2.16	NYHA IM VERLAUF	91
3.2.17	ANGINA PECTORIS IM VERLAUF	93
3.2.18	HERZRHYTHMUSSTÖRUNGEN UND EKG-BEFUNDE IM VERLAUF	93
3.3	ERGEBNISSE ZUM ZEITPUNKT DER 3. INVASIVEN DIAGNOSTIK	94
3.3.1	VERLAUF DER PUMPFUNKTION BEI ANFÄNGLICHER EF \leq 45%	95
3.3.2	IMMUNHISTOLOGIE	96
3.3.3	VIRUSNACHWEIS IN DER 3. BIOPSIE	99
3.3.4	KLINISCHE SYMPTOME ZUM ZEITPUNKT DER 3. INVASIVEN DIAGNOSTIK	100
3.3.5	ZUSAMMENFASSUNG DER DATEN DER 3. BIOPSIE	100
3.4	VIERTE UND WEITERE BIOPSIEN	101
3.4.1	EF, IMMUNHISTOLOGIE UND VIRUS IN DER 4. BIOPSIE	101
3.4.2	IMMUNHISTOLOGIE UND PUMPFUNKTION IN DER 5. UND 6. BIOPSIE	102
4	DISKUSSION	103
4.1	ZUSAMMENHANG DER MYOKARDIALEN ENTZÜNDUNG MIT DER PUMPFUNKTION	103
4.2	VERLAUF DER ERKRANKUNG	106
4.3	IMMUNHISTOLOGISCHE DIAGNOSE DER MYOKARDITIS	110
4.4	KLINISCHE SYMPTOME UND BEFUNDE DER IMMUNHISTOLOGISCHEN ANALYSE	113
4.5	ERGEBNISSE DER VIRUS-PCR-ANALYSE	115
4.6	WELCHE PATIENTEN SOLLTEN BIOPSIERT WERDEN?	117
4.7	LIMITATIONEN DER ARBEIT	119
5	ZUSAMMENFASSUNG	121
6	LITERATURVERZEICHNIS	123
7	DANKSAGUNGEN	131
8	LEBENS LAUF	132

1 Einleitung

Die vorliegende Arbeit untersucht die Verbindung zwischen klinischer Symptomatik von Herzmuskelerkrankungen, der Hämodynamik und histologischen sowie immunhistologischen Befunden.

Im Besonderen wird dabei auf das Krankheitsbild der Dilatativen Kardiomyopathie (DCM) sowie der Myokarditis eingegangen, deren Entwicklung im zeitlichen Verlauf verfolgt wird. DCM und Myokarditis sind zwei zunächst sehr unterschiedlich erscheinende Erkrankungen des Herzmuskels, zwischen denen jedoch ein kausaler Zusammenhang bestehen kann.

1.1 Myokarditis

1.1.1 Klinisches Bild

Die Myokarditis ist eine entzündliche Herzerkrankung Erwachsener und Kinder. Sie kann sämtliche Strukturen des Herzens, insbesondere Myozyten, Perikard und Bindegewebe, aber auch große Herzkranzgefäße, Arteriolen und Kapillaren einbeziehen.

Das klinische Erscheinungsbild variiert sehr: von asymptomatischen Verläufen, die nur zufällig diagnostiziert werden, bis hin zu dramatischen Krankheitsbildern, die z.B. zunächst einen Herzinfarkt vermuten lassen (Dec et al., 1992; Kuhl et al., 2003a) oder auch rasch zum Tode entweder durch maligne Arrhythmien oder durch rasch progrediente Herzinsuffizienz führen (Drory et al., 1991; Theleman et al., 2001), kann ein breites Spektrum beobachtet werden. Es gibt keine epidemiologischen Studien, die die Hauptsymptome einer akuten Myokarditis beschreiben; dies liegt hauptsächlich an den Schwierigkeiten, eine eindeutige Diagnose zu stellen.

Eine Myokarditis kann dann vermutet werden, wenn kurz (d.h. 1 – 6 Wochen) nach einem Infekt (meistens der oberen Atemwege oder des Gastrointestinaltraktes) kardiale Symptome auftreten, die allerdings vielgestaltig und unspezifisch sein können. Ein vorangegangener Infekt lässt sich allerdings keineswegs immer erfragen.

Häufig treten Schmerzen in der Herzgegend sowohl in Ruhe als auch bei Belastung oder ein thorakales Druckgefühl auf, und oft klagen Patienten über einen plötzlichen Leistungsknick mit eingeschränkter Belastbarkeit und Luftnot bei Belastung.

Gelegentlich stehen Herzrhythmusstörungen im Vordergrund; meistens handelt es sich um inappropriete Sinustachykardien, aber alle anderen Rhythmusstörungen (z.B. SVES, VES,

AV-Blockierungen, absolute Arrhythmie bei Vorhofflimmern, ventrikuläre Salven bis hin zum Kammerflimmern) können ebenfalls vorkommen. Manchmal können im Frühstadium leichte bis mäßige Erhöhungen der (Herz)enzyme Creatinkinase (CK), CK-MB und Troponin I und T beobachtet werden.

Die Dauer dieser Symptome ist sehr variabel; selten treten sie nur einmalig auf, meistens persistieren sie für eine gewisse Zeit, um sich dann nach Wochen oder Monaten zurückzubilden. Gelegentlich beobachtet man undulierende Verläufe, bei denen es – oft nach neuerlichem Virusinfekt – trotz anfänglicher Besserung zu erneuten Beschwerden kommt, und nicht zuletzt gibt es schwere Verläufe, bei denen die Pumpfunktion deutlich eingeschränkt ist und sich nicht bessert oder sogar noch verschlechtert.

Auffällig sind außerdem eine manchmal lang anhaltende Leistungsminderung oder pektanginöse Beschwerden, obwohl keine eingeschränkte Pumpfunktion (mehr) nachgewiesen werden kann.

1.1.2 Epidemiologie und Prognose

Es gibt nur wenige Daten zur Prävalenz und Inzidenz der Myokarditis. Das liegt vermutlich daran, dass die Mehrzahl aller Herzmuskelentzündungen bei/nach Virusinfekt symptomlos oder symptomarm verläuft und somit nicht erfasst wird.

Der Verlauf ist ebenso variabel wie die klinischen Symptome. Im Allgemeinen gilt die Prognose als gut, und es entsteht vermutlich meist kein dauerhafter schwerer Myokardschaden. Seltener kann es jedoch auch zu fulminanten Verläufen mit schwerer Herzinsuffizienz kommen; und es gilt als gesichert, dass ein gewisser Prozentsatz der Patienten im Verlaufe von Jahren eine Kardiomyopathie entwickeln wird.

Eine prospektive Studie (Karjalainen and Heikkila, 1999) aus Finnland, die insgesamt ca. 670.000 wehrpflichtige Männer erfasste, berechnete eine Inzidenz von 0,17 auf 100.000 Einwohner. Auch konnte einer von 10 unklaren Todesfällen in diesem Kollektiv auf eine akute Myokarditis zurückgeführt werden.

In Autopsiestudien wurde eine Myokarditis als Ursache eines plötzlichen Todes in sehr unterschiedlicher Häufigkeit nachgewiesen; die Inzidenz reichte von 0,38% (Gore and Saphir, 1947) über 5% bei Kindern (Lambert et al., 1974) bis hin zu 22% bei plötzlich verstorbenen Personen unter 40 Jahren (Drory et al., 1991). In einer Untersuchung von 16 plötzlich verstorbenen schwedischen Orientierungsläufern wurde bei 5 eine akute Myokarditis und bei 4 weiteren Hinweise für Myokarditis, aber auch für rechtsventrikuläre Dysplasie festgestellt (Larsson et al., 1999).

Im Myocarditis Treatment Trial (Mason et al., 1995) wurde eine Mortalitätsrate von 20% nach einem Jahr und von 56% nach 4,3 Jahren berichtet.

Nach einer anderen Studie (McCarthy et al., 2000) beträgt die 10-Jahres-Überlebensrate bei histologisch gesicherter lymphozytärer Myokarditis ebenfalls nur 45%, aber eine fulminante Myokarditis hat danach überraschenderweise eine deutlich bessere Langzeitprognose mit >90% ereignisfreier Überlebensrate. Patienten, bei denen zunächst ein akuter Myokardinfarkt vermutet wurde, haben offenbar ebenfalls eine sehr gute Langzeitprognose (Dec et al., 1992; Angelini et al., 2000). Falls die Pumpfunktion zum Zeitpunkt der Erstdiagnose nur mäßig eingeschränkt war, erholt sie sich im Verlauf oft wieder; hingegen ist der Verlauf von Patienten mit anfangs schwer eingeschränkter LVEF variabel: etwa ein Viertel normalisiert sich, während ein weiteres Viertel eine progrediente Verschlechterung erfährt und die übrigen Patienten stabil, aber eingeschränkt bleiben (Herskowitz et al., 1993).

Eine seltene Sonderform der akuten Myokarditis, die Riesenzellmyokarditis, die nicht viral, sondern wahrscheinlich autoimmun bedingt ist, hat eine deutlich schlechtere Prognose: weniger als 20% der Patienten überleben 5 Jahre, wenn sie nicht aggressiv immunsuppressiv behandelt werden (Cooper et al., 1997).

Als Faktoren, die eine ungünstige Prognose bei bioptisch gesicherter Myokarditis anzeigen, wurden unter anderem eine Erhöhung von Fas und löslichem Fas-Ligand (Fuse et al., 2000), Patienten mit EF <40%, Schenkelblock oder Zustand nach Synkope (Magnani et al., 2006), NYHA-Klasse III oder IV und ein erhöhter LVEDP (Why et al., 1994) sowie ein erhöhter pulmonalarterieller Druck (Cappola et al., 2002) beschrieben.

In diesen Studien wurde eine Myokarditis histologisch (und nicht oder nicht primär immunhistologisch) diagnostiziert, was, wie noch erläutert werden wird, einerseits zu einer im Vergleich zur immunhistologischen Untersuchung seltener gestellten Diagnose führt, andererseits möglicherweise eine Selektion schwererer Krankheitsverläufe bedingt.

1.1.3 Apparative Diagnostik

Laborchemisch ist die häufigste Veränderung eine Erhöhung der Entzündungsparameter (BSG, Leukozyten, CRP); gelegentlich kann bei akuter Myokarditis eine Creatinkinase (CK)-Erhöhung mit Herzmuskelanteil (MB) und/oder Erhöhung des Troponin T/I nachgewiesen werden. Alle anderen Laborparameter sind eher unspezifisch; insbesondere die Virusserologie führt manchmal in die Irre, da ein Titeranstieg potentiell kardiotoxischer Viren zwar eine akute Infektion, jedoch keinen Organbefall anzeigt bzw. oft auf einer unspezifischen polyklonalen Stimulation beruht (Strauer et al., 1996). Auch das EKG kann verändert sein, wobei keine

ausschließlich für Myokarditis typischen oder spezifischen Auffälligkeiten bekannt sind. Häufig ist eine Sinustachykardie; und gelegentlich werden Erregungsrückbildungsstörungen beobachtet, die das Bild eines akuten Herzinfarktes nachahmen können.

Falls eine CK-MB-Erhöhung mit gleichzeitigem Anstieg des Troponins vorliegt (und eine KHK durch invasive oder nicht-invasive Untersuchungsmethoden ausgeschlossen wurde), ist die Diagnose einer Myokarditis sehr wahrscheinlich (Dec et al., 1992; Lauer et al., 1997); insbesondere dann, wenn reversible EKG-Veränderungen bemerkt werden. (Differenzialdiagnostisch könnte bei dieser Konstellation allerdings auch eine Tako-Tsubo-Kardiomyopathie vorliegen, eine stressinduzierte Herzkrankheit mit infarktähnlicher Klinik bei Ausschluss einer KHK).

Echokardiografisch kann eine globale oder auch regionale Einschränkung der Kontraktilität vorliegen, die sich manchmal erst im Verlauf nachweisen lässt. Bisweilen fällt eine Verdickung des intraventrikulären Septums mit inhomogener, „scholliger“ Struktur auf; dies könnte einem entzündungsbedingtem myokardialen Ödem entsprechen.

Ein Perikarderguss tritt ebenfalls gelegentlich auf; dann sollten Erkrankungen wie z.B. Kollagenosen, Tuberkulose und Malignome ausgeschlossen werden.

Als neuere Technik zur Diagnostik könnte sich die Magnetresonanztomografie (MRT) des Herzens entwickeln, die zum einen Herzgröße, Volumina, Ejektionsfraktion und regionale Wandbewegungsstörungen genauer als die Echokardiografie erfassen kann, zum anderen aber zusätzlich über absoluten und relativen Wassergehalt und Kontrastmittelanreicherung („early“ und „late enhancement“) einen Hinweis auf eine mögliche entzündliche Genese der vermuteten Herzmuskelerkrankung geben sowie myokardiale Narben nachweisen kann; insbesondere dann, wenn Verlaufsuntersuchungen durchgeführt werden (Di Cesare, 2001; Friedrich et al., 1998). In einer Studie mit 32 Patienten wurden Myokardbiopsien aus den Regionen entnommen, die vorher im MRT am stärksten verändert waren; dadurch konnte ein sehr hoher positiver (71%) und negativer (100%) prädiktiver Wert für die Diagnose einer Myokarditis erzielt werden (Mahrholdt et al., 2004). Eine Aussage über eine Viruserkrankung oder eine Differenzierung der Entzündung kann jedoch damit nicht erreicht werden.

Nuklearmedizinische Untersuchungen haben demgegenüber an Wert verloren; die Gallium- oder Indium-markierte Detektion von Myosin, das auf der Zelloberfläche von nicht-intakten Kardiomyozyten exprimiert wird, scheint eine hohe Sensitivität (bei nur mäßiger Spezifität) für die Diagnose einer Myokarditis zu haben (Dec et al., 1990), ist jedoch in Europa nicht verfügbar.

Einen zusätzlichen wertvollen Hinweis auf eine (unter Umständen mit Echokardiografie oder MRT in Ruhe nicht erfassbare) Herzmuskelschädigung kann die Ergospirometrie geben, bei der (manchmal trotz altersentsprechend normaler Belastbarkeit) eine reduzierte Sauerstoffaufnahme Zeichen einer eingeschränkten myokardialen Pumpreserve oder diastolischer Funktionsstörung ist (veröffentlichte Studien zu dieser Fragestellung liegen jedoch bislang nicht vor).

1.1.4 Ursachen der Erkrankung

Eine Herzmuskelentzündung wird am häufigsten durch Infektion mit kardiotropen Viren ausgelöst (Archard et al., 1987; Bowles et al., 1986; Baboonian and Treasure, 1997). Als „klassische“ Erreger gelten Enteroviren, hier insbesondere das Coxsackievirus B3, und Adenoviren; es ist jedoch eine Vielzahl weiterer Viren beschrieben worden, von denen Parvovirus B19, Humanes Herpesvirus Typ 6, Epstein-Barr-Virus (Kuhl et al., 2005), Hepatitis-Viren (Matsumori et al., 2000) und auch HI-Viren (Barbaro and Lipshultz, 2001) klinisch eine wesentliche Rolle zu spielen scheinen. Die Impfung gegen Windpocken scheint ebenfalls – wenn auch selten (7,8/100.000 Impfungen) – eine Perimyokarditis verursachen zu können; ob als direkte Virusinfektion oder allergisch bedingt, ist nicht klar (Halsell et al., 2003).

Die Mechanismen der myokardialen Virusinfektion wurden in letzter Zeit teilweise aufgedeckt. Neben einer direkten Virusinfektion des Kardiomyozyten über einen Rezeptor, dessen sich sowohl Adeno- als auch Enteroviren bedienen (ein Adhäsionsmolekül aus der Immunglobulinfamilie namens Coxsackie-Adenovirusrezeptor (CAR) (Bergelson et al., 1997) wird auch eine „indirekte“ Infektion des Herzens vermutet, bei der sich Viren in Endothelzellen vermehren. Dieser Mechanismus wird momentan für das Parvovirus B19 diskutiert (Bultmann et al., 2003; Kandolf, 2004; Tschöpe et al., 2005). So könnten virusbefallene Endothelvorläuferzellen, deren Reservoir im Knochenmark liegt, über die Blutbahn in das Endothel des Herzens gelangen; auf diese Weise werden immer neue Generationen virusbefallener Endothelzellen generiert.

Andere Erreger wie Protozoen (z.B. Chagas-Myokarditis in Südamerika), Pilze (z.B. Aspergillen, Candida, Cryptococcus), Bakterien (u.a. Staphylokokken, Mykoplasmen, Leptospiren, Borellien, Chlamydia psittaci) und Parasiten (Schistosomen) können ebenfalls eine Myokarditis hervorrufen, sind aber im (europäischen) klinischen Alltag von untergeordneter Bedeutung; bakterielle Myokarditiden können im Rahmen einer Sepsis gelegentlich auftreten.

Eine Myokarditis kann außerdem toxisch (z.B. durch Diphtherie, Gasbrand; aber auch durch Anthrazykline, Kokain, Alkohol) oder im Rahmen einer Systemerkrankung (z.B. Kollagenosen wie systemischer Lupus erythematoses, Churg-Strauss-Vaskulitis oder bei granulomatösen Erkrankungen wie Sarkoidose oder der Wegenerschen Granulomatose) auftreten.

Nicht ganz selten ist eine Myokarditis allergisch bedingt (z.B. medikamentös: Antibiotika wie Sulfonamide, Cephalosporine, Penicillin; Dobutamin, trizyklische Antidepressiva und Clozapin; Diuretika, Digitalis); in diesen Fällen lässt sich myokardbiotisch ein Infiltrat aus vorwiegend eosinophilen Granulozyten nachweisen.

1.1.5 Therapie

Die Therapie einer Myokarditis ist (bislang) überwiegend symptomatisch; sie besteht aus körperlicher Schonung bzw. Sportverbot, und falls die linksventrikuläre Pumpfunktion eingeschränkt ist, sollte die gleiche Herzinsuffizienzmedikation wie bei der DCM eingesetzt werden (ACE-Hemmer bzw. bei Unverträglichkeit AT-1-Rezeptor-Antagonisten, Betablocker, Diuretika, ggf. Digitalis, ggf. Thromboembolie-Prophylaxe).

Ob prophylaktisch – um einem „remodeling“ vorzubeugen – auch bei guter linksventrikulärer Pumpfunktion ein ACE-Hemmer (oder AT-1-Rezeptor-Antagonist) gegeben werden sollte, ist noch nicht bekannt; tierexperimentelle Studien weisen jedoch darauf hin.

Zu den Therapiemöglichkeiten spezifischer Art gehört die immunsuppressive Therapie (z.B. mit Cortison und Azathioprin). Studienergebnisse hierzu waren widersprüchlich. Parrillo konnte in einer (nicht placebo-kontrollierten) Studie (Parrillo et al., 1989) eine für kurze Zeit (3 Monate) bessere LVF für Patienten mit eingeschränkter Pumpfunktion und lymphozytärer Infiltration im Myokard im Vergleich zu Patienten ohne Lymphozyteninfiltration nachweisen; die Besserung der Pumpfunktion trat im „Kontrollkollektiv“ etwas verzögert aber ebenfalls ein.

Im randomisierten, doppelblinden und kontrollierten Myocarditis Treatment Trial (Mason et al., 1995) konnte kein Nutzen einer immunsuppressiven Therapie mit Cortison und Azathioprin oder Cyclosporin bei 111 Patienten mit histologisch gesicherter Myokarditis gezeigt werden, was vermutlich darauf zurückzuführen ist, dass 1. der Spontanverlauf der Erkrankung nicht abgewartet wurde (hohe Spontanheilungsrate auch in der Placebogruppe, somit kein besseres Ergebnis unter Cortison) und dass 2. eine eventuelle myokardiale Virusinfektion nicht berücksichtigt wurde (somit möglicherweise Verschlechterung virus-positiver Patienten unter Cortison).

Eine kleinere Studie, die diese Probleme vermied (Kuhl and Schultheiss, 1995), zeigte eine Verbesserung der Pumpfunktion, der Symptome und der myokardialen Entzündung, ebenso wie eine randomisierte Studie (Wojnicz et al., 2001), die auch noch zwei Jahre nach Ende einer Therapie mit Cortison und Azathioprin eine Verbesserung der klinischen Symptomatik und LV-Funktion, jedoch keinen Einfluss auf Hospitalisierungsrate, Tod und Herztransplantation nachweisen konnte. Jedoch gibt es insgesamt wenige Placebo-kontrollierte Studien, so dass aktuell der Stellenwert der immunsuppressiven Therapie noch nicht abschließend beurteilt werden kann.

Für Patienten mit Riesenzellmyokarditis ist hingegen eine aggressive immunsuppressive Therapie manchmal lebensrettend (Cooper et al., 1997); im Median überlebten Patienten ohne Immunsuppression nur 5,5 Monate (ohne Herztransplantation) versus 12 Monate mit immunsuppressiver Therapie. Auch bei eosinophiler Myokarditis wird eine Immunsuppression empfohlen.

Umstritten ist die intravenöse Gabe von Immunglobulinen; eine doppelblinde, randomisierte und kontrollierte Studie an 62 Patienten mit neu aufgetretener Herzinsuffizienz (16% davon mit bioptisch gesicherter Myokarditis) konnte keinen Nutzen belegen (McNamara et al., 2001).

Bislang überwiegend in Studien angewandt wird eine Interferontherapie (alpha und beta) beim Nachweis von persistierendem Virusgenom im Myokard und einer klinischen Symptomatik (Heim et al., 1997; Horwitz et al., 2000), worunter es in einer Pilotstudie mit 22 Patienten mit eingeschränkter Pumpfunktion und Nachweis von Entero- oder Adenoviren sowohl zu einer Viruselimination als auch zu einer signifikanten Verbesserung der Pumpfunktion kam (Kuhl et al., 2003b). Die Ergebnisse einer großen doppelblinden, multizentrischen, randomisierten Interferonstudie stehen noch aus.

Eine andere Therapieoption, die zur Zeit in Studien getestet wird, ist eine Behandlung mit Ganciclovir oder Valganciclovir.

Ein weiteres erfolgversprechendes Therapieverfahren ist die Immunadsorption, bei der Autoantikörper und möglicherweise auch zirkulierende Zytokine eliminiert werden sollen (Staudt et al., 2001). Dieses Verfahren wird zur Zeit in einer randomisierten Studie getestet.

1.2 Dilatative Kardiomyopathie (DCM)

1.2.1 Klinisches Bild

Die DCM ist gekennzeichnet durch eine oft fortschreitende links- oder biventrikuläre Dilatation und eine zunehmende systolische Funktionseinschränkung der linksventrikulären Muskulatur; das Vollbild der Erkrankung ist klinisch somit durch eine Herzinsuffizienz gekennzeichnet, wobei aber auch maligne Herzrhythmusstörungen die Prognose beeinflussen können.

Die klinischen Symptome bestehen meist in zunehmender Luftnot bei Belastung, Beinödem und Herzrhythmusstörungen (vor allem Vorhofflimmern und ventrikuläre Rhythmusstörungen, manchmal AV-Blockierungen); gelegentlich klagen die Patienten auch über pektanginöse Beschwerden oder allgemeine Abgeschlagenheit. Es besteht keine strenge Korrelation zwischen dem Ausmaß der Pumpfunktionsstörung und den Symptomen der Patienten; hierfür wird in erster Linie der körperliche Trainingszustand verantwortlich gemacht, der selbst eine schwere kardiale Dysfunktion kompensieren kann, sowie eine optimale medikamentöse Therapie.

Häufig wird eine DCM erst aufgrund einer kardialen Dekompensation mit Orthopnoe und massiver Luftnot aufgrund eines Lungenödems diagnostiziert.

Manchmal allerdings kann man eine DCM zufällig in einem noch asymptomatischen Stadium erfassen; hier sind es dann meistens EKG-Veränderungen (Linksschenkelblock, unspezifische Erregungsrückbildungsstörungen, Herzrhythmusstörungen) oder eine Vergrößerung der Herzsilhouette im Röntgen-Thorax-Bild, die zur Diagnose führen.

1.2.2 Epidemiologie und Prognose

Eine DCM manifestiert sich meist in mittlerem Lebensalter und betrifft doppelt so viele Männer wie Frauen.

Pro 100.000 Einwohner sind etwa 36 an DCM erkrankt, die jährliche Neuerkrankungsrate (Inzidenz) beträgt ca. 6 /100.000 Einwohner/Jahr (Olbrich, 2001); dies ist zwar im Vergleich zu beispielsweise der KHK wenig, die DCM stellt aber weltweit die häufigste Ursache für eine Herztransplantation dar (Mahon et al., 2000).

Die 5-Jahres-Mortalität beträgt nach neueren Erkenntnissen etwa 20 % (Sugrue et al., 1992) und hat sich somit verbessert, was sowohl auf die erweiterten Therapiemöglichkeiten als auch auf die genauere (und damit schon in einem früheren Stadium mögliche) Diagnostik vor allem durch die Echokardiografie zurückzuführen ist. Der Tod tritt meist entweder durch ma-

ligne ventrikuläre Herzrhythmusstörungen oder durch ein therapierefraktäres Pumpversagen ein.

Nach einer kardialen Dekompensation mit hochgradig eingeschränkter Pumpfunktion kommt es zunächst manchmal im Verlaufe von Wochen bis Monaten zu einer allmählichen Besserung der Pumpfunktion. Oft ist die Pumpfunktion dann über Jahre, manchmal sogar Jahrzehnte, stabil; manche Patienten erleiden allerdings rezidivierend kardiale Dekompensationen (teilweise infektgetriggert oder rhythmogen).

1.2.3 Diagnostik

Die gebräuchliche klinische Einteilung der Herzinsuffizienz in NYHA-Klassen (nach der New York Heart Association; Klasse I – IV entsprechend uneingeschränkter Belastbarkeit trotz Herzkrankheit bis hin zu Beschwerden bereits bei geringster Belastung oder sogar in Ruhe) ist zwar wertvoll zur Beurteilung des Verlaufs und von Therapiemaßnahmen, erlaubt jedoch keine Rückschlüsse auf den Grad der Herzmuskelschwäche.

Die Echokardiografie ist die Methode der Wahl, um das Ausmaß einer Einschränkung der systolischen Ruhepumpfunktion und die Dimensionen der Herzhöhlen (insbesondere des linken Ventrikels) zu erfassen, eine begleitende relative Mitralinsuffizienz darzustellen und Wanddicken sowie Füllungsmuster (diastolische Funktionsstörung?, restriktives Füllungsmuster?) zu bestimmen. Diese Methode eignet sich ebenfalls sehr gut zur Verlaufsbeurteilung der linksventrikulären Pumpfunktion und der Ventrikeldimensionen, versagt allerdings gelegentlich bei Patienten, die (z.B. wegen erheblicher Adipositas oder Lungenüberblähung) schlecht schallbar sind.

Die Echokardiografie kann jedoch weder eine Koronare Herzkrankheit (KHK) ausschließen noch Aussagen über die Ursache der Herzinsuffizienz machen.

Untersuchungsergebnisse von EKG, Röntgen-Thorax oder Labor sind zwar häufig pathologisch, jedoch können diese Veränderungen bei vielen anderen kardialen Erkrankungen in ähnlicher Weise vorliegen.

Als Verlaufsparemeter für das Ausmaß der Herzinsuffizienz bzw. als Hinweis darauf, ob die medikamentöse Therapie ausreichend dosiert ist, eignet sich der Serummarker NT-pro-BNP. Eine Herzkatheteruntersuchung kann eine (relevante) KHK ausschließen und über Druck- und Herz-Zeit-Volumen-Messung auch unter Belastung das Ausmaß der Erkrankung genauer bestimmen als die Echokardiografie und auch andere Kardiomyopathieformen (wie z.B. eine restriktive oder konstriktive Kardiomyopathie) ausschließen. Die eigentliche Ursachenklärung bleibt jedoch der Untersuchung von Endomyokardbiopsien (EMB) vorbehalten (s.u.).

1.2.4 Ursachen der Erkrankung

Es gibt viele verschiedene Erkrankungen, die zum klinischen Bild einer DCM führen können. Früher wurden Kardiomyopathien als „Herzmuskelerkrankungen unklarer Ursache“ definiert und damit den „spezifischen Herzmuskelerkrankungen“ (mit bekannter Ursache) gegenübergestellt. In einer neueren Klassifikation der WHO (Richardson et al., 1996) wurde diese Unterscheidung aufgegeben, da mit zunehmender Kenntnis über die Pathogenese die Abgrenzung dieser Krankheitsbilder voneinander schwierig wird. Darin wird folgende Einteilung der Kardiomyopathien vorgenommen:

- Dilatative Kardiomyopathien (DCM)
- Hypertrophe Kardiomyopathien
- Restriktive Kardiomyopathien
- Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathien

Die DCM wird wiederum unterteilt in

- idiopathische und
- spezifische Kardiomyopathien,

wobei folgende Einteilung der spezifischen Kardiomyopathien vorgenommen wird:

- Familiär/genetische Formen
- Viral oder immun bedingt
- Alkoholtoxisch
- Ischämisch, wenn die eingeschränkte Pumpfunktion nicht allein durch das Ausmaß der Herzkranzgefäßerkrankung erklärt werden kann.
- Herzklappenerkrankungen, wenn auch hier die Pumpfunktion schlechter ist als der Herzklappenfehler erwarten lässt.
- Hypertensiv
- Medikamenten- und Drogen-Nebenwirkung, insbesondere Lithiumsalze, ältere trizyklische Antidepressiva, Doxorubicin, Herceptin; Kokain.
- Metabolisch (z.B. Schilddrüsenerkrankungen, Hämochromatose, Glykogenspeichererkrankungen, Phäochromozytom, Diab. mell., Amyloidose, Ernährungsstörungen)
- Peripartal (bis 6 Monate nach Entbindung)
- Mitbeteiligung des Herzmuskels bei Systemerkrankungen (z.B. chronische Polyarthritiden, systemischer Lupus erythematoses)
- Selten: neuromuskuläre Erkrankungen und Muskeldystrophien

Zwischenzeitlich gibt es eine neuere, allerdings noch als vorläufig anzusehende Klassifikation (Maron et al., 2006), die teilweise auch Defekte an Ionenkanälen („Channelopathien“) zu den Kardiomyopathien zählt. Diese Einteilung ist allerdings nicht unumstritten und wird in der 2007 von der Europäischen Kardiologischen Gesellschaft veröffentlichten Einteilung der Kardiomyopathien (Elliott et al., 2007) nicht ohne Einschränkung akzeptiert.

Bei 20-30 % der Patienten mit „idiopathischer“ DCM wird eine familiäre/genetische Prädisposition vermutet (Grunig et al., 1998; Osterziel et al., 2001); bei einigen Familien konnten Autoantikörper z.B. gegen den Betarezeptor nachgewiesen werden (Limas et al., 1992; Caforio et al., 2006).

Bei den übrigen Patienten ist eine Klassifikation nur selten zweifelsfrei möglich, da auch Mischformen vorkommen können und da viele auslösenden Erkrankungen zu einem relativ einförmigen Krankheitsbild führen, das auch histologisch nicht oft Rückschlüsse auf die Ursache zulässt.

Jedoch wird es zunehmend deutlich, dass immer mehr früher für idiopathisch gehaltene Erkrankungen eine oder mehrere nachweisbare Ursachen haben.

1.2.5 Therapie

Die Therapie besteht hauptsächlich in einer optimalen Herzinsuffizienz-Medikation (ACE-Hemmer bzw. AT-1-Rezeptor-Antagonisten, Betablocker, Diuretika, u.U. auch Digitalis) und ggf. einer Thromboembolie-Prophylaxe (bei schlechter Pumpfunktion, Vorhofflimmern oder stattgehabter, wahrscheinlich kardial bedingter Embolie).

Falls ein Linksschenkelblock mit deutlicher Verbreiterung des QRS-Komplexes und Asynchronie vorliegt, profitieren die Patienten von der Implantation eines biventrikulären Schrittmachers.

Bei Nachweis symptomatischer höhergradiger ventrikulärer Herzrhythmusstörungen oder bei persistierend schlechter Pumpfunktion (Auswurffraktion unter 30-35%) sollte ein Cardioverter/Defibrillator (AICD) zur Prophylaxe des plötzlichen Herztodes implantiert werden, bei symptomatischer sehr schlechter Pumpfunktion kommt als einzige kurative Option eine Herztransplantation in Betracht; ggf. zuvor auch die Implantation eines „assist-device“, einer mechanischen Unterstützungspumpe als „bridge to transplantation“.

Ein körperliches Training galt lange Zeit als kontraindiziert; in letzter Zeit versucht man jedoch, die Alltagsbelastbarkeit durch leichtes, u.U. ärztlich kontrolliertes, Ausdauertraining zu verbessern.

1.3 Übergang einer Myokarditis in eine DCM

Vieles spricht dafür, dass eine Myokarditis in eine DCM münden kann. Die Studien, die eine relativ hohe Mortalität bei Myokarditis zeigten, wurden bereits im Kapitel 1.1.2, Seite 4, vorgestellt. Eine Metaanalyse von zahlreichen klinischen Studien ergab, dass ca. 20 % aller Patienten mit Myokarditis (klinisch diagnostiziert oder histologisch gesichert) innerhalb von 3 Jahren an einer manifesten DCM erkranken (D'Ambrosio et al., 2001).

Umgekehrt sprechen für die entzündliche Herkunft einer DCM Beobachtungen vieler Untersucher, die in Herzmuskelbiopsien von Patienten mit DCM eine chronische Entzündung nachweisen konnten. Im bereits erwähnten Myocarditis Treatment Trial wurde bei 10% aller 2200 Patienten mit Herzinsuffizienz kürzerer Dauer histologisch eine Myokarditis nachgewiesen; eine ähnliche Größenordnung (9%) wurde in einer Untersuchung von Felker nachgewiesen (Felker et al., 2000). Wenn man immunhistologische Kriterien zugrundelegt, so ist der Prozentsatz der DCM-Patienten mit Entzündung sogar noch deutlich höher (Kuhl et al., 1992). Auch die Chagas-Myokarditis gilt als Beispiel einer infektiös-entzündlich bedingten DCM.

Neuere Untersuchungsmethoden, insbesondere die immunhistochemische Untersuchung von Myokardbiopsien und die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von Virusgenom im Myokard, führten zu einem erweiterten Konzept der Entstehung einer Kardiomyopathie aus einer Myokarditis. Dabei werden verschiedene immunologische Mechanismen diskutiert, die entweder einzeln oder zusammen in unterschiedlichem Ausmaß zu einer Myokardschädigung führen können:

1. Direkter zytopathischer Effekt von Viren

Ein Virus mit starker lytischer Potenz kann nach Infektion und Vermehrung im Myozyten eine Lyse der Wirtszellen bewirken, ohne dass das Immunsystem beteiligt ist, und somit bei Befall einer großen Menge von Kardiomyozyten über Fibrose- und Narbenbildung zu einer Herzinsuffizienz führen (Gauntt et al., 1995; Kandolf et al., 1985). Virusproteasen können beispielsweise Dystrophin spalten und somit zu einer Schädigung des Zytoskeletts führen (Badorff and Knowlton, 2004). Langfristig kann es durch beide Mechanismen über Ventrikeldilatation und erhöhte Wandspannung zu einem „remodeling“ der Myokardstruktur und zu einer weiteren Schädigung der Pumpfunktion kommen.

2. Direkte Schädigung durch das Immunsystem

Eine virale Infektion kann nicht nur direkt zu einer virusinduzierten Myozytolyse führen, sondern auch zu einer Antigenprozessierung und -präsentation, wodurch Makrophagen und T-Lymphozyten eine Immunantwort gegen virale Proteine bilden. Dabei werden auch antivirale, proinflammatorische Zytokine gebildet, die verschiedene Zelladhäsionsmoleküle aktivieren (und selbst einen direkten kardiodepressorischen oder proarrhythmogenen Effekt ausüben können) (Maisch et al., 2003; Matsumori, 1996). Dies ermöglicht dann ein Einwandern der immunkompetenten Effektorzellen in das Myokard mit konsekutiver Myozytolyse der virusbefallenen Myokardzellen. Gelegentlich kommt es zu einer Viruspersistenz, die, auch wenn die Viruslast nur gering ist, doch eine chronische Entzündungsreaktion aufrechterhalten kann und somit zu einer kontinuierlichen Zerstörung von Herzmuskelgewebe führt (Pauschinger et al., 1999b).

Normalerweise klingt nach Elimination des Virusgenoms auch die Entzündung ab. Unter bestimmten Voraussetzungen kann es jedoch zu einem Fortbestehen des Entzündungsprozesses kommen, obwohl keine oder keine wesentliche Virusinfektion mehr vorliegt:

3. Postvirale Autoimmunität

So könnten durch die initiale Myozytolyse Antigene wie z.B. Myosin aus dem Inneren der Zelle freigesetzt werden, die normalerweise dem Immunsystem nicht zugänglich sind und es daher aktivieren, so dass B-Lymphozyten (aktiviert von CD4-T-Lymphozyten) Autoantikörper gegen körpereigene Proteine bilden. Auch durch CD8-Zellen ausgelöste Zytotoxizität scheint hierbei eine Rolle zu spielen. Diese Aktivierung könnte sich dann selbst – über fortgesetzte Myozytolysen – unterhalten, auch wenn kein Virusgenom mehr vorhanden ist, und auf diese Weise zu einer kontinuierlichen Zerstörung des Myokards mit allmählicher Verschlechterung der Pumpfunktion führen (Gauntt et al., 1995). Zu diesem Reaktionsmuster scheint der HLA-DR-4 - Haplotyp zu prädisponieren, der interessanterweise bei familiären Formen der DCM gehäuft auftritt (Carlquist et al., 1991) und möglicherweise auch dann eine Rolle spielt, wenn sich keine Virusinfektion nachweisen lässt, es sich also eventuell um eine primär autoimmunologisch bedingte Form der Myokarditis handelt (McKenna et al., 1997; Mahon et al., 2001).

4. Molecular mimicry

Ein anderes Konzept ist das des „molecular mimicry“; hierbei wird vermutet, dass antigene Strukturen der Virusoberfläche bestimmten kardialen Strukturen ähneln, sodass die ursprüng-

lich gegen Viren gebildeten Antikörper dann auch körpereigene Proteine angreifen (Schwimmbeck et al., 2000; Fairweather et al., 2005; Knowlton and Badorff, 1999).

Für eine immunologische Komponente bei der Entstehung einer DCM spricht der Nachweis etlicher Autoimmunphänomene, wie z.B. Immunglobulinablagerungen an der Zellmembran und an intrazellulären Strukturen wie dem kontraktilen Apparat oder den Mitochondrien.

Als Autoantigene wurden dabei unter anderem der Calcium-Kanal, das Connexon der Gap junctions, der ADP/ATP-Carrier, das Myosin (Caforio et al., 1990; Huber et al., 1985; Limas et al., 1989; Schultheiss, 1992) und das Troponin erkannt.

Autoimmunphänomene lassen sich sowohl im humanen Myokard als auch bei Tiermodellen nachweisen; eine Myokarditis lässt sich zum Beispiel bei Balb/c-Mäusen sowohl durch Infektion mit Viren (insbesondere mit Coxsackie-Virus B3) als auch durch Immunisierung mit verschiedenen Antigenen (z.B. Myosin, ADP/ATP-Carrier) induzieren.

Eine besondere Rolle bei der Entwicklung einer Myokardschädigung aufgrund einer Myokarditis spielen offenbar Zytokine, die sowohl direkt zytotoxisch wirken können (z.B. TNF α , Interleukin-1 und -6) als auch zytotoxische T-Zellen aktivieren können. Eine Erhöhung von TNF α kann eine Myokardschädigung verstärken (Yamada et al., 1994).

1.4 Spezielle Diagnostik

1.4.1 Myokardbiopsieentnahme

Die biopsische Gewinnung von Herzmuskelgewebe wird seit ca. 1965 durchgeführt (Sakakibara and Konno, 1962; Sakakibara and Konno, 1967; Konno et al., 1971), ist allerdings von einem routinemäßigem Einsatz wie beispielsweise die Linksherzkatheteruntersuchung noch weit entfernt. Zum einen fürchtet man Komplikationen wie Perikarderguss und Perikardtamponade, zum anderen wird die diagnostische Wertigkeit und der sich aus der Diagnostik ergebende therapeutische Nutzen bezweifelt.

Die Komplikationsrate der rechtsventrikulären Myokardbiopsieentnahme ist jedoch sehr gering (<0,4% Perikardtamponaden mit extrem seltenem tödlichem Ausgang (Fowles and Mason, 1982; Frustaci et al., 2002; Maisch, 1999)).

Die Untersuchung der gewonnenen Myokardproben erfolgt konventionell lichtmikroskopisch, immunhistologisch, mittels PCR-Diagnostik sowie bei bestimmten Fragestellungen elektronenmikroskopisch.

1.4.2 Dallas-Kriterien

Eine Reihe von Untersuchungen in den 80er Jahren wies auf eine erhebliche Diskrepanz der Häufigkeit histologisch positiver Befunde bei Myokarditis hin (Billingham, 1987; Chow et al., 1989; Olsen, 1985). Dies wurde insbesondere auf die hohe „interobserver variability“, die große Varianz der Beurteiler, zurückgeführt, und es wurde versucht, mit Hilfe der Dallas-Kriterien zu einer einheitlichen Definition zu kommen (Aretz, 1987).

Eine akute Myokarditis ist demnach durch den Nachweis von Myozytolysen zusammen mit lymphozytären Infiltraten gekennzeichnet.

Bei einer „borderline“-Myokarditis sind zwar lymphozytäre Infiltrate, jedoch keine Myozytolysen nachweisbar.

Falls die Lymphozyteninfiltration in einer Kontrollbiopsie persistiert, spricht man von einer „ongoing“-Myokarditis, bei einer Verringerung der Lymphozytenzahl von „healing“ und bei im Verlauf nicht mehr nachweisbarer Entzündung von einer „healed“ Myokarditis.

Auch diese Klassifikation brachte nicht den gewünschten Erfolg (weiterhin große Unterschiede in der Häufigkeit der Diagnose einer Myokarditis von 0 – 67%).

Dies hat mehrere Ursachen:

1. Schwierigkeit der Lichtmikroskopie, Lymphozyten von anderen Zellen im Myokard abzugrenzen.
2. „sampling error“, die unterschiedliche Verteilung infiltrierender Lymphozyten in verschiedenen Gewebeproben. Hierzu wurde eine Studie durchgeführt (Hauck et al., 1989), in der gezeigt wurde, dass selbst bei 10 untersuchten Biopsien pro Patient (mit autoptisch gesicherter Myokarditis) noch 40% falsch-negative Befunde erhoben wurden (bei Anwendung der Dallas-Kriterien), weil die infiltrierenden Lymphozyten oft nur fokal anzutreffen sind.
3. „interobserver variability“, unterschiedliche Beurteilung derselben Probe durch verschiedene Pathologen. Obwohl im randomisierten multizentrischen US Myocarditis Treatment Trial (Mason et al., 1995) die Pathologen in der einheitlichen Anwendung der Kriterien geschult worden waren, stimmten in der abschließenden Beurteilung die Pathologie-Experten nur bei 64% der gestellten Diagnose einer aktiven oder „borderline“-Myokarditis überein. Es waren vor allem die Schwierigkeiten bei der Diagnose von Myozytolysen, die trotz einheitli-

cher Schulung und Anwendung der Dallas-Kriterien zu diskrepanten Untersuchungsergebnissen führten.

4. Auch ermöglicht die herkömmliche Lichtmikroskopie keine Aussage über den Aktivierungszustand des Myokards. Speziell bei chronischen Verläufen einer Myokarditis bzw. DCM ist eine massenhafte fokale Lymphozyteninfiltration eher selten, Myozytolysen treten kaum einmal auf, so dass auch die Empfehlung der American Heart Association dahin geht, entzündliche Kardiomyopathieformen nicht nur histologisch, sondern auch immunhistologisch zu diagnostizieren (Richardson et al., 1996; Cooper et al., 2007).

1.4.3 Immunhistologie

Die größere Sensitivität der Immunhistologie wurde unter anderem durch eine Studie bestätigt, in der Herzmuskelbiopsien vergleichend nach den Dallas-Kriterien und immunhistologisch untersucht wurden; dabei wurde eine Entzündung immunhistologisch bei 43 % der Patienten, nach Dallas-Kriterien nur bei 4,3 % (borderline-Myokarditis) bzw. 1,3 % (akute Myokarditis) gefunden (Kuhl et al., 1997).

Bei der immunhistologischen Untersuchung werden T-Zell-Oberflächenantigene mit monoklonalen Antikörpern gegen verschiedene Lymphozytensubpopulationen markiert und mittels kräftiger Farbreaktion sichtbar gemacht. Auf diese Weise können sehr spezifisch auch geringe Mengen infiltrierender Lymphozyten entdeckt, von anderen Zellarten (z.B. Fibroblasten) unterschieden, näher charakterisiert und quantifiziert werden. Auch die Zelladhäsionsmoleküle (z.B. HLA-I, HLA-DR und ICAM) können auf diese Weise angefärbt werden (Abbildung 1-8).

Diese Oberflächenantigene werden von den Endothelzellen, immunkompetenten Zellen und Kardiomyozyten exprimiert (teils im Sinne einer „baseline expression“, d.h. auch im nicht entzündlich veränderten Myokard nachweisbar (z.B. ICAM-1), teils nur bei Aktivierung exprimiert, wie z.B. E-Selektin). Diese Adhäsionsmoleküle vermitteln einerseits die Anlagerung der Lymphozyten an Endothelzellen, andererseits werden durch solch eine Bindung auch Signale innerhalb der Zellen weitergegeben (z.B. Proliferation oder Apoptose).

HLA-DR stellt dabei den Corezeptor für CD4-positive Lymphozyten, HLA-I den Corezeptor für CD8 dar; beide gehören zum „major histocompatibility complex“ (MHC) und sind zur Aktivierung der T-Lymphozyten erforderlich.

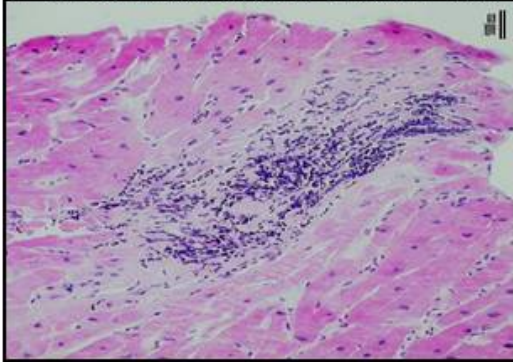
Durch Zytokinerhöhung und Chemokinausschüttung wird die Migration von Zellen des Immunsystems durch das Endothel ins Myokard bewirkt, und die Expression der CAM wird durch Zytokine, beispielsweise IFN, TNF und IL-2 verstärkt. Damit wird verständlich, dass eine verstärkte Anfärbung einer erhöhten myokardialen Entzündungsaktivität entspricht, und wahrscheinlich kann aufgrund der gleichmäßigeren Verteilung der Zelladhäsionsmoleküle (im Vergleich zu den oft nur fokal anzutreffenden Lymphozyten) der „sampling error“ verringert werden. Die Darstellung der Zelladhäsionsmoleküle könnte außerdem eine quantitative Einschätzung des Aktivitätsgrades einer myokardialen Entzündung ermöglichen.

Eine allgemein akzeptierte Empfehlung zur standardisierten Durchführung der immunhistochemischen Diagnostik der myokardialen Entzündung liegt zwar noch nicht vor; die dieser Arbeit zugrunde liegenden Kriterien waren allerdings Grundlage der Neufassung der bereits zitierten Neueinteilung der Kardiomyopathien (Richardson et al., 1996).

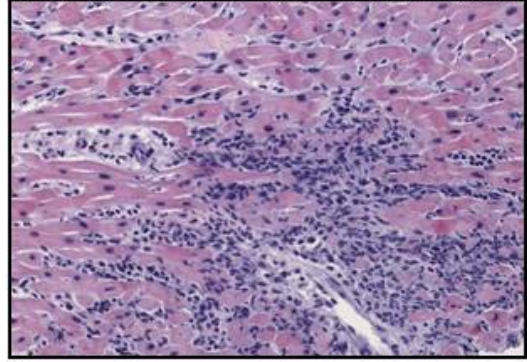
Bei allen genannten Vorteilen der immunhistologischen Analyse von Myokardbiopsien hat die histologische Begutachtung jedoch ihren Stellenwert bei der Diagnostik von Speichererkrankungen, von toxischen, systemischen und von medikamentös induzierten Kardiomyopathieformen behalten; auch die Beurteilung der Morphologie (Fibrose, Hypertrophie, Myozytolyse, Gefäße etc.) gelingt aufgrund der durch Formalinfixierung gut erhaltenen Gewebestruktur besser als anhand von Gefrierschnitten, die für die Immunhistologie verwendet werden sollten.

- | | |
|---------------------------|---|
| Abbildung 1 und 2: | Histologie, HE-Färbung, akute Myokarditis |
| Abbildung 3 und 4: | Immunhistologie; unauffällige (Grad1) und deutlich verstärkte HLA-I-Expression |
| Abbildung 5, 6, 7: | CD3; 5: unauffällig, 6: fokal erhöht, 7: in Clustern |
| Abbildung 8: | 3 angefärbte Makrophagen |

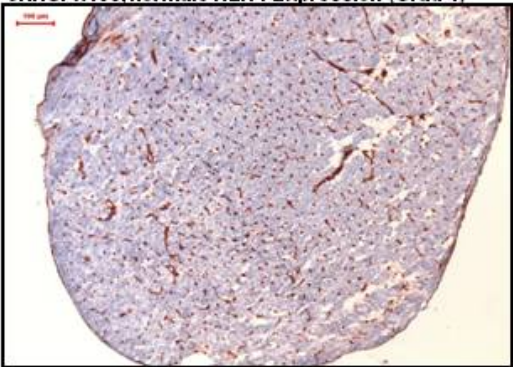
1. Histologie: HE, x200, fokale Lymphozyteninfiltration



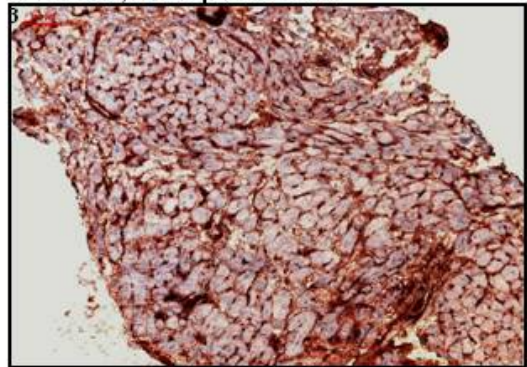
2. Histologie: HE, x200, diffuse Lymphozyteninfiltration



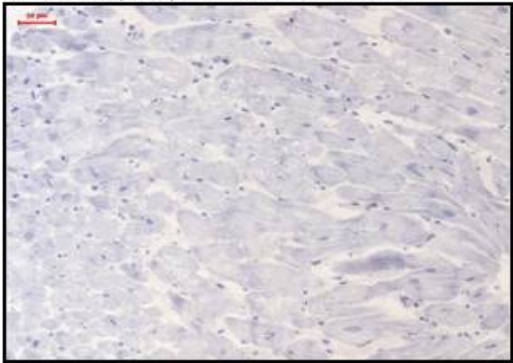
3. IHS: x100, normale HLA-I-Expression (Grad 1)



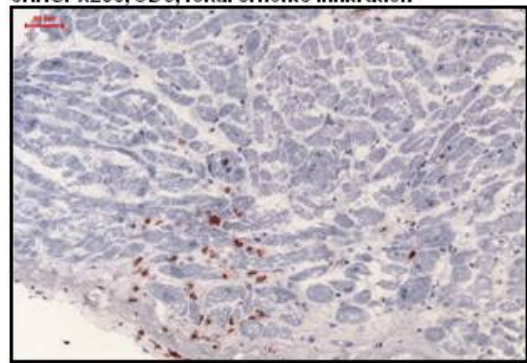
4. IHS: x150, HLA-Expression Grad



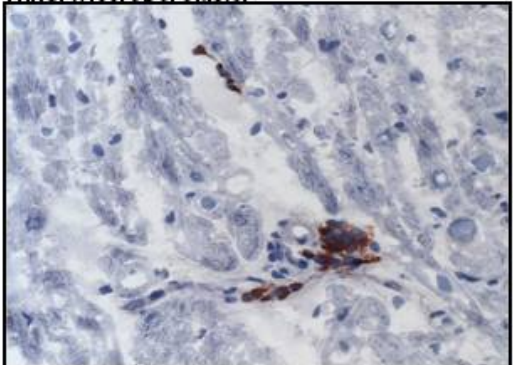
5. IHS: x200, CD3, keine erhöhte Infiltration



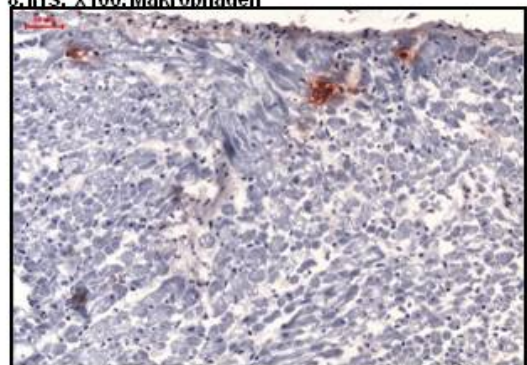
6. IHS: x200, CD3, fokal erhöhte Infiltration



7. IHS: x400, CD3, Cluster



8. IHS: x100, Makrophagen



1.4.4 Virusnachweis im Myokard

Eine weitere Neuerung in der Diagnostik der Myokarditis/DCM gelang mit der Einführung zunächst der Dot-blot-Technik und der in-situ-Hybridisierung, dann der Polymerase-Kettenreaktion (polymerase chain reaction, PCR) zu Beginn der 90er Jahre; hierbei konnte erstmals durch Amplifizierung von Virus-DNA bzw. -RNA aus Myokardbiopsien Virusgenom nachgewiesen werden, was zuvor mit den klassischen Methoden der Virusisolation nicht gelungen war (Jin et al., 1990a; Why et al., 1994; Pauschinger et al., 1999b; Baboonian et al., 1997).

Zunächst wurden Enteroviren nachgewiesen, später kamen Adenoviren hinzu, und in letzter Zeit sind es Parvoviren B19, Humane Herpesviren sowie Epstein-Barr-Viren, die das Interesse auch der Kliniker erregen, da sie relativ häufig nachgewiesen werden können (Schowengerdt et al., 1997; Rohayem et al., 2001; Koga, 2001; Kuhl et al., 2005). Weitere Viren von klinischer Bedeutung sind Hepatitisviren (Matsumori et al., 1995) sowie HIV (Barbaro and Lipshultz, 2001).

Es scheint, als ob es sowohl im zeitlichen Verlauf als auch geografisch Unterschiede in der Häufigkeit bestimmter Viren gibt – beispielsweise lassen sich in letzter Zeit deutlich weniger Entero- und Adenovirus-positive Biopsien finden als in den 90er Jahren; und in Asien wird bei erheblich mehr Patienten das Hepatitis-C-Virus nachgewiesen als in Amerika oder Europa.

1.5 Ziel der vorliegenden Arbeit

Wie aus dem oben Angeführten hervorgeht, ist die Diagnose der Myokarditis in der Regel nicht einfach. Ebenfalls ist es noch unklar, wie häufig bei Patienten mit dem klinischen Bild einer DCM eine myokardiale Entzündung zugrunde liegt.

Ein Ziel der Arbeit war es daher, die klinischen Symptome und die apparativ erhobenen Befunde von Patienten mit Verdacht auf Myokarditis und DCM zu erfassen und in Beziehung zu den Ergebnissen der immunhistologischen Untersuchung ihrer Myokardbiopsien zu setzen.

Es liegen nur wenige Daten über den Spontanverlauf der Myokarditis vor. Die eingangs zitierten Studien diagnostizierten eine Myokarditis ausschließlich histologisch, so dass einerseits die Häufigkeit einer Myokarditis unterschätzt, andererseits vermutlich überwiegend Patienten mit schwerem Krankheitsbild eingeschlossen wurden.

In der vorliegenden Arbeit wurde daher bei den Patienten, die mehrfach im Verlauf von wenigen Monaten bis mehreren Jahren myokardbiopsiert wurden, anhand der immunhistologischen und virologischen Befunde sowie der hämodynamischen Parameter die Entwicklung der Herzerkrankung beschrieben.

Anhand der immunhistologischen Marker in Verbindung mit den klinischen Daten wurde außerdem versucht, eine auf immunhistologischen Kriterien basierende Einteilung der myokardialen Entzündung zu entwickeln, die die unterschiedlichen klinischen Befunde berücksichtigen soll.

Dabei wurde nach charakteristischen, prognostisch relevanten immunhistologischen Befundkonstellationen gesucht, damit möglicherweise die Patienten identifiziert werden können, bei denen – aufgrund des zu erwartenden ungünstigeren Spontanverlaufes – eine frühzeitige immunsuppressive oder immunmodulatorische Therapie eingesetzt werden sollte (und umgekehrt auch die Patienten, bei denen ein eher günstiger Verlauf anzunehmen ist).

2 Patientenkollektiv, Material und Methoden

2.1 Patienten

Es wurden alle an unserer Klinik entnommenen Myokardbiopsien von 5113 Patienten immunhistologisch aufgearbeitet und die wesentlichen klinischen Angaben sowie apparativ erhobenen Befunde erfasst. Da es ein wesentliches Ziel der Arbeit war, den spontanen Verlauf von Myokarditis und DCM zu erfassen, wurden aus dieser Gruppe alle Patienten ausgewählt, deren linksventrikuläre Ejektionsfraktion (EF) in zeitlichem Abstand mindestens zweimal kateterangiografisch gemessen worden war und die in dieser Zeit nicht immunsuppressiv oder immunmodulatorisch behandelt wurden.

Daraus ergab sich ein Patientenkollektiv von 527 Patienten, das, wenn nicht anders erwähnt, die Grundlage der in dieser Arbeit vorgestellten Daten ist. Diese Gruppe wurde in Bezug auf die wesentlichen Ergebnisse mit dem Gesamtkollektiv verglichen, um zu überprüfen, ob relevante Unterschiede bestanden. Untersuchungen an einem Kontrollkollektiv waren nicht möglich, da aus ethischen Gründen eine Myokardbiopsieentnahme bei Patienten ohne Verdacht auf Herzmuskelerkrankung nicht ohne weiteres durchgeführt werden kann. (Aus früheren Untersuchungen lagen jedoch Ergebnisse der immunhistologischen Analyse von Autopsieherzen, explantierten Herzen und Biopsien von Patienten mit nicht-entzündlichen Herzerkrankungen vor).

Diese 527 Patienten wurden zur Abklärung einer eingeschränkten linksventrikulären Pumpfunktion, bei Verdacht auf Myokarditis oder mit anderen Symptomen (z.B. Leistungsknick, Angina pectoris), die auf eine Herzerkrankung hindeuteten, invasiv untersucht.

Dabei wurden immer bei der ersten Herzkatheteruntersuchung und bei 485 (92%) Patienten während der zweiten Herzkatheteruntersuchung Herzmuskelbiopsien entnommen, die wie unten beschrieben aufgearbeitet wurden. Einige Patienten wurden im Verlauf mehrfach biopsiert; 127 Patienten insgesamt dreimal, 45 Patienten viermal, 15 Patienten fünfmal und 3 Patienten sechsmal (dies dann häufig zur Kontrolle nach einer immunsuppressiven oder immunmodulierenden Therapie).

Eine koronare Herzkrankheit war invasiv zuvor immer ausgeschlossen worden, ebenfalls andere Krankheiten, die die Symptome eindeutig hätten erklären können (z.B. Cor hypertensivum, höhergradiger Herzklappenfehler).

2.2 Gewinnung von Probenmaterial und Aufarbeitung

Die Myokardbiopsien wurden bei einer Rechtsherzkatheteruntersuchung mittels perkutanen Zugangs meist über die rechte Vena femoralis mit einem Cordis-Bioptom (Cordis GmbH, Berlin) entnommen.

Die Biopsien für die lichtmikroskopische histologische Begutachtung wurden in zehnprozentigem gepuffertem Formalin fixiert und in Paraffin eingebettet, sodann in der histologisch-pathologischen Abteilung des Krankenhauses mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt und ausgewertet.

Für die immunhistologische Aufarbeitung wurden die Biopsien in OCT-Compound (Tissue-Tec, Miles-Diagnostics, USA) eingebettet und in Methylbutan in flüssigem Stickstoff schockgefroren und bis zur weiteren Analyse bei -70°C (durchschnittlich wenige Tage, maximal drei Wochen) gelagert.

In einem Kryostat (Fa. Leica, Deutschland) wurden dann 5 Mikrometer dünne Serienschnitte angefertigt und auf Objektträger aufgebracht, die zuvor mit 10%iger poly-L-Lysin-Lösung beschichtet worden waren. Das Gewebe wurde in Gruppen von 6-9 Schnitten mit einem PAP-Pen (Dako GmbH, Deutschland) umrahmt, damit sich bei der späteren Antikörperinkubation die verschiedenen Antikörper nicht vermischen und die Schnitte durch Auseinanderlaufen der Lösung nicht austrocknen.

Anschließend wurden die Schnitte in 4°C kaltem Aceton für 10 Minuten fixiert und danach für 10 Minuten an der Raumluft getrocknet.

Zur Inhibition der endogenen Peroxidase-Aktivität wurden die Schnitte in 0,3%iger Wasserstoffperoxidlösung in PBS (phosphate buffered saline, pH 7,4) für 20 Minuten inkubiert. Nach drei Waschsritten in PBS über je 5 Minuten erfolgte der erste Markierungsschritt, bestehend aus der Beschichtung mit Maus-anti-Human-Antikörpern gegen CD2, CD3, CD4, CD8, IL45-RO, Makrophagenantikörper 102, HLA -I, HLA-DR und ICAM-1 (Firmen: Dianova GmbH Deutschland und Dako GmbH Deutschland), und anschließender Inkubation bei Raumtemperatur über 60 Minuten in einer Feuchten Kammer. Zum Ausschluss einer unspezifischen Färbung wurden bei jeder Färbung 6 Schnitte statt mit Primärantikörper nur mit PBS/FCS-Puffer (5% fetales Kälberserum (FCS) in PBS) inkubiert. Die Antikörperverdünnung wurde an humanem Tonsillengewebe ausgetestet und für jeden neuen Klon erneut bestimmt.

Nach dreimaligem Waschen in PBS über je 5 Minuten wurden die Objektträger anschließend mit dem Sekundärantikörper (Peroxidase-konjugierter polyklonaler Kaninchen-anti-Maus-Antikörper, Dianova GmbH Deutschland, Verdünnung 1:200) für 45 Minuten erneut in der Feuchten Kammer inkubiert.

Nach erneutem dreimaligem Waschen in PBS über 5 Minuten wurden die Schnitte dann mit 3-Amino-9-Ethylcarbazol (AEC; Merck AG, Deutschland) gefärbt und abschließend mit erhitzter Kaisers Glyceringelatine eingedeckt.

Die Auswertung erfolgte nach Trocknen der Objektträger „manuell“ (d.h. nicht automatisiert), indem mittels eines Mikroskops (Leica GmbH Deutschland) bei einer Vergrößerung von 1:100 (Übersicht; Auswertung der CAM-Färbung) bzw. bei 1:400 (Auswertung der Lymphozytenmarker) alle verfügbaren Gewebeschnitte mäanderförmig durchmustert wurden. Die eindeutig rot angefärbten Lymphozyten wurden pro Gesichtsfeld gezählt, und in der Gesamtauswertung wurde dann der Mittelwert infiltrierender Zellen pro Gesichtsfeld errechnet; dies entspricht einer Fläche von 0,28 mm².

Die CAM-Marker lassen sich mit dem Auge nicht eindeutig quantitativ erfassen; hier wurde eine semiquantitative Auswertung vorgenommen und das Maß der Rotfärbung von interstiellen Zellen und Endothelzellen subjektiv eingeschätzt:

- Grad 0 Keine sichtbare Aktivität
- Grad 1: Schwach (= normal) ausgeprägte Aktivität
- Grad 2: Verstärkte Aktivität
- Grad 3: Sehr stark ausgeprägte Aktivität

Die Antikörper färben folgende Antigene an:

<u>Antigen</u>	<u>Zellen, die das Antigen exprimieren</u>	<u>Funktion</u>
CD2	T-Zellen, Thymozyten, NK-Zellen	Adhäsionsmolekül
CD3	Thymozyten, T-Zellen	Mit dem T-Zell-Rez. assoziiert
CD4	2/3 der peripheren T-Zellen, Th1+Th2-Z.	Corezeptor für MHC-II
CD8	zytotox. T-Zellen; 1/3 der periph. T-Zellen	Corezeptor für MHC-I
CD45RO	Untergruppen von T-+B-Zellen, Monozyten	Tyrosinphosphatase
Ma 102	aktivierte Makrophagen	
HLA I	fast alle Körperzellen	Antigenpräsentation (MHC I)
HLA DR	fast alle Körperzellen	Antigenpräsentation (MHC II)
ICAM 1	=CD54; hämatopoetische Zellen u.a.	Adhäsionsmolekül

B-Zellen und natural killer (NK)-Zellen wurden in früheren Untersuchungen nicht nachgewiesen, daher hier nicht mehr aufgeführt.

Die Auswertung erfolgte über die Zeitspanne, in der die hier untersuchten Myokardbiopsien entnommen wurden, nur von der Verfasserin der vorgelegten Arbeit ohne Kenntnis der Patientenanamnese oder der klinischen Diagnose.

PCR-Analyse zum Virusnachweis aus Myokardbiopsien

Der Virusnachweis mittels PCR-Amplifikation von Virusgenom wurde im Rahmen der Routinediagnostik in unserem Labor nach veröffentlichter Methode (Pauschinger et al., 1999a) durchgeführt.

2.3 Statistische Analyse

Es wurde das Statistikprogramm JMP IN (Version 5.1, SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) verwendet.

In der deskriptiven Statistik wurden (wenn nicht anders angegeben) bei normalverteilten Daten der Durchschnittswert (mean) und in Klammern dahinter die Standardabweichung, bei nicht-normalverteilten Daten der Median und in Klammern dahinter der Wert der 25%- und der 75%-Quartile angegeben.

Ein Zusammenhang wurde als statistisch signifikant angesehen, wenn $p < 0,05$ war.

Wenn keine Normalverteilung vorlag, wurden nur nicht-parametrische Tests angewandt.

Ordinal- bzw. Nominaldaten wurden mit dem Chi-Quadrat-Test, kontinuierliche Daten mit Ordinaldaten mittels Wilcoxon/Kruskal-Wallis-Test und kontinuierliche Datengruppen wurden mit Varianz-Analyse verglichen und die Signifikanz von Unterschieden mit dem Student's t-Test (unverbundene normalverteilte Daten), dem t-Test für verbundene Proben (verbundene normalverteilte Daten) bzw. mit dem Wilcoxon-Test (nicht-normalverteilte Daten) berechnet.

3 Ergebnisse

3.1 Ergebnisse zum Zeitpunkt der 1. invasiven Diagnostik

Zunächst werden die klinischen, invasiv erhobenen und immunhistologischen Daten einer Gruppe von 527 Patienten mit Herzmuskelerkrankungen dargestellt und anschließend die Beziehungen zwischen immunhistologischen Ergebnissen und den klinischen / anamnestischen Befunden analysiert.

3.1.1 Alter und Pumpfunktion (Angiografie und Echokardiografie)

Das durchschnittliche Alter betrug 46,9 Jahre, der jüngste Patient war 15 Jahre alt, der älteste 77 Jahre alt. Männer und Frauen unterschieden sich hierbei nicht signifikant ($p=0,58$).

Die Pumpfunktion dieser Patienten war zum Zeitpunkt der ersten Untersuchung durchschnittlich etwas eingeschränkt; der Median der angiografisch bestimmten EF lag bei 55% (Normalwert ca. 65 – 75%).

Drei Viertel der Patienten (75%-Quartil der EF 66%) hatten somit keine normale Pumpfunktion, wenn auch das Ausmaß der Einschränkung nur bei einem kleinen Teil der Patienten deutlich war. Die mykardiale Pumpfunktion der untersuchten Frauen war höchst signifikant besser als die der Männer (EF 58% gegenüber 49%), $p < 0,0001$.

Für die nachfolgenden Untersuchungen wird das Patientenkollektiv in zwei Gruppen mit EF größer bzw. kleiner als 45% eingeteilt. Diese Unterteilung ist willkürlich, folgt aber klinisch gebräuchlichen Klassifikationen der DCM und trennt Patienten mit klinisch (und wohl auch prognostisch) relevanter Kardiomyopathie von denen mit normaler oder nur mäßig eingeschränkter Pumpfunktion. Eine Trennung von Patienten mit Myokarditis und denen mit DCM ist hierdurch allerdings nicht möglich.

Nach dieser Einteilung gehören etwa 2/3 der hier untersuchten Patienten zur Gruppe mit EF >45%, und zwar signifikant mehr Frauen als Männer.

3.1.1.1 Herzkatheterbefunde

Die Aufteilung der Pumpfunktion in EF \leq 45% zeigt erwartungsgemäß eine signifikante Differenz aller Hämodynamik-Parameter, die die Pumpfunktion charakterisieren, hingegen

keinen Unterschied bezüglich des RA-Drucks und bei Frauen des RV-Drucks (Tabelle 1, Tabelle 2); aus Gründen der Übersichtlichkeit für Männer und Frauen getrennt.

Tabelle 1 Herzkatheter-Hämodynamik bei Männern, n=353; p bezieht sich auf Diff. EF </>45%

	gesamt	EF < 45% n=149	EF > 45% n=204	p
EF (%)	49,1 (±18,7)	30,4 (± 9,7)	62,5 (± 9,9)	n.a.
SVI (l/m ²)	46 (±14,9)	39 (±13,4)	50 (±14,2)	<0,0001
HI (l/min/m ²)	3,3 (±0,9)	2,9 (±0,8)	3,5 (±0,9)	<0,0001
LVEDP (mm Hg)	12,2 (±7,1)	15,9 (±8,2)	10 (±5,2)	<0,0001
LV syst. (mm Hg)	118 (±20,7)	113 (±20,2)	122 (±20,1)	0,007
LV dia. (mm Hg)	9,0 (±7,3)	11 (±8,4)	7,3 (±5,8)	0,009
RA mittel (mm Hg)	4,8 (±3,4)	5 (±3,5)	4,6 (±3,3)	0,23
PA mittel (mm Hg)	16,6 (±8,3)	20 (±9,6)	14 (±6,4)	<0,0001
PA syst. (mm Hg)	26,2 (±11,2)	32 (±12,9)	23 (±8,7)	<0,0001
PA diast. (mm Hg)	11,3 (±6,8)	15 (±8,1)	9,1 (±4,6)	0,0003
PC (mm Hg)	10 (±6,3)	13 (±7,6)	8 (±4,2)	<0,0001
RV syst. (mm Hg)	30 (±10,1)	34 (±11,7)	27 (±7,8)	<0,0001
RV diast. (mm Hg)	4,8 (±3,7)	5,5 (±4,1)	4,3 (±3,3)	0,02
RVEDP (mm Hg)	5,8 (±3,4)	6,6 (±3,7)	5,4 (±3,2)	0,002

Tabelle 2 Herzkatheter-Hämodynamik bei Frauen, n=174; p bezieht sich auf Diff. EF </>45%

	gesamt	EF < 45% n=31	EF > 45% n=143	p
EF (%)	58,0 (±16,3)	32,2 (± 8,0)	63,6 (± 11,5)	n.a.
SVI (l/m ²)	46,8 (±13,3)	36 (±13,5)	49 (±12,2)	0,0003
HI (l/min/m ²)	3,3 (±0,9)	2,8 (±0,8)	3,4 (±0,8)	0,004
LVEDP (mm Hg)	10 (±6,6)	16 (±11,1)	9 (±4,7)	0,0007
LV syst. (mm Hg)	129 (±21,9)	115 (±14,3)	131 (±22,1)	0,007
LV diast. (mm Hg)	6,9 (±6,0)	9,4 (±6,9)	6,6 (±5,3)	0,009
RA mittel (mm Hg)	4,4 (±3,6)	4,6 (±2,9)	4,4 (±3,7)	0,58
PA mittel (mm Hg)	14 (±6,8)	20 (±9,7)	13 (±5,2)	<0,0001
PA syst. (mm Hg)	23 (±8,8)	32 (±13,4)	22 (±6,2)	<0,0001
PA diast. (mm Hg)	8,7 (±4,5)	12 (±6,3)	8 (±3,6)	0,0003
PC (mm Hg)	8 (±6,0)	13 (±9,6)	7 (±4,6)	0,004
RV syst. (mm Hg)	27 (±8,7)	34 (±11,6)	26 (±7,4)	0,0005
RV diast. (mm Hg)	4 (±3,6)	4 (±3,8)	4 (±3,6)	0,47
RVEDP (mm Hg)	5,6 (±3,6)	5,6 (±4,0)	5,6 (±3,5)	0,73

3.1.1.2 Echokardiografische Befunde

Die an unserem Patientenkollektiv gemessenen Daten passen sehr gut zu den invasiv gemessenen Werten. Keinen Unterschied zwischen Patienten mit EF \leq 45% gibt es bei den Wanddicken; Patienten mit cor hypertensivum (erhöhter Blutdruck als Hypertrophieursache) oder Hypertropher Kardiomyopathie waren nicht in das untersuchte Patientenkollektiv aufgenommen worden (Tabelle 3).

Tabelle 3 Echokardiografie-Daten, n Gesamt=421; Männer EF \leq 45%: n=109, EF $>$ 45%: n=168; Frauen EF \leq 45%: n=21, EF $>$ 45%: n=123. p bezieht sich Diff. EF \leq / $>$ 45%.

		gesamt	EF \leq 45%	EF $>$ 45%	p
LA (mm)	Männer	42 (\pm 7,4)	46 (\pm 6,7)	39,1 (\pm 6,6)	<0,0001
	Frauen	36 (\pm 6,8)	42 (\pm 8,4)	34,7 (\pm 5,9)	0,002
LVEDD (mm)	Männer	61 (\pm 9,3)	68 (\pm 8,7)	56 (\pm 6,3)	0,0001
	Frauen	58 (\pm 8,7)	67 (\pm 5,1)	51 (\pm 7,1)	<0,0001
LVESD (mm)	Männer	44 (\pm 12,7)	56 (\pm 10,1)	37 (\pm 8,1)	<0,0001
	Frauen	37 (\pm 10,7)	55 (\pm 5,4)	34 (\pm 8,1)	<0,0001
FS (%)	Männer	25 (\pm 13,3)	17 (\pm 7,4)	30 (\pm 13,6)	<0,0001
	Frauen	28 (\pm 13,4)	14 (\pm 8,6)	30 (\pm 12,5)	<0,0001
MSS-A. (mm)	Männer	13 (\pm 8,5)	19 (\pm 7,0)	7 (\pm 5,9)	<0,0001
	Frauen	9 (\pm 7,5)	19 (\pm 3,4)	6 (\pm 6,1)	<0,0001
IVS (mm)	Männer	10 (\pm 2,4)	10 (\pm 1,7)	10 (\pm 2,0)	0,6
	Frauen	10 (\pm 1,8)	9 (\pm 1,4)	10 (\pm 1,8)	0,07
HW(mm)	Männer	10 (\pm 1,9)	10 (\pm 1,7)	10 (\pm 2,0)	0,4
	Frauen	9 (\pm 1,5)	10 (\pm 1,7)	9 (\pm 1,5)	0,36

3.1.2 Immunhistologische Befunde

Zunächst folgt eine deskriptive Auflistung der Verteilung von Lymphozyten (Tabelle 4) und CAM-Expression (Abbildung 9). Aus ihr geht hervor, dass von den zellulären Markern CD2- und CD3-positive Lymphozyten in der höchsten Zahl nachgewiesen werden können (CD2 und CD3 etwa gleich hoch). CD4 und CD8 sind ebenfalls gleich hoch und ergeben zusammen etwa den Wert der CD3-Zellen. Dies entspricht der Erwartung, da CD3-positiven Zellen in der Regel entweder CD4- oder CD8-positiv sind. Ebenfalls ist angegeben, wie häufig fokale Lymphozyteninfiltrationen von mehr als 2 Zellen („Zellcluster“) auftreten. CD2- und CD3-Zell-Cluster werden häufiger beobachtet als die der übrigen Zellmarker.

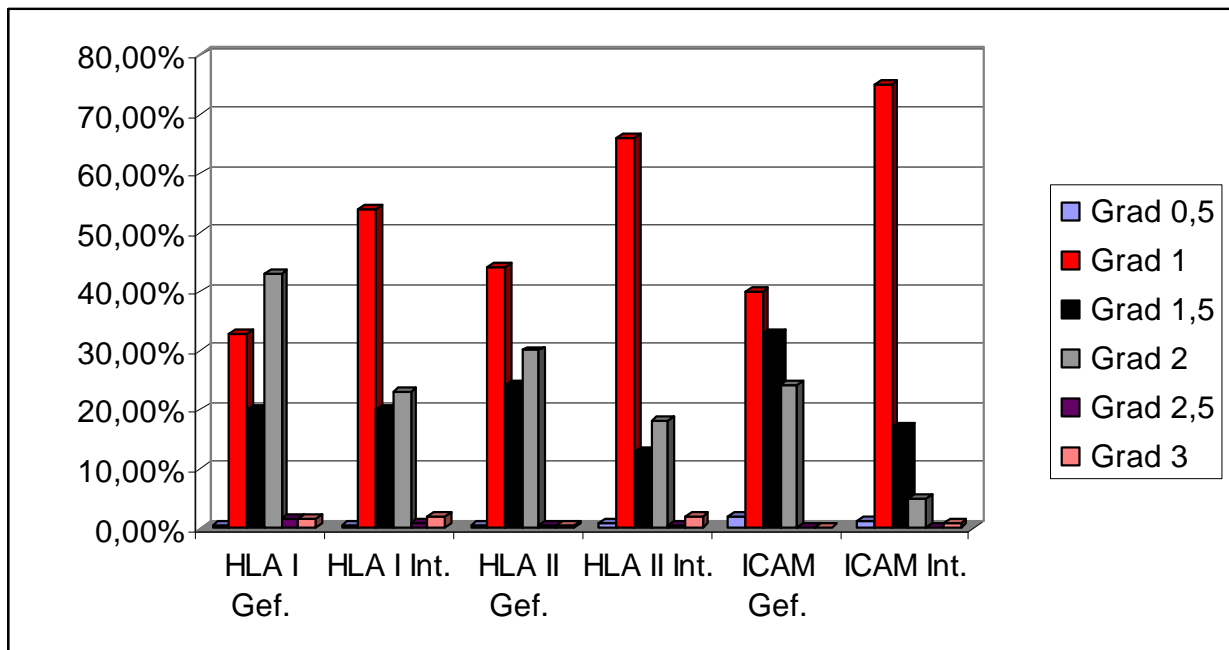
Die Graduierung der HLA-Expression beinhaltet bereits eine gewisse Wertung; hier ist wegen des diffusen Verteilungsmusters eine Auszählung Zelle für Zelle nicht möglich, und es wird eine semiquantitative Gradeinteilung vorgenommen. Dabei unterscheidet man zwischen Anfärbung auf dem Gefäßendothel und auf interstitiellen Zellen; hierbei ist die Antigenexpression auf den Endothelzellen stärker ausgeprägt als auf den interstitiellen Zellen.

Weder die Lymphozytenzahlen noch die CAM-Expression sind normalverteilt.

Tabelle 4 Häufigkeitsverteilung der Lymphozytenmarker (Zellen pro Quadratmillimeter); n=527

	Min.	25%Quartil	Median	75%Quartil	Max.	Cluster
CD2	0,0	3,2	5,7	9,3	178,5	42%
CD3	0,1	3,6	6,4	10,4	267	39%
CD4	0,0	1,4	2,9	5,4	178,5	16%
CD8	0,0	1,1	2,9	5,0	178,5	13%
CD45R0	0,0	1,8	3,9	7,5	264	19%
Ma102	0,0	2,1	3,9	6,4	89	8%

Abbildung 9 Häufigkeitsverteilung der CAM-Expression (HLA I und DR, ICAM) auf den Gefäßen und interstitiell (prozentuale Häufigkeit pro Grad; n=527). x-Achse: Gradeinteilung der CAM-Expression; y-Achse: Häufigkeit des Auftretens (%)



Bei der Differenzierung zwischen Zellzahlen und CAM-Expression bei Männern und Frauen kann statistisch ein grenzwertig signifikanter Unterschied der CD3-positiven Lymphozyten und ein signifikanter Unterschied der zytotoxischen CD8-Lymphozyten gefunden werden (Tabelle 5); die übrigen Lymphozyten und die CAM-Expression lassen keinen Unterschied erkennen (Daten der CAM-Expression nicht gezeigt).

Die Lymphozytenzahlen sind in allen folgenden Tabellen als Median (in Klammern dahinter der Interquartilbereich) aufgeführt.

Tabelle 5 Vergleich Immunhistologie Männer (m) – Frauen (w) (Lymphozyten), n=527

	m, n=353 Zellzahl	w, n=174 Zellzahl	p	m Cluster (%)	w Cluster (%)	p
CD2	5,7 (3,6-9,6)	5,7 (2,9-9,2)	0,35	42%	41%	0,08
CD3	6,8 (3,9-11,0)	6,1 (2,9-9,6)	0,05	40%	35%	0,37
CD4	3,2 (1,4-5,4)	2,7 (1,3-5,4)	0,42	16%	14%	0,36
CD8	2,9 (1,2-5,3)	2,1 (0,7-4,3)	0,009	14%	12%	0,76
CD45R0	3,9 (1,8-7,9)	3,6 (1,8-7,0)	0,19	21%	16%	0,36
Ma102	3,9 (2,1-6,4)	3,6 (2,1-6,4)	0,72	7%	9%	0,44

3.1.2.1 HLA und Lymphozyten

Bei den hier untersuchten Patienten gibt es eine überwiegend höchst signifikante ($p < 0,0001$) Korrelation zwischen der Höhe der infiltrierenden Lymphozyten und der Stärke der Zelladhäsionsmolekül(CAM)-Expression; dies gilt für die meisten Lymphozyten-Subpopulationen (Tabelle 6).

Aber wie die Abbildung 10 exemplarisch zeigt, ist nur der CAM-Expressionsgrad „3“ (also die stärkste Anfärbung) auf dem Interstitium signifikant von den übrigen Gruppen unterschieden. Für die Expression auf den Gefäßen lässt sich nicht überall Signifikanzniveau nachweisen (Abbildung 11).

In der folgenden Tabelle (Tabelle 6) sind im Einzelnen die Mediane aller Lymphozytenuntergruppen (Zellen/mm²) in jedem CAM-Expressions-Grad aufgeführt.

Tabelle 6 Korrelation zwischen CAM-Graduierung und Lymphozytenzahlen, n=527

	CAM-Graduierung	0,5	1	1,5	2	2,5	3	Sign. Diff.
HLA I Gef.	CD2 /mm ²	0,9	4,0	4,8	6,9	9,6	11,8	3≠1,2
	CD3/mm ²	2,0	5,0	5,0	7,1	10,5	7,5	3≠1,2
	CD4/mm ²	0	1,6	2,9	3,9	7,1	8,2	1≠2≠3
	CD8/mm ²	0,4	2,0	2,0	3,6	4,3	3,0	1≠2≠3
	CD45R0/mm ²	5,3	2,1	3,6	4,3	3,9	7,1	1≠2,3
	Ma102/mm ²	6,6	3,9	4,3	3,9	2,7	4,6	3≠1,2
HLA I Int.	CD2/mm ²	0,9	4,6	7,1	7,8	9,6	37,4	3≠1,2
	CD3/mm ²	2,0	7,9	9,6	8,2	10,3	14,3	3≠1,2
	CD4/mm ²	0	2,1	3,6	3,9	7,1	28,9	3≠1,2
	CD8/mm ²	0,4	2,0	3,6	4,5	5,0	6,1	3≠1,2
	CD45R0/mm ²	5,4	2,9	3,7	5,3	3,2	8,4	1≠2≠3
	Ma102/mm ²	6,6	3,6	3,9	4,6	3,6	6,8	3≠1,2
HLA DRGef.	CD2/mm ²	0,9	4,6	6,1	7,1	17,1	9,2	-
	CD3/mm ²	2,0	4,6	6,1	7,1	16,1	9,3	1≠2
	CD4/mm ²	0	1,8	3,6	3,9	6,2	10,4	1≠2
	CD8/mm ²	0,6	2,1	2,9	3,6	6,1	2,1	1≠2
	CD45R0/mm ²	5,4	2,9	3,6	4,3	3,6	7,1	1≠2
	Ma102/mm ²	6,6	3,6	3,9	3,9	3,7	7,0	-
HLA DR Int.	CD2/mm ²	1,8	5,0	7,1	7,8	2,5	10,7	3≠1,2
	CD3/mm ²	2,5	5,0	6,6	8,2	5,4	10,4	1≠2≠3
	CD4/mm ²	0	2,5	3,6	3,9	5,4	4,6	1≠2≠3
	CD8/mm ²	0,7	2,1	4,1	2,3	2,1	6,1	3≠1,2
	CD45R0/mm ²	7,1	3,2	3,6	3,9	3,6	8,9	3≠1,2
	Ma102/mm ²	3,6	3,6	4,1	5,0	7,1	3,1	1≠2≠3
ICAM Gef.	CD2/mm ²	3,6	5,7	7,8	7			-
	CD3/mm ²	3,9	3,2	6,1	8,4			1≠1,5;2
	CD4/mm ²	1,4	1,8	3,6	4,6			1≠1,5;2
	CD8/mm ²	0,7	1,1	2,9	4,3			1≠1,5;2
	CD45R0/mm ²	2,5	3,0	3,6	4,6			-
	Ma102/mm ²	2,1	3,6	3,9	4,3			-
ICAM Int.	CD2/mm ²	3,2	5,0	7,1	9,6		105,5	3≠1,2
	CD3/mm ²	2,6	5,0	7,1	9,3		104,0	3≠1,2
	CD4/mm ²	0,7	2,5	3,9	6,1		95,1	3≠1,2
	CD8/mm ²	0,4	2,1	3,7	5,0		96,6	3≠1,2
	CD45R0/mm ²	1,4	3,4	4,1	4,3		71,4	3≠1,2
	Ma102/mm ²	1,6	3,6	5,0	4,6		3,9	1≠1,5

(Auf die Angabe der Interquartilenbereiche wurde wegen der besseren Lesbarkeit und Übersichtlichkeit verzichtet).

In der letzten Spalte sind signifikante Unterschiede der Zellzahl bezüglich der CAM-Expression (Tukey-Kramer; s. auch Abbildung 10) verzeichnet; man erkennt, dass zwar mit

zunehmender CAM-Expression die Zahl der Lymphozyten zunimmt, dass dieser Unterschied jedoch meist nur bei „Grad 3-CAM-Expression“ signifikant ist.

Abbildung 10 CD2-Expression und HLAI interstitiell - signifikanter Unterschied nur für Grad 3.
x-Achse: Gradeinteilung HLA I int.; **y-Achse:** Zahl der CD2-T-Zellen

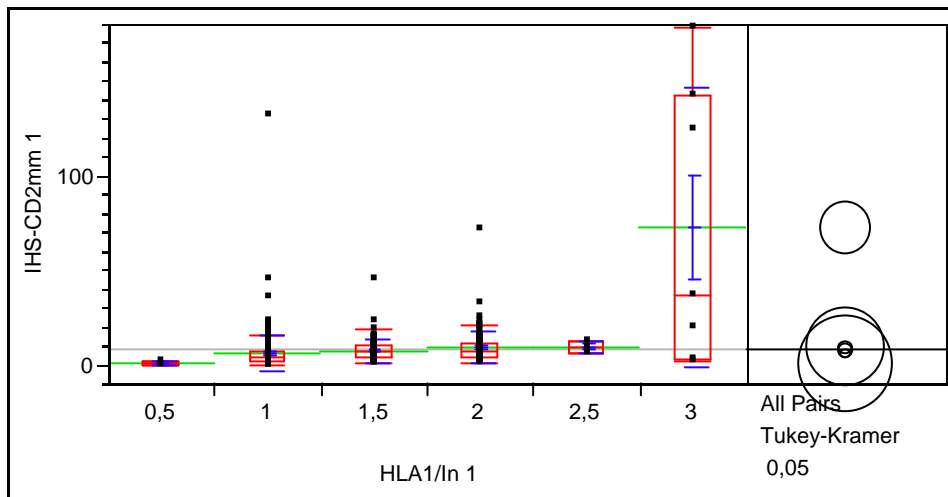
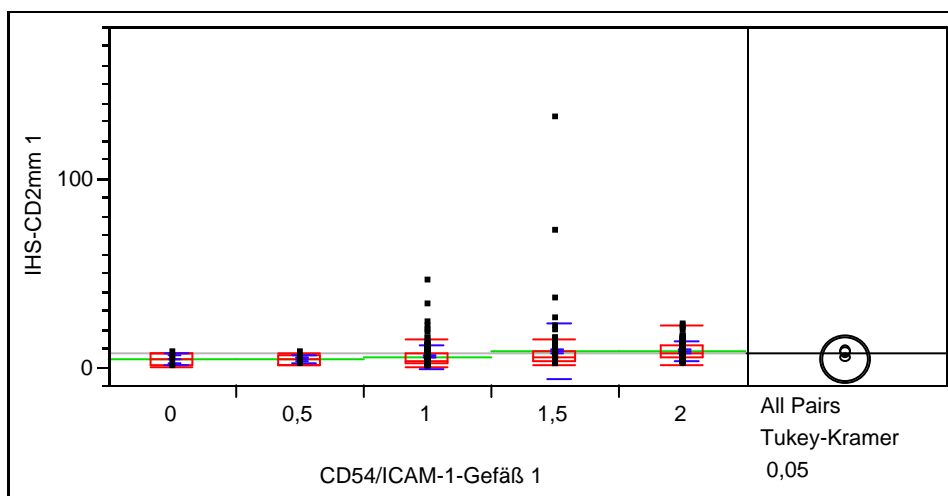


Abbildung 11 CD2-Expression und ICAM auf den Gefäßen – kein signifikanter Unterschied.
x-Achse: Gradeinteilung ICAM-1 auf Gefäßen; **y-Achse:** Zahl der CD2-T-Zellen



3.1.3 Immunhistologie – Bewertung

Anhand des immunhistologischen Befundes erfolgte vorab nach bereits veröffentlichter Methode (Milei et al., 1990; Kuhl et al., 1996) eine Befundung mit Einteilung in die Gruppen 0 = keine Entzündung; 1 = Entzündung; 2 = grenzwertiger Befund.

Dieser Einteilung lag vor allem die Lymphozytenzahl zugrunde. Bei einer durchschnittlichen CD2- und CD3-Zahl von mehr als 7 Zellen/mm² oder Lymphozytenzahlen zwischen 5 und 7 Zellen/mm² sowie Erhöhung weiterer Marker wie z.B. der HLA-Expression wurde die Biopsie als „positiv für Entzündung“ bewertet. Bei CD2- und CD3-Zellzahlen zwischen 5 und 7 Zellen/mm² wurde die Biopsie als „grenzwertig“ befundet. Dies beruhte auf Ergebnissen an einer Kontrollgruppe von 85 Patienten mit KHK, Herzklappenerkrankungen, Hypertonie und Hypertropher Kardiomyopathie, in deren Myokard maximal 5 CD2/CD3-Lymphozyten/mm² nachgewiesen werden konnten.

Bei unseren 527 untersuchten Patienten wurde nach dieser Definition in einem hohen Prozentsatz eine Entzündung diagnostiziert. Ein Unterschied zwischen Männern und Frauen oder guter bzw. schlechter LV-Funktion ist nicht nachweisbar (Tabelle 7).

Tabelle 7 Einteilung der Immunhistologischen Befunde, n=527

	Immunhisto negativ (0)	Immunhisto positiv (1)	Immunhisto grenzw. (2)	p Diff.
Gesamtkollektiv	n=110 (21%)	n=300 (57%)	n=117 (22%)	
EF	51,9% (16,8)	51,7% (19,3)	52,7% (17,8)	0,83
Männer gesamt	n=68 (19%)	n=204 (58%)	n=80 (23%)	
EF Männer	49,1% (18,4)	48,7% (19,0)	50,0 (18,5)	0,77
Frauen gesamt	n=42 (24%)	n=96 (55%)	n=37 (21%)	
EF Frauen	56,4% (12,5)	58,5 (18,2)	58,4 (15,0)	0,69

3.1.4 LV-Pumpfunktion und myokardiale Entzündung

Um Korrelationen zwischen Pumpfunktion und myokardialer Entzündung zu ermitteln, wird die EF gegen die Lymphozytenzahlen (Abbildung 12) aufgetragen; dabei sieht man sehr deutlich einen Zusammenhang zwischen diesen Werten über den gesamten EF-Bereich: je niedriger die Ejektionsfraktion, desto höher die Lymphozytenzahlen.

Dies trifft für alle Lymphozytenmarker mit unterschiedlicher Signifikanz zu.

Für Makrophagen besteht ein umgekehrter, statistisch nicht signifikanter Zusammenhang (Abbildung 13).

Abbildung 12 Negative Korrelation der CD3-Lymphozytenzahl mit der EF, 1. Biopsie, n=527, p=0,03.
x-Achse: EF (%), y-Achse: Zahl der CD3-T-Zellen/mm²

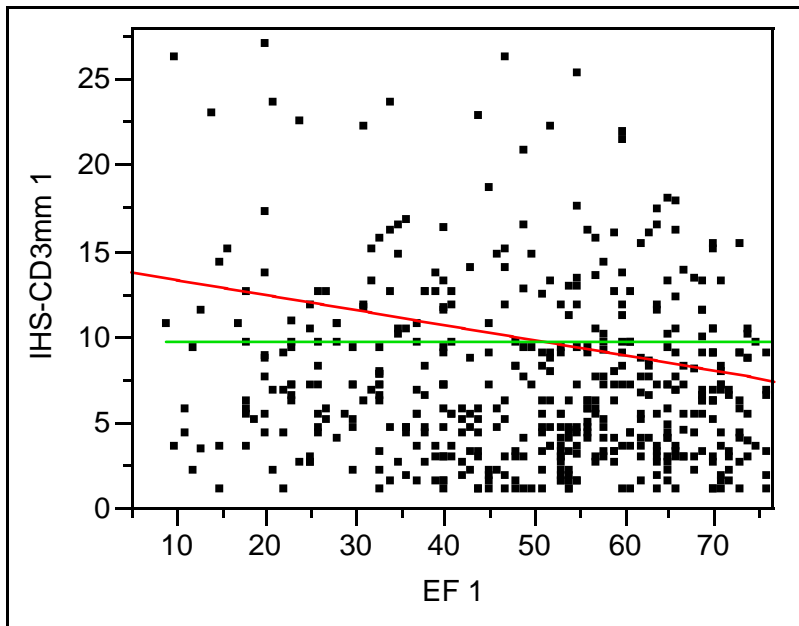


Abbildung 13 Positive Korrelation der Makrophagenzahl mit der EF, 1. Biopsie, n=527 (ohne stat. Signifikanz). x-Achse: EF; y-Achse: Zahl der Makrophagen/mm²

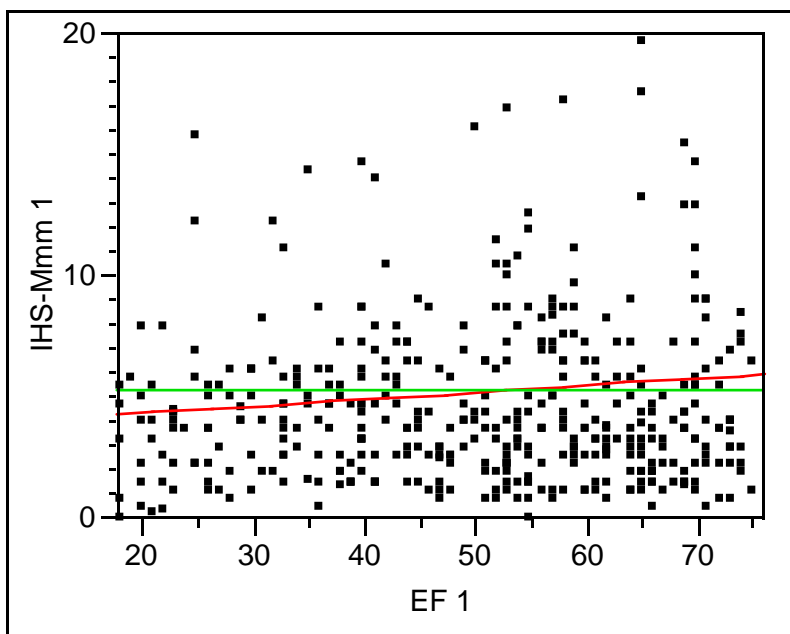


Tabelle 8 Signifikanz der Korrelation zwischen der LV-EF und der Höhe der Lymphozyten (n=527)

CD2	CD3	CD4	CD8	CD45RO	Ma102
p=0,05	p=0,03	p=0,07	p=0,02	p=0,08	p=0,15

Dieser Zusammenhang lässt sich auch in den beiden Gruppen mit EF \leq 45% bestätigen; hier sieht man eine statistisch signifikante, leicht höhere Zellinfiltration in der Gruppe mit EF $<$ 45%. Dies gilt wiederum für alle T-Zell-Marker, nicht jedoch die Makrophagen (Tabelle 9).

Tabelle 9 Myokardiale Zellinfiltration bei EF \leq 45%, n=527

	EF $<$ 45%	EF $>$ 45%	p Diff. EF \leq 45	Cluster EF $<$ 45%	Cluster EF $>$ 45%	p Diff. EF \leq 45
CD2	6,8 (3,6 – 10,7)	5,4 (2,9 – 8,2)	0,02	39%	38%	0,22
CD3	7,1 (4,3 – 11,7)	6,1 (3,2 – 15,3)	0,03	38%	34%	0,50
CD4	3,6 (1,4 – 6,4)	2,9 (1,1 – 4,6)	0,04	16%	12%	0,65
CD8	3,6 (1,4 – 5,4)	2,5 (1,1 – 4,4)	0,006	13%	11%	0,50
CD45RO	4,3 (2,4 – 8,6)	3,6 (1,8 – 7,1)	0,04	14%	17%	0,19
Ma102	4,3 (2,5 – 5,7)	3,6 (2,1 – 6,4)	0,77	10%	7%	0,22

Ein Unterschied zwischen Männern und Frauen in Bezug auf die Marker CD3 und CD8, die in der Gesamtanalyse (grenzwertig) signifikant unterschiedlich gewesen waren, ließ sich bei der Subgruppenanalyse (EF \leq 45%) nicht nachweisen.

Eine Korrelation der CAM-Expression mit der Pumpfunktion kann ebenfalls nicht nachgewiesen werden (weder auf dem Gefäßendothel noch auf den interstitiellen Zellen, Tabelle 10).

Tabelle 10 Korrelation der CAM-Expression mit der LV-EF, n=527

HLA I Gef.	HLA I Int.	HLA DRGef.	HLA DR Int.	ICAM Gef.	ICAM Int.
p=0,48	p=0,14	p=0,81	p=0,91	p=0,72	p=0,17

3.1.5 NYHA-Klassifikation und myokardiale Entzündung

Die meisten untersuchten Patienten berichteten über eingeschränkte Belastbarkeit. Zur klinischen Graduierung von Herzinsuffizienz wird häufig die NYHA-Klassifikation verwendet, nach der die Klasse I keiner Einschränkung der Belastbarkeit trotz Herzkrankheit entspricht, Klasse II Beschwerden bei stärkerer körperlicher Betätigung (z.B. nach Treppensteigen von 2 oder mehr Etagen), Klasse III bei leichter körperlicher Belastung (z.B. Steigen einer Treppentage) und Klasse IV Beschwerden bereits bei geringster Belastung (z.B. Anziehen, Sprechen) oder sogar in Ruhe (z.B. beim flachen Liegen).

Diese Einteilung ist naturgemäß subjektiv und im Einzelfall manchmal nicht ganz eindeutig (beispielsweise bei Patienten, die sich kaum belasten oder die wegen nicht-kardialer Probleme nicht belastbar sind), gilt jedoch – auch in großen Studien – als gutes Maß der kardialen Beschwerdesymptomatik und der Herzinsuffizienz.

Bei den hier untersuchten Patienten sind nur 15% der NYHA-Klasse I zuzuordnen (somit im Alltagsleben beschwerdefrei); der Rest erlebt im Alltag bereits eine Einschränkung der Leistungsfähigkeit: über die Hälfte (51%) hat Luftnot bei stärkerer Anstrengung (NYHA II), 30% bei leichter Anstrengung (NYHA III) und 4% in Ruhe (NYHA IV). Luftnot ist somit ein Hauptsymptom, über das 85% aller Patienten klagen.

Dabei fällt auf, dass die hier untersuchten Frauen signifikant weniger häufig in den NYHA-Klassen I und IV vertreten sind; das heißt, sie sind weniger häufig (fast) asymptomatisch, aber auch seltener schwer eingeschränkt (Tabelle 11), $p=0,009$.

Tabelle 11 NYHA-Einteilung von n=325 Patienten, Zeitpunkt der 1. Untersuchung. p Diff. m/w 0,009

	NYHA I	NYHA II	NYHA III	NYHA IV
Gesamt	15%	51%	30%	4%
Männer	18,2%	50,5%	26,2%	5,1%
Frauen	8,2%	53,6%	37,3%	0,9%

Interessant ist die Frage, ob die Luftnot tatsächlich auf einer Einschränkung der systolischen Herzfunktion beruht oder ob ihr andere Erkrankungen (wie z.B. diastolische Funktionsstörung, Lungenkrankheiten) oder Trainingsmangel zugrunde liegen.

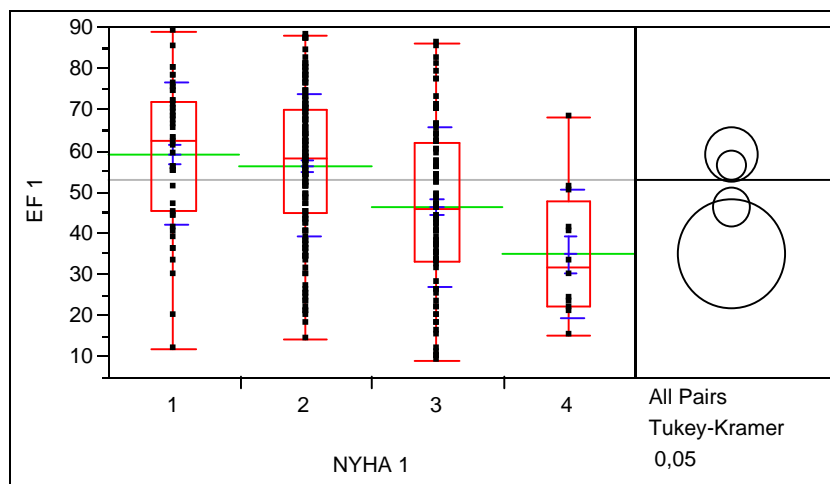
Vergleicht man in unserem Patientenkollektiv die EF (als Maß der systolischen Ruhepumpfunktion) mit der NYHA-Klasse, so zeigt sich sowohl im Gesamtkollektiv als auch bei den Männern eine eindeutige Korrelation (das heißt, das Ausmaß der Belastungsdyspnoe spiegelt das Ausmaß der Pumpfunktionseinschränkung wider); bei den Frauen hingegen lässt sich dies nicht zeigen (Tabelle 12).

Tabelle 12 EF bezüglich NYHA-Klasse, n=325 Patienten

	EF Gesamtkollektiv	EF Männer	EF Frauen
NYHA I	59,1 ($\pm 17,2$), n=48	58,9 ($\pm 15,2$), n=39	60,0 ($\pm 25,4$), n=9
NYHA II	56,3 ($\pm 17,0$), n=167	53,4 ($\pm 17,8$), n=108	61,8 ($\pm 14,0$), n=59
NYHA III	46,3 ($\pm 19,1$), n=98	40,6 ($\pm 18,2$), n=56	54,5 ($\pm 17,4$), n=41
NYHA IV	34,8 ($\pm 15,6$), n=12	33,5 ($\pm 15,6$), n=11	50, n=1

Die statistische Signifikanz dazu zeigt die folgende Abbildung (Abbildung 14):

Abbildung 14 EF bei NYHA I +II ist signifikant höher als bei NYHA III+IV (n=325; Männer und Frauen zusammen). x-Achse: NYHA-Klassen I-IV, y-Achse: EF.



Ist eine stärkere Entzündung auch mit einer klinisch stärker ausgeprägteren Beschwerdesymptomatik (höhere NYHA-Klasse) verbunden?

Vergleicht man CD3, CD8 und Makrophagenzahl in den verschiedenen NYHA-Klassen, so ergibt sich nur für Männer ein tendenziell signifikanter ($p=0,09$) Zusammenhang zwischen CD3-Lymphozytenzahl und dem klinischen Beschwerdebild (Tabelle 13).

Tabelle 13 NYHA und Lymphozyten (CD3 und CD8 ges., Männer (m) und Frauen (w); Makrophagen gesamt); n=325. p bezieht sich auf die Diff. der Zellzahlen bei den NYHA-Klassen.

	CD3 ges.	CD3 m	CD3 w	CD8 ges.	CD8 m	CD8 w	Ma102 ges.
NYHA I	6,4 (4,0 – 9,5)	5,4 (3,9 – 8,9)	7,1 (6,2 – 13,9)	2,1 (0,7 – 5,0)	2,5 (1,0 – 4,8)	0,4 (0 – 6,4)	3,2 (2,1 – 5,7)
NYHA II	6,6 (3,6 – 10,4)	6,2 (4,6 – 9,6)	6,8 (2,8 – 11,6)	2,5 (1,0 – 4,4)	2,9 (1,1 – 4,5)	2,1 (0,8 – 3,9)	3,9 (2,1 – 6,1)
NYHA III	6,4 (3,2 – 10,9)	7,4 (4,0 – 12,4)	5,7 (2,7 – 9,1)	2,9 (1,0 – 4,5)	2,9 (1,8 – 5,0)	2,5 (0,7 – 3,6)	4,3 (2,1 – 7,1)
NYHA IV	4,8 (2,6 – 7,14)	4,3 (2,5 – 7,1)	7,1 (n=1)	2,9 (2,9 – 5,5)	2,1 (0 – 3,9)	13,2 (n=1)	4,1 (3,5 – 6,2)
p	0,33	0,09	0,38	0,5	0,15	0,9	0,57

Auch für die zellulären Adhäsionsmoleküle kann kein Unterschied der subjektiven Belastbarkeit (NYHA) bei stärkerer oder schwächerer Expression nachgewiesen werden (Daten nicht gezeigt).

3.1.6 Anamnesedauer und myokardiale Entzündung

Eine Myokarditis im Rahmen einer plötzlich einsetzenden (Virus)infektion des Myokards sollte theoretisch mit einem gut zu definierenden Beginn und einer kurzen Erkrankungsdauer verbunden sein, wohingegen eine DCM (auch wenn sie aus einer Myokarditis hervorgegangen sein sollte) eher durch einen langen Verlauf, meist ohne eindeutigen Krankheitsbeginn, charakterisiert ist.

Die Anamnesedauer (die Zeit zwischen (auch retrospektiv erinnerten) ersten Krankheitszeichen und erster Herzkatheteruntersuchung) ist bei unseren Patienten sehr unterschiedlich und umfasst im Median 8,0 Monate, minimal nur ca. 2 Tage und maximal fast 39 Jahre. Hierbei besteht ein deutlicher, statistisch signifikanter Unterschied zwischen Männern und Frauen (12,9 Monate bei Frauen versus 5,5 Monate bei Männern) (Tabelle 14).

Untersucht man an unseren Patienten die Anamnesedauer in Bezug auf die EF, so zeigt sich keine signifikante Korrelation; tendenziell haben Patienten mit besserer Pumpfunktion eine etwas längere Anamnesedauer (Tabelle 14).

Tabelle 14 EF \leq 45% in Bezug auf die Anamnesedauer, n=527 Patienten

	Gesamtkoll.	Männer	Frauen	p Diff. m/w
Anamnesedauer	8,0 (1,9 – 32,1)	5,5 (1,4 – 30,1)	12,9 (4,1 – 36,4)	0,002
Anamnesedauer EF<45%	6,8 (1,8 – 33,6)	6,0 (1,6 – 30,1)	12,6 (2,3 – 38,4)	0,17
Anamnesedauer EF>45%	8,5 (2,0 – 30,4)	5,2 (1,2 – 31)	13,0 (4,5 – 30,8)	0,004
P Diff. EF \leq />45%	0,85	0,95	0,66	

Anamnesedauer: Median/25-75%Quartil (Monate)

Für die Lymphozyten lässt sich ein schwacher Trend dahingehend zeigen, dass bei stärkerer Entzündung die Anamnesedauer kürzer ist, für die CAM-Expression gilt dies hingegen nicht. Für keinen Marker besteht eine statistische Signifikanz.

3.1.7 Infektanamnese und myokardiale Entzündung

Ein wichtiges Kennzeichen der Myokarditis ist die in den meisten Fällen infektiöse Genese. Daher umfasst die Anamnese immer auch die Frage nach Fieber, Infektzeichen oder grippearartigen Symptomen. Ein Perikarderguss kann ebenfalls Hinweis auf eine (Peri)myokarditis sein. Grippearartige Symptome kurz vor Anamnesebeginn lassen sich bei ca. 40% der Patienten eruieren, Fieber nur bei 22% der Patienten; und ein Perikarderguss lässt sich bei etwa 10% nachweisen.

Die drei genannten Symptome treten in der Untergruppe mit EF <45% nicht häufiger als in der Gruppe mit EF >45% auf.

Bei Patienten, bei denen ein Infekt erfragt werden kann, beträgt der Abstand zum Beginn der klinischen Symptomatik ca. 3 Wochen und ist in beiden EF-Untergruppen gleich (p=0,64). Patienten, die einen Infekt angeben, haben eine höchstsignifikant (p=0,0001) kürzere Anamnesedauer von 4,7 Monaten im Vergleich zu Patienten, die sich nicht an einen Infekt erinnern können (11,3 Monate).

Das Alter spielt offenbar eine Rolle, was die Ausprägung grippearartiger Symptome betrifft: die Patienten mit grippearartigen Symptomen waren signifikant jünger (41 vs. 49 Jahre), p<0,0001.

Für die anamnestischen Daten „Fieber zu Anamnesebeginn“, „Symptome eines grippalen Infektes zu Anamnesebeginn und „Perikarderguss zu Anamnesebeginn“ können keine signifikanten Korrelationen zur Ausprägung der myokardialen Entzündung nachgewiesen werden.

Nur für HLA DR auf dem Interstitium lässt sich mit $p < 0,0001$ eine deutlich signifikante Beziehung zum Auftreten grippeartiger Symptome nachweisen (bei „Grippe“ schwächere HLA-Expression). Da sich jedoch für alle anderen Adhäsionsmoleküle kein Zusammenhang nachweisen lässt, erscheint ein kausaler Zusammenhang wenig wahrscheinlich (Tabelle 15).

Auch für das Auftreten eines Perikardergusses lässt sich nur für einen Marker, nämlich CD45R0, ein statistisch signifikanter Zusammenhang zeigen, alle weiteren Marker korrelieren nicht damit.

Tabelle 15 Fehlende Korrelation der anamnestischen Angabe eines grippalen Infektes kurz vor Anamnesebeginn und der myokardialen Entzündung; n=395

	Kein Infekt, n=233	Infekt, n=162	p
CD2 (Zellzahl/mm ²)	5,7 (2,9-9,6)	5,4 (2,9-5,4)	0,61
CD3 (Zellzahl/mm ²)	6,4 (3,6-10,2)	6,1 (2,9-9,9)	0,48
CD4 (Zellzahl/mm ²)	3,2 (1,1-5,0)	2,5 (1,1-4,6)	0,15
CD8 (Zellzahl/mm ²)	3,0 (1,1-5,0)	2,3 (0,7-4,6)	0,14
CD 45R0 (Zellzahl/mm ²)	3,6 (1,8-6,4)	4,1 (1,8-8,6)	0,31
Ma 102 (Zellzahl/mm ²)	3,9 (2,1-6,1)	3,6 (2,1-6,1)	0,41
HLA I Gef. (mean)	1,6 (±0,52)	1,6 (±0,45)	0,49
HLA I Int. (mean)	1,4 (±0,50)	1,3 (±0,42)	0,42
HLA II Gef. (mean)	1,4 (±0,45)	1,4 (±0,43)	0,47
HLA II Int. (mean)	1,3 (±0,50)	1,1 (±0,33)	0,003
ICAM I Gef. (mean)	1,4 (±0,43)	1,4 (±0,44)	0,41
ICAM I Int. (mean)	1,1 (±0,35)	1,1 (±0,30)	0,47

3.1.8 Angina pectoris und myokardiale Entzündung

Ein im klinischen Alltag häufiges Symptom ist Angina pectoris, die entweder („typischerweise“) bei körperlicher Anstrengung / psychischem Stress oder aber „atypisch“ mit Schmerzen in Ruhe, nach Anstrengung oder lang anhaltend auftritt.

Die Belastungs-Angina ist ein typisches Symptom einer koronaren Herzkrankheit, kann aber auch unabhängig von ihr auftreten. Ruhe-Angina wird mit endothelialer Dysfunktion in Zusammenhang gebracht („vasospastische Angina pectoris“). Bei Frauen ist die atypische Angina pectoris etwas häufiger als bei Männern (bei 42% vs. 35%), ohne dass eine statistische Signifikanz bestünde ($p=0,24$).

Statistisch höchst signifikant ist aber der Unterschied des Auftretens bei guter bzw. schlechter Pumpfunktion: während bei einer EF <45% nur 24% der Patienten über pektanginöse Beschwerden klagen, sind es in der Gruppe mit EF >45% 49% aller Patienten (p=0,0003). Belastungsabhängige Angina pectoris kommt etwas seltener vor (22% aller Patienten), ist aber im Gegensatz zur Ruhe-Angina nur bei Männern mit guter Pumpfunktion häufiger als bei schlechter Pumpfunktion (p=0,01). Bei Frauen kann kein Unterschied nachgewiesen werden (p=0,64), (Tabelle 16).

Tabelle 16 Atypische und Belastungs-Angina pectoris, n=351. p bezieht sich auf den Unterschied zwischen Männern und Frauen

	Gesamt	Männer	Frauen	p
Atypische A.p.				
- gesamt	36% (132/351)	35% (83/234)	42% (49/117)	0,24
- bei EF <45%	24% (27/114)	27% (24/89)	12% (3/25)	0,10
- bei EF >45%	42% (105/237)	41% (59/145)	50% (46/92)	0,16
p Diff. EF </>45%	0,0001	0,03	0,0003	
Belastungs-A.p.				
- gesamt	22% (71/319)	20% (44/217)	27% (27/102)	0,21
- bei EF <45%	14% (15/106)	12% (10/84)	26% (5/22)	0,19
- bei EF >45%	24% (56/213)	23% (34/133)	27% (22/80)	0,76
p Diff. EF </>45%	0,01	0,01	0,64	

3.1.8.1 Immunhistologische Daten bei atypischer Angina pectoris

Wie oben gezeigt wurde, ist belastungsabhängiger oder –unabhängiger Brustschmerz ein häufiges Symptom bei Herzmuskelerkrankungen, das bei besserer Pumpfunktion signifikant häufiger auftritt als bei schlechter Pumpfunktion. Da ja die wahrscheinlichste Ursache für Brustschmerz – Stenosen der Koronararterien – angiografisch ausgeschlossen wurde, liegt es nahe, einen Zusammenhang mit einer Entzündung (z.B. auch der kleinen Gefäße) zu vermuten.

Bei unserem Patientenkollektiv zeigt sich jedoch ein entgegengesetzter Zusammenhang: sowohl die Lymphozytenmarker als auch die CAM-Expression sind bei den Patienten verstärkt, die keine atypische Angina pectoris haben.

Dieser Zusammenhang ist für alle T-Lymphozytenmarker außer CD4 und CD45R0 signifikant (Tabelle 17); bei den Adhäsionsmolekülen kann jedoch nur für HLA I auf den Gefäßen und für ICAM auf den Zellen eine Signifikanz (p jeweils 0,03) nachgewiesen werden. (Die

Daten der Adhäsionsmoleküle sind nicht gezeigt). Für Makrophagen lässt sich kein Trend zeigen.

Tabelle 17 Lymphozyten und atypische Angina pectoris, n=351

	Keine atyp. A. pectoris n=219	Atyp. Angina pectoris n=132	p
CD2 (Zellen/mm ²)	6,4 (3,6 – 9,8)	4,6 (2,1 – 7,9)	0,001
CD3 (Zellen/mm ²)	7,1 (4,3 – 10,3)	5,4 (2,9 – 9,3)	0,005
CD4 (Zellen/mm ²)	3,2 (1,2 – 5,0)	2,5 (1,1 – 4,6)	0,24
CD8 (Zellen/mm ²)	3,2 (1,2 – 5,0)	2,1 (0,7 – 3,9)	0,002
CD45R0(Zellen/mm ²)	3,9 (2,1 – 7,9)	3,6 (1,6 – 10,3)	0,15
Ma102(Zellen/mm ²)	3,9 (2,1 – 6,1)	3,9 (2,5 – 7,1)	0,56

3.1.8.2 Immunhistologische Daten bei Belastungs-Angina-pectoris

Bei der Berechnung der durchschnittlichen Zellzahlen in Abhängigkeit von belastungsabhängiger Angina pectoris zeigt sich keine Korrelation mit der Höhe der infiltrierenden Lymphozyten; einzig für den „Gedächtniszellmarker“ CD45R0 ergibt sich ein Trend (p=0,07) zu niedrigeren Zellzahlen beim Vorliegen von Belastungs-A.p. (Tabelle 18).

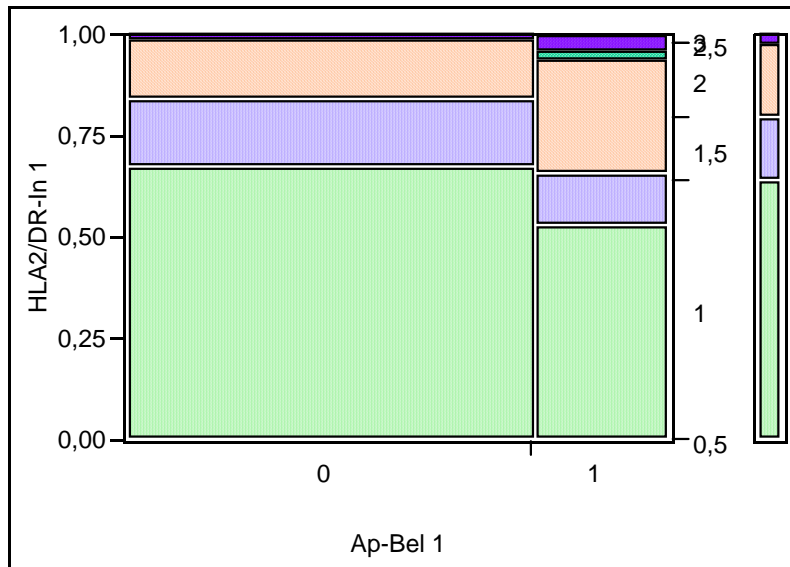
Tabelle 18 Lymphozytenzahl und Belastungs-Angina pectoris, n=319

	Keine Angina pectoris n=248	Angina pectoris n=71	p
CD2 (Zellen/mm ²)	6,1 (3,6 – 9,6)	6,2 (2,9 – 8,9)	0,58
CD3 (Zellen/mm ²)	6,1 (3,6 – 9,6)	6,1 (3,2 – 9,9)	0,97
CD4 (Zellen/mm ²)	3,0 (1,4 – 5,0)	3,2 (1,4 – 5,4)	0,61
CD8 (Zellen/mm ²)	2,9 (1,1 – 4,6)	2,9 (1,2 – 5,0)	0,69
CD45(Zellen/mm ²)	3,9 (2,1 – 7,1)	3,2 (1,4 – 6,4)	0,07
Ma102(Zellen/mm ²)	3,9 (2,1 – 6,4)	3,6 (2,5 – 6,5)	0,95

Etwas anders sieht das Bild bei den Adhäsionsmolekülen aus: hier sieht man –signifikant allerdings nur für HLA II interstitiell, p=0,001 – eine Tendenz zu einer höheren HLA-

Expression bei Patienten, die über belastungsabhängige thorakale Schmerzen klagen (Abbildung 15).

Abbildung 15 Stärkere HLA DR Int.-Expression bei Patienten mit (1; n=70) als ohne (0; n=219) Bel.-A.p. (p=0,001)



3.1.9 Herzrhythmusstörungen und myokardiale Entzündung

3.1.9.1 Klinische Daten

Häufig und auch wichtig sind Herzrhythmusstörungen bei Myokarderkrankungen, da sie direkt oder indirekt Lebensqualität, Mortalität und Folgeerkrankungen (z.B. Apoplex infolge eines Vorhofflimmerns) beeinflussen können. Bei 44% der männlichen und bei 40% der weiblichen Patienten treten (subjektiv empfundene oder objektivierbare) Herzrhythmusstörungen auf; am häufigsten sind dabei Palpitationen, absolute Arrhythmie bei Vorhofflimmern, Herzrasen und VES.

Die gefährlichsten Rhythmusstörungen, ventrikuläre Tachykardien, lassen sich nur selten nachweisen (3,4% der Männer und 6% der Frauen).

Synkopen, die bei herzkranken Patienten durchaus als Warnzeichen maligner Rhythmusstörungen gedeutet werden und zum Teil die Indikation zur Schrittmacher- oder Defibrillator-

implantation begründen, lassen sich bei 12% der Männer und 16% der Frauen nachweisen und treten signifikant häufiger bei guter LV-Funktion auf.

Sinustachykardien gelten sowohl als typisch bei Myokarditis als auch als Hinweis auf Herzinsuffizienz, lassen sich hier jedoch nur bei 8% der Patienten zeigen.

Bei Männern mit schlechter Pumpfunktion sind Sinustachykardien und ventrikuläre Extrasystolen signifikant häufiger als bei Männern mit guter Pumpfunktion.

Bei Frauen mit schlechter Pumpfunktion lassen sich keinerlei Rhythmusstörungen (oder mögliche Symptome für Rhythmusstörungen, wie Schwindel, Palpitationen, Synkopen) häufiger nachweisen als bei guter Pumpfunktion.

Die Ergebnisse im Einzelnen lassen sich der Tabelle 19 entnehmen.

Tabelle 19 Herzrhythmusstörungen und deren mögliche Symptome bei Männern und Frauen; EF </>45%, Angabe zur Fallzahl/Untergruppengröße in Klammern

	m EF < 45%	m EF > 45%	p	w EF < 45%	w EF > 45%	p
HRStrg.ges.	48% (46/95)	42% (65/154)	0,32	40% (10/25)	40% (40/101)	0,97
Palp.	25% (23/91)	28% (41/146)	0,63	24% (6/25)	43% (41/95)	0,07
Herzrasen	21% (19/91)	17% (24/144)	0,42	24% (6/25)	43% (42/97)	0,07
Schwindel	10% (9/91)	19% (27/139)	0,05	28% (7/25)	25% (23/92)	0,76
Synkopen	7% (7/94)	15% (21/143)	0,08	4% (1/25)	19% (18/97)	0,04
Sinustachy.	13% (11/87)	5% (7/142)	0,04	8% (2/24)	9% (9/96)	0,87
Abs. Arr.	23% (21/92)	22% (33/148)	0,92	12% (1/24)	7% (7/98)	0,13
SVES	7% (6/81)	5% (7/131)	0,55	11% (2/19)	8% (7/83)	0,78
VES	26% (21/86)	10% (13/118)	0,002	25% (5/20)	19% (15/81)	0,5
VT	6,3% (5/80)	1,6% (2/123)	0,08	5% (1/22)	7% (5/67)	0,7

3.1.9.2 Immunhistologische Daten bei Herzrhythmusstörungen

Zum Zeitpunkt einer ausgeprägten myokardialen Entzündung treten ventrikuläre Tachykardien (VT) seltener auf; die CD2-Lymphozytenzahlen (p=0,005) und CD4-Lymphozytenzahlen (p=0,006) sind bei Vorliegen einer VT signifikant niedriger als ohne VT (bei niedriger Zahl von Patienten mit VT, n=11/263 Patienten gesamt). Für die übrigen Marker sind die Korrelationen entweder tendenziell signifikant (CD8: p=0,08) oder nicht nachweisbar.

Für Synkopen lässt sich nur in Bezug auf CD8 eine mit p=0,05 eben signifikante Beziehung (im Sinne niedrigerer Lymphozytenzahl bei Synkopen) nachweisen; die übrigen Zellmarker waren weder signifikant noch tendenziell signifikant unterschiedlich.

Für alle anderen dokumentierten Herzrhythmusstörungen oder deren möglichen klinischen Korrelate (Herzrhythmusstörungen insgesamt; Schwindel, Absolute Arrhythmie bei Vorhofflimmern, SVES, VES) lässt sich keine signifikante oder auch nur tendenziell signifikante Korrelation mit der Zahl der infiltrierenden Lymphozyten zeigen.

Auch zwischen CAM-Expression und Herzrhythmusstörungen konnten keine Zusammenhänge gefunden werden.

3.1.10 EKG-Veränderungen und myokardiale Entzündung

Als wesentliche Merkmale einer Myokarditis in einem akuten Stadium gelten ST-Streckenhebungen mit manchmal Infarkt-ähnlichen Bildern, ST-Senkungen und T-Negativierungen. Auch andere EKG-Veränderungen treten bei Herzmuskelerkrankungen auf; bei der akuten Myokarditis sind dies häufig Sinustachykardien; Blockbilder werden häufig bei der DCM beobachtet. Insbesondere ein Linksschenkelblock kann einer DCM um mehrere Jahre vorangehen.

In unserem Patientenkollektiv lassen sich bei Männern und Frauen EKG-Veränderungen in unterschiedlicher Häufigkeit nachweisen: während bei den Männern mit schlechter Pumpfunktion die Herzfrequenz deutlich und signifikant höher ist als bei guter Pumpfunktion, lässt sich dies bei Frauen nicht zeigen. Auch tritt bei Männern mit EF <45% signifikant häufiger (bei 24%) als bei EF >45% (10%) ein Linksschenkelblock auf; bei Frauen gibt es hier ebenfalls keine Unterschiede. Dafür sind bei Frauen mit EF <45% deutlich häufiger ST-Strecken-Senkungen (25%) und T-Negativierungen (53%) nachweisbar als bei guter Pumpfunktion oder bei Männern.

Ein etwas überraschender Befund sind die häufiger nachweisbaren Hypertrophiezeichen im EKG sowohl bei Männern als auch bei Frauen mit EF <45% (m: 15% bzw. w: 17%) versus m: 9% bzw. w: 4% bei EF >45%.

AV-Blockierungen sind hingegen weder geschlechtsspezifisch noch bei unterschiedlicher Pumpfunktion signifikant unterschiedlich verteilt und kommen insgesamt eher selten vor (Tabelle 20); die Zahl der Frauen mit EF <45% ist allerdings klein.

Tabelle 20 EKG-Veränderungen außer Herzrhythmusstörungen bei Männern (m; n=233) und Frauen (w; n=115); p bezieht sich auf den Unterschied der EF </>45%

	EF < 45%; m; n=89	EF > 45%; m; n=144	p	EF < 45%; w; n=24	EF > 45%; w; n=91	p
Herzfrequenz	80 (68 – 93)	71 (61 – 82)	0,05	74 (66 – 92)	72 (66 – 84)	0,65
ST-Erhöpfung	13%	12%	0,89	10%	6%	0,56
ST-Senkung	20%	6%	0,58	25%	15%	0,37
T-Negativierung	39%	33%	0,84	53%	29%	0,09
AV-Block I., II., III. Grad	8%/ 0%/ 0%	6%/ 2% / 2%	0,11	8%/ 0%/ 0%	1%/ 0%/ 1%	0,13
Rechtsschenkelblock	7%	5%	0,004	4%	4%	0,95
Linksschenkelblock	24%	10%	0,008	25%	18%	0,42
LV-Hypertroph.(EKG)	15%	9%	0,01	17%	4%	0,08

3.1.10.1 Immunhistologische Daten bei EKG-Veränderungen

Bei unseren Patienten zeigen sich hier in Bezug auf präterminale T-Negativierungen statistisch signifikante Unterschiede der myokardialen Entzündung: bei Nachweis einer präterminalen T-Negativierung sind die T-Lymphozyten signifikant höher.

Auch die CAM-Expressionen aller untersuchter Marker sind teils signifikant, teils tendenziell signifikant höher als bei Patienten ohne T-Negativierung (Tabelle 21). (Terminal negative T-Wellen sind nicht mit höherer Entzündung korreliert, Daten nicht gezeigt).

Tabelle 21 Präterminale T-Negativierungen und myokardiale Entzündungsmarker, n=180

	Kein neg. T, n=142	Präterm.neg.T, n=38	p
CD2	5,3 (2,9-8,2)	7,9 (5,2-14,3)	0,01
CD3	4,3 (2,5-7,9)	5,7 (3,6-9,3)	0,29
CD4	2,5 (1,1-4,3)	4,3 (2,4-8,3)	0,003
CD8	2,5 (1,1-4,3)	4,3 (2,4-6,7)	0,02
CD45R0	3,8 (1,5-7,7)	3,6 (2,5-5,0)	0,6
Ma102	3,8 (1,8-5,8)	4,6 (3,5-6,6)	0,19
HLA I Gef.	1,5 (±0,5)	1,8 (±0,4)	0,002
HLA I Int.	1,3 (±0,5)	1,6 (±0,5)	0,05
HLA DR Gef.	1,4 (±0,4)	1,6 (±0,4)	0,07
HLA DR Int.	1,3 (±0,5)	1,5 (±0,5)	0,001
ICAM Gef.	1,3 (±0,4)	1,5 (±0,5)	0,07
ICAM Int.	1,1 (±0,3)	1,4 (±0,5)	<0,0001

Beim Vorliegen eines Linksschenkelblockes liegen die Lymphozytenzahlen etwas niedriger als beim übrigen Kollektiv (CD3 und CD8 mit $p=0,02$ bzw. $0,03$).

Die anderen untersuchten EKG-Veränderungen (ST-Streckenerhöhungen oder – negativierungen, AV-Blockierungen) korrelieren nicht mit der Höhe der Lymphozyteninfiltration. Auch bezüglich der CAM-Expression kann kein Zusammenhang zu anderen EKG-Veränderungen gefunden werden.

3.1.11 Begleiterkrankungen, Risikofaktoren und myokardiale Entzündung

Weitere wesentliche klinische Informationen umfassen häufige Begleiterkrankungen und Risikofaktoren, wie z.B. arterielle Hypertonie, Zigarettenrauchen, erhöhter Alkoholkonsum, Diabetes mellitus, Schrittmacher- und Defibrillatorimplantation sowie Zustand nach Karditis in der früheren Anamnese und familiäre Kardiomyopathie (Tabelle 22).

Eine Hypertonie ist bei 32% der Patienten bekannt, ohne dass die aktuellen Durchschnittswerte unter Medikation noch erhöht wären; ein Diabetes liegt bei 13% vor; 55% der Männer und 32% der Frauen rauchen oder haben geraucht; ein Schrittmacher oder Defibrillator wurde 6% aller Patienten implantiert.

Statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe der Patienten mit guter und derer mit schlechter Pumpfunktion ergeben sich nur für die Häufigkeit einer Zuckerkrankheit bei Männern (5% vs. 15%).

Beim erhöhten Alkoholkonsum (32% der Männer mit schlechter Pumpfunktion vs. 20% mit guter LVF) gibt es zwar einen Trend, hingegen keine statistische Signifikanz.

Ein Unterschied zwischen Männern und Frauen besteht hinsichtlich Hypertoniehäufigkeit, Nikotinkonsums, erhöhten Alkoholkonsums sowie der Angabe einer früher durchgemachten Karditis und einer familiären Kardiomyopathie

Tabelle 22 Wesentliche Begleiterkrankungen, Risikofaktoren und Familienanamnese in Bezug auf EF </>45%

		n	EF < 45%	EF >45%	p
Syst. RR (Median,mm Hg)	Männer	158	120 (110-125)	120 (115-130)	0,86
	Frauen	69	110 (100-120)	120 (106-130)	0,11
Diast. RR (Median,mm Hg)	Männer	158	75 (70-80)	80 (70-80)	0,36
	Frauen	69	70 (68-80)	70 (70-80)	0,5
Hypertonie (anamnestisch)	Männer	244	34% (n=33/95)	32% (n=47/149)	0,6
	Frauen	126	24% (n=6/25)	19% (n=19/101)	0,56
Raucher (auch ehemals)	Männer	238	55% (n=51/92)	50% (n=73/146)	0,76
	Frauen	121	32% (n=8/25)	25% (n=24/96)	0,33
Fam. Kardiomyopathie	Männer	160	10% (n=5/60)	12% (n=12/100)	0,55
	Frauen	94	19% (n=3/16)	17% (n=12/78)	0,94
Z.n. Myokarditis	Männer	130	8% (n=4/51)	9% (n=9/70)	0,56
	Frauen	74	14% (n=2/14)	23% (n=14/60)	0,07
Erhöhter Alk.kons.	Männer	228	32% (n=29/89)	20% (n=27/139)	0,10
	Frauen	117	12% (n=3/24)	5% (n=5/93)	0,12
Diab. mellitus	Männer	245	15% (n=14/96)	5% (n=8/149)	0,02
	Frauen	126	8% (n=2/24)	9% (n=9/102)	0,94
Schrittmacher	Männer	130	7% (n=4/56)	4% (n=3/74)	0,23
	Frauen	79	17% (n=2/12)	4% (n=3/67)	0,34
Defibrillator	Männer	130	11% (n=6/56)	4% (n=3/74)	0,23
	Frauen	79	8% (n=1/12)	6% (n=4/67)	0,34

3.1.11.1 Immunhistologische Daten bei Begleiterkrankungen/Risikofaktoren

Auch für die Begleiterkrankungen wie arterielle Hypertonie oder Diabetes mellitus (von denen man annehmen könnte, dass sie eine Gefäßentzündung bewirken) lässt sich kein statistisch signifikanter Zusammenhang mit einer Erhöhung der Lymphozytenzahlen oder einer verstärkten CAM-Expression herleiten. Dies mag daran liegen, dass in unserem Patientenkollektiv keine schweren Hypertoniker und nur wenige Diabetiker vertreten sind (deren Gefäße ja zumindest nicht makroangiopathisch verändert waren). Bei den Rauchern lassen sich signifikant mehr CD8-positive zytotoxische Lymphozyten nachweisen, ebenso lässt sich bei ihnen eine verstärkte CAM-Expression beobachten; hier erreicht die ICAM-Expression sowohl auf den Gefäßen wie auch interstitiell Signifikanzniveau ($p=0,04$ bzw. $0,03$); bei HLA I besteht eine Tendenz zur Signifikanz ($p=0,07$ bzw. $0,05$), für HLA-DR kann kein Zusammenhang gezeigt werden. In Bezug auf den Risikofaktor „Alkoholkonsum“ hat die Gruppe der Patienten mit erhöhtem Alkoholkonsum eine signifikant erhöhte Expression von HLA-DR auf den Zellen im Vergleich zur Gruppe ohne erhöhten Alkoholkonsum. Für die anderen Adhäsionsmoleküle lässt sich dieser Zusammenhang jedoch nicht zeigen, ebenso wenig für die Lym-

phozyten. Die anamnestischen Informationen „Zustand nach Myokarditis“ und „Familiäre Kardiomyopathie“ lassen sich statistisch nicht in Zusammenhang mit einer veränderten Lymphozyteninfiltration oder CAM-Expression bringen (bei allerdings teils sehr kleinen Gruppengrößen). Eine myokardiale Entzündung kann ebenfalls bei Vorhandensein eines Schrittmachers bzw. Defibrillators nicht häufiger nachgewiesen werden.

3.1.12 Virusnachweis im Myokard und myokardiale Entzündung

Zur Charakterisierung des Patientenkollektivs ist die Angabe des Virusstatus wichtig. Es liegen allerdings nur von 375 der 527 untersuchten Patienten Informationen über eine myokardiale Virusinfektion vor. Auch ist die Virusdiagnostik während des hier betrachteten Zeitraumes erweitert worden, da ein Teil der Viren erst seit kurzem im Myokard nachweisbar ist; es gibt zwar von vielen Patienten Informationen über den Enterovirus-Status; die Suche nach Parvoviren hingegen (die sich in letzter Zeit als die am häufigsten nachweisbaren Viren herausgestellt haben) wurde routinemäßig erst später in die Diagnostik eingeführt. Daher ist der Anteil der PVB19-positiven Biopsien in diesem Patientenkollektiv unterrepräsentiert.

Dennoch wird als häufigstes isoliert auftretendes Virus Parvovirus B19 nachgewiesen, gefolgt von Enteroviren und Humanen Herpesviren Typ 6 (Tabelle 23).

Relativ oft treten Doppelinfektionen (n=44, 12%) und vereinzelt auch Dreifachinfektionen auf, hierbei sind Parvovirusbeteiligungen am häufigsten nachzuweisen.

Tabelle 23 Häufigkeitsverteilung der Viren (n=375) gesamt, bei Männern und Frauen und bezüglich EF bzw. EF </>45%

	Gesamt n ; (%)	m (%)	w (%)	EF (%)	EE<45 (%)	EF>45 (%)
Gesamtkollektiv	375	65	35	51,9 (18,4)	31	69
Kein Virus	138 (37%)	68	32	53,1 (17,8)	31	69
Enterovirus	59 (16%)	69	31	51,3 (18,7)	32	68
Adenovirus	13 (3%)	77	23	50,2 (13,1)	38	62
CM-Virus	2 (0,5%)	100	0	62,5 (12,0)	0	100
ParvovirusB19	92 (25%)	60	40	51,9 (19,9)	34	66
EBV	1 (0,3%)	100	0	49 (0)	0	100
HHV6	18 (5%)	61	39	49,2 (18,7)	39	61
Entero+Adeno	1 (0,3%)	100	0	70 (0)	0	100
Entero+Parvo	6 (2%)	100	0	58,3 (14,2)	17	83
Entero+HHV6	4 (1%)	50	50	49 (10,6)	25	75
Adeno+Parvo	2 (0,5%)	100	0	40 (11,3)	50	50
Parvo+EBV	1 (0,3%)	100	0	57 (0)	0	100
Parvo+HHV6	30 (8%)	47	53	56 (17,6)	30	70
Parvo+EBV+HHV6	3 (0,8%)	33	67	69,7 (12,3)	0	100

Insgesamt kann man Unterschiede der Häufigkeit einer Virusinfektion weder zwischen Frauen und Männern noch zwischen Patienten mit EF größer bzw. kleiner als 45% nachweisen. Ebenso wenig bestehen statistisch signifikante Unterschiede der Pumpfunktion bei Infektion mit den unterschiedlichen Viren – auch wegen der zum Teil sehr geringen Fallzahlen.

3.1.12.1 Immunhistologische Daten bei Virusinfektion

Patienten mit Enterovirus- oder Adenovirusnachweis zeigen ähnlich hohe Lymphozytenzellzahlen im Myokard wie Patienten ohne Virus. Patienten mit PVB19 oder einer Doppelinfektion mit PVB19 und HHV6 haben hingegen etwas niedrigere Zellzahlen, Patienten mit HHV6 deutlich niedrigere Zellzahlen (Tabelle 24).

Tabelle 24 Lymphozytenzellzahlen bei verschiedenen Viren im Myokard; (n=350); die fehlenden 25 Pat. wurden wegen zu kleiner Gruppengrößen nicht berücksichtigt. p bezieht sich auf signifikante Differenzen in der Gesamtgruppe.

	Kein Virus	Entero	Adeno	PVB19	HHV6	PVB19+ HHV6	p
n	138	59	13	92	18	30	
CD2	6,1 (3,9–9,6)	6,2 (2,3–9,1)	6,1 (2,3–9,1)	3,6 (1,4–7,9)	3,9 (1,8–6,1)	3,2 (2,1–5,7)	0,02
CD3	7,1(4,2-11,6)	7,1 (3,2–9,6)	6,8 (2,5–9,3)	6,7(2,9-12,5)	3,0(2,1-10,6)	5,0 (2,4-8,6)	0,24
CD4	3,6 (2,1-5,5)	2,9 (1,1-4,8)	2,9 (1,2-7,0)	1,8 (0,4-3,9)	1,1 (1,0-2,5)	1,4 (1,1-2,9)	0,01
CD8	2,9 (1,4-5,0)	2,9 (1,1-5,0)	2,9 (1,1-5,7)	1,4 (0,4-2,5)	1,1 (0,4-2,5)	0,9 (0-2,3)	0,01
CD45R0	4,3 (2,0-7,6)	2,9 (1,1-6,3)	2,5 (0,9-4,3)	6,3(2,5-14,7)	3,7 (1,6-5,4)	3,9 (1,8-7,9)	0,02
Ma 102	3,6 (2,1-6,4)	4,3 (2,9-7,2)	3,2 (1,6-6,4)	2,9 (1,8-4,3)	5,0 (3,5-6,6)	2,9 (1,4-4,5)	0,02

Auch bei den Adhäsionsmolekülen lässt sich diese Beobachtung machen: die Expression ist bei Patienten ohne Viren, mit Enteroviren und Adenoviren ähnlich und etwas höher als bei Patienten mit PVB19, HHV6 und PVB19+HHV6 (Tabelle 25). Hierfür besteht allerdings keine statistische Signifikanz.

Tabelle 25 Virus und CAM-Expression (n=350)

CAM-Expression	Kein Virus	Entero	Adeno	PVB19	HHV6	PVB19+ HHV6	p
HLA I Gef	1,7 (±0,44)	1,4 (±0,52)	1,6 (±0,61)	1,5 (±0,49)	1,4 (±0,39)	1,7 (±0,54)	0,81
HLA I Int.	1,4 (±0,44)	1,4 (±0,44)	1,3 (±0,60)	1,2 (±0,34)	1,1 (±0,18)	1,2 (±0,36)	0,89
HLA DRG	1,5 (±0,43)	1,4 (±0,49)	1,4 (±0,49)	1,3 (±0,40)	1,3 (±0,32)	1,4 (±0,40)	0,99
HLA DR I	1,2 (±0,38)	1,4 (±0,48)	1,3 (±0,60)	1,1 (±0,28)	1 (0)	1,0 (±0,10)	0,08
ICAM Gef	1,5 (±0,41)	1,3 (±0,41)	1,4 (±0,41)	1,2 (±0,49)	1,2 (±0,37)	1,3 (±0,45)	0,58
ICAM Int.	1,1 (±0,32)	1,2 (±0,32)	1,1 (±0,29)	1,0 (±0,41)	1,0 (±0,13)	1,0 (±0,15)	0,97

3.1.13 Konventionell-histologische Befunde

Eine (meist mild ausgeprägte) Hypertrophie der Kardiomyozyten lässt sich in 75% aller histologisch untersuchten Biopsien nachweisen, wobei sowohl bei Männern wie auch bei Frauen ein höherer Anteil bei Patienten mit EF <45% auffällt (bei Männern 88% vs. 65%, bei Frauen 83% vs. 72%). Dieser Unterschied ist allerdings nur bei Männern signifikant (p=0,0012 vs. 0,27 bei Frauen). Eine myokardiale Fibrose lässt sich bei EF < bzw. > 45% nicht signifikant unterschiedlich häufig beobachten.

Die konventionelle histologische Beurteilung nach den Dallas-Kriterien erbringt nur selten den Befund einer Myokarditis. Nur bei 9 Patienten (von 335 insgesamt begutachteten), dies sind knapp 3 %, konnte eine akute Myokarditis nachgewiesen werden und bei 16 Patienten (knapp 5%) eine Borderline-Myokarditis.

Bei diesen sehr kleinen Fallzahlen ist eine statistische Auswertung schwierig. Es fällt jedoch auf, dass 6 der 9 Patienten mit akuter Myokarditis Männer mit EF <45% sind, 2 Männer eine EF >45% haben und nur eine Frau (mit EF >45%) in dieser Gruppe vertreten ist. Bei der „borderline“-Myokarditis sieht etwas anders aus: Hier haben 13 der 16 Patienten eine EF >45%, und Frauen sind fast ebenso häufig betroffen wie Männer (Tabelle 26).

Tabelle 26 Ergebnisse der histologischen Begutachtung, n=335; p bezieht sich auf Diff. EF </>45%

	Grad	Männer EF<45%	Männer EF>45%	p	Frauen EF<45%	Frauen EF>45%	p
Myokarditis	0	84% (n=69)	89%(n=120)	0,11	96%(n=22)	81%(n=77)	0,12
	1	7% (n=6)	1,5% (n=2)		0%	1% (n=1)	
	2	2% (n=2)	5% (n=7)		4% (n=1)	6% (n=6)	
Hypertrophie	0	9% (n=7)	32% (n=42)	0,001	17% (n=4)	28% (n=27)	0,27
	1	88%(n=67)	65% (n=84)		83% (n=19)	72% (n=69)	
	2	0%	1,5% (n=2)		0%	0%	
	3	3% (n=2)	1,5% (n=2)		0%	0%	
Fibrose	0	34% (n=28)	43% (n=60)	0,18	50% (n=12)	36% (n=31)	0,10
	1	66% (n=55)	57% (n=80)		50% (n=12)	64% (n=66)	

Grad: Myokarditis: 0 = keine Myokarditis, 1 = akute Myokarditis, 2 = borderline-Myokarditis (Dallas-Kriterien)

Hypertrophie: 0 = keine, 1 = gering, 2 = mäßig, 3 = stark; Fibrose:0 = keine, 1 = vorhanden

3.1.14 Klinische Unterschiede histologisch positiver und negativer Patienten

Für klinische und anamnestische Daten lassen sich zwischen den beiden Gruppen der histologisch negativen und positiven Biopsien einige Unterschiede nachweisen, die allerdings überwiegend statistisch nur tendenziell signifikant sind:

Trotz der fast identischen EF (und des gleichen Alters) sind deutlich mehr histologisch positive Patienten einer höheren NYHA-Klasse zuzuordnen (67% versus 33% in den NYHA-Klassen III und IV), ($p=0,07$).

Klinisch-anamnestische Hinweise auf einen entzündlichen Prozess (grippeartige Symptome vor Anamnesebeginn) lassen sich bei Patienten mit histologisch diagnostizierter Myokarditis ebenfalls tendenziell signifikant häufiger finden, nämlich bei 55%, hingegen nur bei 35% der Patienten der histologisch negativen Gruppe ($p=0,07$); ein Perikarderguss ist bei den Patienten mit histologischer Myokarditis in 12% versus 6% nachweisbar ($p=0,20$).

Auch ernstzunehmende Herzrhythmusstörungen wie ventrikuläre Extrasystolen und ventrikuläre Tachykardien sind (tendenziell) signifikant häufiger bei den Patienten mit histologisch gesicherter Myokarditis nachweisbar.

Die übrigen untersuchten Marker unterscheiden sich nicht signifikant.

Mit den insgesamt 25 Patienten, bei denen konventionell-histologisch eine akute Myokarditis (n=9) oder eine borderline-Myokarditis (n=16) diagnostiziert worden war, steht ein zwar kleines, aber dennoch sehr bedeutsames Patientenkollektiv zur Verfügung, denn diese Patienten stellen gewissermaßen die „Spitze des Eisbergs“ in Bezug auf Entzündung dar.

Es ist davon auszugehen, dass diese Patienten tatsächlich eine (auch klinisch relevante) Myokarditis haben; die Kritik an der konventionellen Histologie richtet sich ja nicht gegen zu häufige „falsch-positive“, sondern gegen zu häufige „falsch-negative“ Befunde.

Die folgende Tabelle fasst die klinischen und anamnestischen Daten zusammen (Tabelle 27):

Tabelle 27 Klinische, anamnestische und apparative Daten von Patienten mit und ohne histologisch nachweisbare Myokarditis

	Histologisch keine Entzündung, n=310	Histologisch Entzündung, n=25	p
Alter	46,6 J. (±13,1)	46,0 J. (±10,3)	0,53
Anamnesedauer	9,7 (2,4-40,8) (Monate)	8,8 (1,1-20,7) (Monate)	0,23
EF (mean/std.dev.)	53,4 (±17,7)	51,0 (±21,1)	0,70
NYHA I	17,6%	16,8%	0,07 (alle Gruppen)
NYHA II	49%	27%	
NYHA III	31%	60%	
NYHA IV	2%	7%	
Fieber	21%	27%	0,3
Grippe	35%	55%	0,07
Atyp. Angina pect.	35%	33%	0,88
Bel. Angina pect.	26%	27%	0,94
Perikarderguss	6%	12%	0,20
Ödeme	11%	19%	0,34
Erhöhter Alk.kons.	24%	25%	0,57
Diab. Mell.	9%	6%	0,64
Herzrh.strg. insges.	45%	44%	0,98
Herzfrequenz (Median)	73 (Schläge/Minute)	65 (Schläge/Minute)	0,10
Sinustachykardie	6,5%	0%	0,61
Abs. Arr.	19%	6%	0,40
SVES	8%	8%	0,97
VES	16%	38%	0,05
VT	2,7%	15,4%	0,06
ST-Str.erhöhung	10%	10%	0,96
ST-Str.senkung	18%	14%	0,79
T-Negativierung	56% / 15% / 17%	55% / 9% / 18%	0,89
AV-Block	I° 7%, II° 1%, III° 0%	I° 7%, II° 0%, III° 0%	0,96
RSB	5%	7%	0,54
LSB	16%	16%	0,66

3.1.15 Vergleich zwischen histologischen und immunhistologischen Befunden

Um zu untersuchen, welche immunhistologischen Befunde bei histologisch nachweisbarer aktiver oder „borderline“-Myokarditis vorliegen, werden im Folgenden die bioptisch erhobenen Parameter der Patienten mit und ohne histologisch nachgewiesene Entzündung aufgeführt (Tabelle 28). Möglicherweise gelingt es außerdem, durch den Vergleich der Histologie mit der Immunhistologie Diagnosekriterien zu erarbeiten, die dann auch erfolgreich auf histologisch negative Biopsien angewandt werden können. Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass aufgrund des „sampling error“ nicht in allen Biopsien, die histologisch eine Entzündung aufweisen, auch immunhistologisch eine Entzündung nachgewiesen werden kann.

Tabelle 28 Unterschiede der immunhistologischen Ergebnisse zwischen histologisch positivem (n=25) und negativem (n=310) Entzündungsnachweis

Marker	Histologie negativ n=310	Histologie positiv n=25	p
CD2	6,1 (3,6-9,3)	10,7 (3,8-19,4)	0,02
CD3	6,1 (3,6-9,3)	9,6 (5,5-15,0)	0,005
CD4	3,2 (1,8-5,4)	4,3 (2,5-10,4)	0,07
CD8	2,9 (1,4-5,0)	3,2 (1,4-6,1)	0,45
CD45R0	3,6 (1,8-6,4)	6,4 (2,9-22,9)	0,001
Ma102	4,3 (2,5-6,4)	2,5 (1,8-7,8)	0,21
CD2 Cluster	42%	60%	0,48
CD3 Cluster	40%	57%	0,60
CD4 Cluster	15%	40%	0,09
CD8 Cluster	11%	25%	0,43
CD45R0 Cluster	17%	40%	0,03
Ma102 Cluster	8%	14%	0,45
HLA I Gef.	1,6 (±0,5)	1,8 (±0,6)	0,13
HLA I Int.	1,4 (±0,5)	1,6 (±0,7)	0,10
HLA DR Gef.	1,5 (±0,5)	1,7 (±0,4)	0,02
HLA DR Int.	1,3 (±0,5)	1,4 (±0,7)	0,65
ICAM Gef.	1,4 (±0,4)	1,7 (±0,4)	0,05
ICAM Int.	1,1 (±0,3)	1,4 (±0,4)	0,02
Hypertrophie (hist.)	77%	63%	0,56
Fibrose	64%	42%	0,03
Virus	59%	40%	0,54

3.1.15.1 CD2-Verteilung bei histologisch negativen (0) und positiven (1) Biopsien

Beim Vergleich der Lymphozyten-Perzentilen (hier beispielhaft CD2, Tabelle 29) anhand des Kriteriums „histologisch Myokarditis“ und „histologisch keine Myokarditis“ gelingt keine

scharfe Trennung in zwei Gruppen „immunhistologisch negativ“ und „immunhistologisch positiv“, weil bereits die 25%-Quartile beider Gruppen fast identisch sind; die Gruppen haben einen zu breiten „Überlappungsbereich“. Daran lässt sich erkennen, dass auch die Patienten ohne Nachweis einer Entzündung in der Histologie häufig (immunhistologisch) eine myokardiale Entzündung aufweisen.

Tabelle 29 Quantile der CD2-Verteilung bei histologisch nachgewiesener (1) und ohne (0) Myokarditis (Zellen/Quadratmillimeter), n=325

Level	Minimum	10%	25%	Median	75%	90%	Maximum
0	0,357	1,785	3,57	6,069	9,282	13,923	71,4
1	0,714	1,3566	3,7485	10,71	19,36725	133,161	142,8

3.1.16 Vergleich der Patienten mit hoher und niedriger CD3-Zahl

Aus den bisherigen Analysen ergeben sich bis auf die signifikant niedrigere EF nur wenige klinische oder anamnestische Unterschiede mit statistischer Signifikanz oder Tendenz zur Signifikanz bei den Patienten mit und ohne myokardiale Entzündung.

Um dennoch eventuell vorhandene Unterschiede aufzuspüren, die im Gesamtkollektiv untergehen oder statistisch keine Signifikanz erreichen, wird im Folgenden das Viertel der Patienten mit der niedrigsten CD3-Zahl mit dem Viertel mit der höchsten CD3-Zahl verglichen (25%- und 75%-Perzentile).

Bei dieser Subgruppenanalyse weisen Patienten mit deutlicher Entzündung (75%-Quartil der CD3-Zahl) eine signifikant schlechtere Ejektionsfraktion auf als die Patienten mit der geringsten Entzündung (EF in der 25%-Quartil-Gruppe 54,7%, in der 75%-Quartil-Gruppe 51,3%; $p=0,02$). Dazu passend ist der LVEDP in der 75%-Gruppe höher (11 versus 9 mm Hg, $p=0,006$) das „fractional shortening“ niedriger (25% vs. 28,5%).

In Bezug auf klinisch-anamnestische Symptome zeigt sich erneut, dass atypische Angina pectoris in der Gruppe mit höherer Entzündung seltener vorkommt (34% versus 52%), $p=0,01$; die Anamnesedauer ist dort ohne statistische Signifikanz kürzer.

An EKG-Veränderungen lassen sich (wie schon zuvor) häufiger T-Negativierungen, jedoch seltener ST-Streckenhebungen und Linksschenkel-Blockierungen, jeweils ohne Signifikanz, nachweisen (Tabelle 30). Ein Virusbefall tritt bei stärkerer Entzündung seltener auf (59% versus 76%). Alle übrigen untersuchten Parameter sind in beiden Gruppen weder signifikant noch tendenziell signifikant unterschiedlich (Infektdauer, Hypertrophie, NYHA-Gruppierung,

LVEDD, LVESD, Fieber, Grippe, Leistungsknick, Bel.-A.p., Perikarderguss, Ödeme, Synkopen, Hypertonie, Z.n.Karditis, familiäre Kardiomyopathie, Raucheranamnese, Alkoholkonsum, Diabetes mellitus, Herzrhythmusstörungen insgesamt, AV-Blockierungen, Herzfrequenz, Sinustachykardie, abs. Arrhythmie, SVES, VES, VTs, ST-Negativierungen).

Tabelle 30 Vergleich der 25%-Quartil-Gruppe bez. CD3 mit der 75%-Quartil-Gruppe, n=281, in Bezug auf Immunhistologie und wichtige klinische Daten

	25%-Quartil CD3 n=143	75%-Quartil CD3 n=138	p
CD2	2,1 (1,4 – 3,2)	12,5 (10,4 – 19)	<0,0001
CD3	2,5 (1,4 – 2,9)	14,3 (10,4 – 20,2)	n.a.
CD4	1,1 (0,4 – 2,5)	7,0 (4,3 – 11,1)	<0,0001
CD8	0,7 (0 – 1,8)	6,1 (3,9 – 9,0)	0,0002
CD45R0	1,8 (1,1 – 3,6)	4,6 (2,6 – 7,1)	<0,0001
Ma102	3,6 (2,1 – 6,1)	4,6 (2,6 – 7,1)	0,01
HLA I Gef.	1,6 (±0,48)	1,8 (±0,60)	0,13
HLA I Int.	1,4 (±0,47)	1,6 (±0,68)	0,11
HLA DR Gef.	1,5 (±0,45)	1,7 (±0,42)	0,02
HLA DR Int.	1,3 (±0,46)	1,4 (±0,69)	0,65
ICAM Gef.	1,4 (±0,38)	1,7 (±0,39)	0,05
ICAM Int.	1,1 (±0,30)	1,4 (±0,43)	0,02
Alter	46,0 (±12,3) Jahre	48,8 (±12,3) Jahre	0,06
Anamnesedauer	7,9 (2,1-27,7) Mon.	5,8 (1,8-38,5) Mon.	0,35
Belastungsdyspnoe	74%	68%	0,48
NYHA I	13%	14%	0,72
NYHA II	50%	53%	(alle Klassen)
NYHA III	34%	33%	
NYHA IV	3%	1%	
Atyp. A.p.	52%	34%	0,01
EF (mean/Std.dev.)	54,7 (±15,5)	51,3 (±19,7)	0,02
EF<45%	28%	42%	0,01
FS (%)	27,7 (±11,8) %	23,5 (±13,7) %	0,03
LVEDP (mm Hg)	9 (6,5 – 13)	11 (8 – 16)	0,006
ST-Hebung	15%	6%	0,07
T-Negativierung	33%	50%	0,26
LSB	23%	13%	0,06
Fibrose	77%	66%	0,002
Virus ges.	76%	59%	0,14

3.1.17 Vergleich mit dem Gesamtkollektiv

Die bislang analysierte Patientengruppe umfasst nur einen kleinen Teil aller an unserer Klinik myokardbiopsierter und immunhistologisch untersuchter Patienten (n=5113) und wurde

gewählt, da es von diesen Patienten (eine oder mehrere) Folgebiopsien und eine im Verlauf mindestens zweimal katheterangiografisch gemessene Ejektionsfraktion (EF) gibt, sodass der Spontanverlauf der Herzmuskelerkrankungen beschrieben werden kann.

Die folgende Tabelle (Tabelle 31) zeigt, dass sich mit Ausnahme des Alters und eines unterschiedlich häufig eruerbaren Infektes wichtige klinische Symptome und LV-Funktionsparameter der hier untersuchten Untergruppe von 527 Patienten nicht wesentlich vom Gesamtkollektiv aller 5113 Patienten unterscheiden, somit beide Gruppen weitgehend vergleichbar sind.

Tabelle 31 Vergleich der 527 Patienten mit dem Gesamtkollektiv von 5113 Patienten, klinische Daten; Daten aus der 1. invasiven Untersuchung

	527 Patienten	5113 Patienten	p
Alter, Geschlecht	46,9 Jahre ($\pm 12,4$); 67% <i>m</i>	49,1 Jahre ($\pm 14,7$); 67% <i>m</i>	<0,0001/0,88
Anamnesedauer	8,0 Monate (1,5-32,1)	7,2 Monate (1,7-36)	0,48
Infektanamnese	41%	34%	0,002
NYHA I	15%	18%	0,06
NYHA II	51%	51%	(alle Klassen)
NYHA III	30%	25%	
NYHA IV	4%	6%	
Belastungsdyspnoe	71%	68%	0,28
Atypische A. pectoris	38%	34%	0,06
Belastungs-A.p.	22%	22%	0,65
EF	51,9% ($\pm 18,4$)	50,7% ($\pm 19,6$)	0,11
EF \leq />45%	34% / 66%	38% / 62%	0,06
Perikarderguss	5%	8%	0,26
LVEDD	56 mm (51-64,3)	56 mm (50-65)	0,44
LVEDP	10 mm Hg (7-15)	10 mm Hg (7-16)	0,20
Herzrhythmusstrg. (ges.)	43%	44%	0,73
Linksschenkelblock	15%	17%	0,36

3.1.18 Vergleich der 25%- und der 75%-CD3-Perzentile am Gesamtkollektiv

Um zu überprüfen, ob die an den 527 Patienten gefundenen Unterschiede auch am großen Gesamtkollektiv aller biopsierter Patienten bestätigt werden können und ob sich höhere Signifikanzen für Unterschiede aufgrund der höheren Patientenzahl ergeben, wird nochmals eine Analyse an diesen Patienten durchgeführt. Wie bei der vorangegangenen Subgruppenanalyse wird auch dieses Kollektiv in Quartile aufgeteilt und das Quartil mit der niedrigsten CD3-Zahl dem Quartil mit der höchsten CD3-Zahl gegenübergestellt; daraus ergeben sich zwei Gruppen mit 1277 bzw. 1279 Patienten. Bei dieser Analyse können die oben beschriebenen

Differenzen der beiden Gruppen bezüglich des Unterschiedes der Pumpfunktion eindrucksvoll (p Differenz der EF 0,002) bestätigt werden; zusätzlich lässt sich eine signifikant ($p=0,03$) längere Anamnesedauer von 8,7 Monaten in der Gruppe mit der niedrigen CD3-Zahl versus 6,0 Monaten in der Gruppe mit der höheren Entzündung nachweisen, und auch die zuvor bereits häufiger nachweisbare präterminale T-Negativierung ist hier jetzt signifikant ($p=0,01$). Hingegen lässt sich nicht bestätigen, dass bei Patienten mit mehr Entzündung seltener Virus nachgewiesen werden kann – im Gegenteil: signifikant mehr Patienten mit starker Entzündung sind viruspositiv. Auch lässt sich kein signifikanter Unterschied der Häufigkeit atypischer Angina pectoris mehr zeigen.

Auffällig ist der etwas höhere Anteil von Männern bei den Myokardbiopsien mit hoher CD3-Zellzahl (Tabelle 32); die CD8-Zellzahl von Männern und Frauen ist jedoch in beiden Quartilen nicht unterschiedlich (0,35 vs. 0,35 bzw. 5,0 vs 4,6; n.s.).

Tabelle 32 25%/75% -CD3-Perzentile und klinische Daten in einem großen Kollektiv (n=2556)

	25% Perzentile CD3 (n=1220)	75% Perzentile CD3 (n=1202)	p
CD2 (Median; Quartile)	1,1 (0,7-1,8)	9,3 (7,1-13,2)	n.a.
CD3 (Median; Quartile)	1,1 (0,7-1,4)	10,7 (8,6-14,6)	n.a.
Alter	49,7 J. ($\pm 14,2$)	47,7 J. ($\pm 15,5$)	0,01
Geschlecht	64% m	70% m	0,08
Belastungsdyspnoe	64%	70%	0,08
Anamnesedauer	8,7 Mon. (1,7-43,7)	6,0 Mon. (1,4-31,6)	0,03
Infektanamnese	33%	37%	0,24
NYHA I	21%	18%	0,44
NYHA II	48%	52%	(alle Klassen)
NYHA III+IV	25%	25%	
NYHA IV	6%	5%	
Atypische A.p.	34%	33%	0,59
Belastungs-A.p.	18%	22%	0,11
EF	51,9% ($\pm 20,2$)	48,7% ($\pm 19,8$)	0,002
EF \leq 45%	35% / 65%	42% / 58%	0,008
Perikarderguss	7%	9%	0,65
LVEDD	55 mm (49-65)	56 mm (50-65)	0,76
LVEDP	11 mm Hg (7-16)	10 mm Hg (7-15)	0,58
VT	8%	5%	0,09
ST-Erhöhung	9%	10%	0,78
ST-Senkung	16%	16%	0,82
Präterm.T-Neg.	5%	10%	0,01
LSB	16%	14%	0,29
Virus pos. gesamt	47%	56%	0,02
Histol. Myokarditis	0,8% (n=4)	8% (n=39)	<0,0001

3.1.19 Vergleich der Patienten mit der schlechtesten/besten Pumpfunktion

Anhand einer Betrachtung der 10% Patienten mit der schlechtesten / besten Pumpfunktion soll nun untersucht werden, ob es immunhistologische Besonderheiten (isolierte Erhöhung einzelner Marker) gibt, die diese Patientenuntergruppen auszeichnen.

Hierbei zeigt sich, und das ist signifikant ($p=0,02$), eine höhere CD8-Zahl bei den Patienten mit der schlechtesten Pumpfunktion (Tabelle 33). Weiterhin fällt eine - allerdings nicht signifikante - gegenläufige Expression der HLA-Marker und der ICAM-Marker auf: während HLA in der Gruppe mit der schlechten Pumpfunktion niedriger ist als in der Gruppe mit der guten Pumpfunktion, ist ICAM dort höher.

Für die übrigen immunhistologischen Parameter lassen sich keine wesentlichen Unterschiede nachweisen.

Tabelle 33 Klinische und immunhistologische Unterschiede in der Gruppe mit der schlechtesten (10% Perzentile der EF) und der besten (90% Perzentile) Pumpfunktion (n=109)

	10% Perzentile der EF (n=51)	90% Perzentile der EF (n=58)	p
EF	18,3 (\pm 4,3)	79,7 (\pm 4,3)	n.a.
CD2	8,0 (3,7 – 11,2)	5,9 (3,2 – 14,4)	0,12
CD3	8,6 (5,0 – 14,3)	8,2 (2,9 – 10,4)	0,19
CD4	3,6 (1,4 – 6,0)	2,9 (1,2 – 5,2)	0,21
CD8	3,9 (1,9 – 6,0)	2,9 (0,5 – 4,5)	0,02
CD45R0	6,2 (1,8 – 14,5)	3,6 (1,8 – 8,2)	0,11
Ma102	3,9 (1,4 – 5,4)	3,9 (2,1 – 7,2)	0,10
Cluster CD2	42%	50%	0,21
Cluster CD3	40%	40%	0,41
HLA I Gefäße	1,4 (\pm 0,51)	1,5 (\pm 0,47)	0,51
HLA I Interstitium	1,3 (\pm 0,37)	1,3 (\pm 0,50)	0,60
HLA DR Gefäße	1,3 (\pm 0,48)	1,4 (\pm 0,43)	0,46
HLA DR Int.	1,3 (\pm 0,42)	1,4 (\pm 0,58)	0,72
ICAM Gefäße	1,4 (\pm 0,41)	1,3 (\pm 0,37)	0,49
ICAM Int.	1,2 (\pm 0,45)	1,1 (\pm 0,22)	0,45
Histologie positiv n	5/8 (62,5%)	3/8 (37,5)	0,19
Anamnesedauer (Med.)	5,9 Monate	5,9 Monate	0,60
T-Negativierungen	50%	35%	0,65

Ob eine Erhöhung der zytotoxischen CD8 - Lymphozyten auch im weiteren klinischen Verlauf eine negative Bedeutung für die Pumpfunktion hat, wird anhand der Ergebnisse der 2. invasiven Diagnostik überprüft werden.

3.1.20 CD3-Grenzwerte zur Definition der myokardialen Entzündung

Nachdem in den vorangegangenen Analysen als wichtige klinische Merkmale der Patienten mit deutlicher myokardialer Entzündung

- die niedrigere Ejektionsfraktion,
- die kürzere Anamnesedauer und
- das häufigere Auftreten von T-Negativierungen

nachgewiesen werden konnten, stellt sich nun die Frage, ob es mittels dieser Unterschiede gelingt, immunhistologische Kriterien zu definieren, die die Diagnose einer Myokarditis erlauben.

Hierbei sollte unterschieden werden zwischen „über die Norm erhöhten Lymphozytenzahlen im Myokard“ und „klinisch relevanter Entzündung“.

Untersuchungen an Kontrollpatienten (ischämische Kardiomyopathie, Hochdruckherzen, Herzklappenerkrankungen oder Hypertropher Kardiomyopathie) zeigten durchschnittlich weniger als 3,5 CD3-Lymphozyten/mm² (Kuhl et al., 1996), und wie von (Noutsias et al., 2002b) gezeigt, betrug die CD3-Zahl in bei Autopsien gewonnenen Biopsien von Patienten ohne bekannte Herzmuskelerkrankungen im Median 2,9 (0,56 – 4,45) Zellen/ mm²; kein Kontrollgewebe wies mehr als 7 CD3-Lymphozyten/mm² auf.

Andererseits wurde in den vorigen Kapiteln dieser Arbeit gezeigt, dass erst ab einer höheren T-Zellzahl tatsächlich Unterschiede sowohl bezüglich der klinischen Symptome als auch der Pumpfunktion auftreten.

Im folgenden Abschnitt sollen daher nun verschiedene Grenzwerte der CD3-Lymphozytenzahl im Kollektiv der 527 Patienten daraufhin untersucht werden, ob die oben beschriebenen klinischen Unterschiede damit erkannt werden können.

Als Grenzwerte wurden 5 - 10 CD3-Zellen/mm² getestet: 5 Zellen als untersten Grenzwert aufgrund der Befunde an Autopsie-Hezen, die (als Normalkollektiv) keine höhere Zellzahl aufwiesen, und 10 Zellen als obersten Grenzwert, da 10,7 Zellen der Median der histologisch positiven Biopsien – quasi als Positivkontrolle – ist (Tabelle 34).

Aus dieser Tabelle geht hervor, dass ab einem Grenzwert von $\leq 9,0$ Zellen/mm² der Unterschied der EF beider Gruppen erstmals signifikant wird. Dies bestätigt sich auch in der Grup-

pe mit $</>10$ Zellen/mm²; hierbei beträgt die EF 53,1 bzw. 48,8% (p=0,02). Diese beiden EF-Werte ähneln den Werten der 25% / 75%-CD3-Quartilen (Tabelle 32) (EF 51,9% / 48,7%); das heißt, hier ist möglicherweise ein Schwellenwert gefunden, ab dem sich die EF in Abhängigkeit von der Entzündung deutlich und signifikant verschlechtert.

Die übrigen klinischen Unterschiede sind zwar bei den Grenzwerten $</>9$ bzw. 10 Zellen nachweisbar, jedoch nicht signifikant.

Tabelle 34 Korrelation wichtiger Symptome und Befunde von Patienten unterhalb / oberhalb verschiedener CD3-Grenzwerte ($</>5$ -10 CD3-Zellen/mm²)

	$</>10$ Zellen	$</>9$ Zellen	$</>8$ Zellen	$</>7$ Zellen	$</>6$ Zellen	$</>5$ Zellen
n	389 / 138	356 / 171	317 / 210	278 / 249	237 / 290	205 / 322
CD3	4,7 / 14,3	4,5 / 13,2	4,3 / 11,8	3,6 / 10,4	3,2 / 9,9	2,9 / 9,3
EF	53,1 (± 17,4) / 48,8 (± 19,8)	53,3 (± 17,6) / 49,2 (± 19,8)	52,5 (± 17,5) / 51,0 (± 19,7)	52,9 (± 17,5) / 50,9 (± 19,4)	52,3 (± 17,2) / 51,6 (± 19,4)	53,0 (± 16,9) / 51,3 (± 19,3)
p	0,02	0,02	0,36	0,22	0,68	0,27
A.dauer	8,6 / 5,8	8,6 / 5,9	8,5 / 6,8	7,5 / 8,4	7,5 / 8,4	8,6 / 6,8
p	0,23	0,30	0,54	0,67	0,87	0,67
Atyp.Ap	39% / 34%	40% / 32%	41% / 31%	44% / 30%	44% / 32%	56% / 38%
p	0,26	0,16	0,06	0,007	0,03	0,0009
Viren	65% / 59%	66% / 58%	67% / 58%	67% / 59%	68% / 63%	69% / 59%
p	0,27	0,25	0,33	0,37	0,06	0,14
VT	4,7% / 2,9%	5,1% / 2,2%	5,8% / 1,8%	7% / 1,5%	6,3% / 2,5%	6,7% / 2,7%
p	0,49	0,22	0,08	0,03	0,10	0,09
T-Negat.	40% / 50%	40% / 48%	39% / 47%	39% / 47%	38% / 46%	35% / 47%
p	0,36	0,61	0,60	0,5	0,54	0,22
LSB	17% / 12%	18% / 15%	19% / 17%	20% / 13%	19% / 15%	21% / 14%
p	0,28	0,47	0,17	0,09	0,29	0,08
ST-Erh.	12,5% / 6%	13% / 6%	13% / 7%	14% / 8%	15% / 8%	16% / 8%
p	0,10	0,06	0,10	0,09	0,08	0,05
Histo pos., n/%	13 / 12 52% / 48%	10 / 15 40% / 60%	9 / 16 36% / 64%	7 / 18 28% / 72%	7 / 18 18% / 72%	5 / 20 20% / 80%

3.1.21 Weitere Lymphozyten- / CAM-Marker und myokardiale Entzündung

Gibt es andere immunhistologische Marker, die die oben untersuchten klinischen Unterschiede bei starker und geringer myokardialer Entzündung besser abbilden können als CD3 ab einem Grenzwert von 9 Zellen/mm²? Dieser Frage wurde nachgegangen, indem für alle Lymphozyten- und CAM-Marker unterschiedliche Grenzwerte ausgetestet (ähnlich wie in Tabelle 34; Daten nicht gezeigt) und bei einem geeigneten Grenzwert auf Unterschiede der EF, der Anamnesedauer, der Häufigkeit eines Virusnachweises, der atypischen A.p. sowie von T-Negativierungen untersucht wurden.

Die folgende Tabelle (Tabelle 35) zeigt die wesentlichen Ergebnisse:

Tabelle 35 Wesentliche Unterschiede klinischer Daten bei allen immunhist. Markern außer CD3 bezüglich des angegebenen Grenzwertes

	EF	A.dauer	Virus pos.	Atyp.A.p.	T-Negat.
CD4 <5, n=320	52,9 %	8,3 Mon.	65 %	38 %	13 %
CD4 >5, n=113	50,1 %	8,4 Mon.	51 %	36 %	31 %
p Diff.	0,16	0,92	0,73	0,84	0,01
CD8 <5, n=337	53,4 %	8,7 Mon.	63 %	57 %	14,5 %
CD8 >5, n=95	47,3 %	6,8 Mon.	57 %	30 %	27 %
p Diff.	0,005	0,28	0,13	0,14	0,11
Ma102 <7, n=375	51,6 %	8,5 Mon.	63 %	35 %	16 %
Ma102 >7, n=98	55,5 %	5,8 Mon.	55 %	49 %	0,03
p Diff.	0,05	0,46	0,13	0,03	0,40
HLA I Gef. ≤1,5, n=236	51,1 %	8,2 Mon.	54 %	41 %	11 %
HLA I Gef. >1,5, n=203	53,9 %	9,1 Mon.	30 %	33 %	24 %
p Diff.	0,10	0,61	0,01	0,16	0,04
HLA I Int. ≤1,5, n=214	51,4 %	6,8 Mon.	65 %	40 %	14 %
HLA I Int. >1,5, n=70	54,9 %	11,2 Mon.	45 %	32 %	24 %
p Diff.	0,07	0,35	0,21	0,21	0,02
HLA DR Gef. ≤1,5, n=304	52,1 %	6,9 Mon.	66 %	40 %	15 %
HLA DR Gef. >1,5, n=137	53,7 %	11,6 Mon.	50 %	32 %	22 %
p Diff.	0,38	0,35	0,13	0,14	0,17
HLA DR Int. ≤1,5, n=250	52,4 %	6,1 Mon.	65 %	47 %	19 %
HLA DR Int. >1,5, n=77	51,7 %	5,5 Mon.	47 %	28 %	34 %
p Diff.	0,75	0,79	0,28	0,11	0,16
ICAM Gef. ≤1,5, n=250	52,4 %	6,1 Mon.	65 %	40 %	19 %
ICAM Gef. >1,5, n=78	51,7 %	5,5 Mon.	47 %	28 %	34 %
p Diff.	0,75	0,82	0,28	0,11	0,18
ICAM Int. ≤1,0, n=255	52,7 %	5,7 Mon.	64 %	42 %	14 %
ICAM Int. >1,0, n=75	50,6 %	8,6 Mon.	50 %	25 %	49 %
p Diff.	0,33	0,31	0,02	0,02	<0,0001

Standardabweichungen / Interquartilenbereiche aus Platzgründen nicht aufgeführt

Aus dieser Tabelle geht hervor, dass eine Erhöhung der zytotoxischen CD8-positiven Lymphozyten ebenfalls mit einer statistisch sehr signifikant schlechteren Pumpfunktion einhergeht (EF 47,3 % versus 53,4%) – wie bereits im Kapitel 3.1.19, Seite 60, vermutet.

Für eine Erhöhung der Makrophagen (Ma 102) gilt das Umgekehrte: hier ist die Pumpfunktion bei Erhöhung signifikant besser (51,6% EF versus 55,5%).

Die Anamnesedauer ist bei keinem Marker signifikant unterschiedlich, hingegen lassen sich bei mehreren Markern signifikant häufiger T-Negativierungen nachweisen, wenn sie erhöht sind.

Insgesamt ergeben sich aus diesen Daten jedoch keine neuen Erkenntnisse; insbesondere lassen sich bei einer Erhöhung der CAM-Marker (außer ICAM interstitiell) – jedenfalls für sich allein genommen – keine klinischen Unterschiede der Patienten nachweisen.

3.1.21.1 CAM-Scores

Daher wird im Folgenden untersucht, ob eine Kombination verschiedener Entzündungsmarker die klinischen Unterschiede besser abbilden kann; insbesondere werden CAM-Marker in verschiedenen Konstellationen zusammen mit einer CD3-Erhöhung auf > 9 Zellen/mm² („CAM-Scores“, Tabelle 36) getestet. Falls nämlich aufgrund einer fokalen Entzündung die Lymphozyten bei der Anfärbung verfehlt werden („sampling error“), könnte immer noch die (relativ homogen in der Biopsie nachweisbare) CAM-Expression verstärkt sein und damit auf einen myokardialen Entzündungsprozess hindeuten.

Dabei zeigt sich jedoch, dass bestenfalls ein ebenso signifikanter Unterschied der EF wie bei alleiniger Anwendung des Kriteriums „CD3 >9 “ entdeckt werden kann. Eine Überlegenheit dieser Kombinationen kann somit nicht nachgewiesen werden (Tabelle 37).

Tabelle 36 Definition verschiedener CAM-Scores zur immunhistologischen Diagnostik einer MC

Score Nr.	Definition
1	HLA I und HLA-DR int. und auf Gefäßen $>1,5$ und/oder CD3 >9 Zellen/mm ²
2	Mind. 3 von 4 Markern aus Score 1 $>1,5$ und/oder CD3 >9 Zellen/mm ²
3	Nur HLA I (Zellen + Gefäße) $>1,5$ und/oder CD3 >9 Zellen/mm ²
4	Nur HLA-DR (Zellen + Gefäße) $>1,5$ und/oder CD3 >9 Zellen/mm ²
5	Nur ICAM (Zellen und Gefäße) $>1,5$ und/oder CD3 >9 Zellen/mm ²
6	Nur HLA (I und DR) auf Gefäßen $>1,5$ und/oder CD3 >9 Zellen/mm ²
7	Nur HLA (I und DR) auf Zellen $>1,5$ und/oder CD3 >9 Zellen/mm ²

Tabelle 37 CAM-Scores (s. Tabelle 36) zur Definition der Entzündung im Vergleich zu CD3>9 bzw. >10 Zellen/mm² bezüglich des Gesamtkollektivs

Score-Nummer	Positiv n / ges. (%)	EF (neg./pos.) (mean)	p Diff.
Nur CD3 >9 Zellen	171 / 527 (32%)	53,2% / 49,2%	0,02
Nur CD3 >10 Zellen	138 / 527 (26%)	51,3% / 48,8%	0,03
1. (4 Punkte +/-CD3)	183 / 421 (43%)	52,6% / 51,5%	0,04
2. (≥3 Punkte +/-CD3)	215 / 421 (51%)	51,1% / 53,3%	0,33
3. (HLA I erhöht +/-CD3)	217 / 494 (44%)	52,7% / 51,1%	0,35
4. (HLA DR erhöht +/-CD3)	217 / 494 (44%)	53,0% / 50,4%	0,15
5. (ICAM erhöht +/-CD3)	174 / 420 (41%)	53,4% / 49,4%	0,04
6. (HLA Gef. erhöht +/-CD3)	251 / 491 (51%)	53,0% / 51,5%	0,39
7. (HLA int. erhöht +/-CD3)	186 / 421 (44%)	53,0% / 50,1%	0,10

Man erkennt, dass von diesen Scores nur die Kombination einer erhöhten ICAM-Expression mit einer erhöhten CD3-Zahl (Score Nr. 5) einen statistisch signifikanten Unterschied der EF abbildet.

3.2 Ergebnisse zum Zeitpunkt der 2. invasiven Diagnostik

3.2.1 Verlauf der Pumpfunktion des Gesamtkollektivs

Um den Einfluss der myokardialen Entzündung auf den Erkrankungsverlauf zu erfassen, wurde die EF nach durchschnittlich 7 Monaten zum Zeitpunkt der Entnahme von Kontrollbiopsien erneut katheterangiografisch bestimmt.

Dabei wird die Pumpfunktion im Mittel besser; die EF steigt von durchschnittlich 51,9% auf 54,6%, $p < 0,0001$.

Insbesondere verbessert sich die Gruppe mit einer anfänglichen EF <45% um durchschnittlich 8% ($p < 0,0001$) von 30,7% auf 38,7% (Abbildung 16), wohingegen sich die Pumpfunktion der Patienten mit nur leichter Einschränkung (EF >45%) kaum verändert und im Mittel mit 62,8% (zuvor 63,0%) konstant bleibt ($p = 0,76$) (Abbildung 17).

Abbildung 16 Anstieg der EF im zeitlichen Verlauf bei EF anfangs <45%, n=180; x-Achse: Durchschnitt von EF 1 und EF 2 pro Patient, y-Achse: Differenz der 2. zur 1. EF.

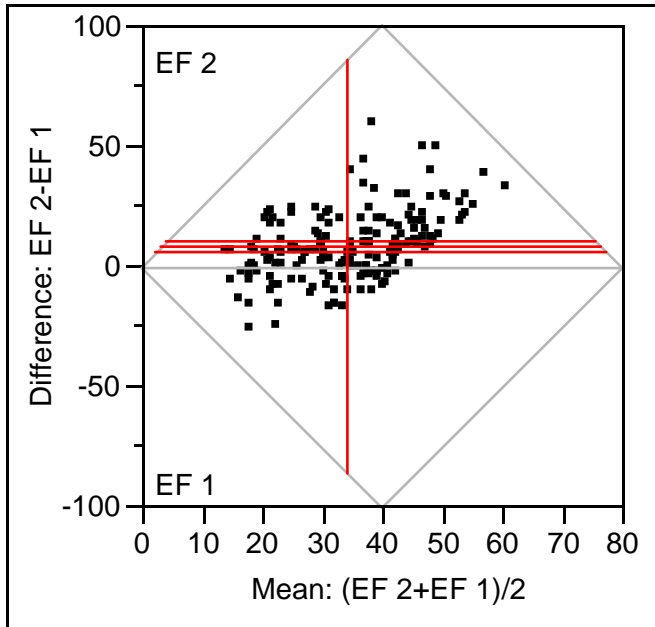
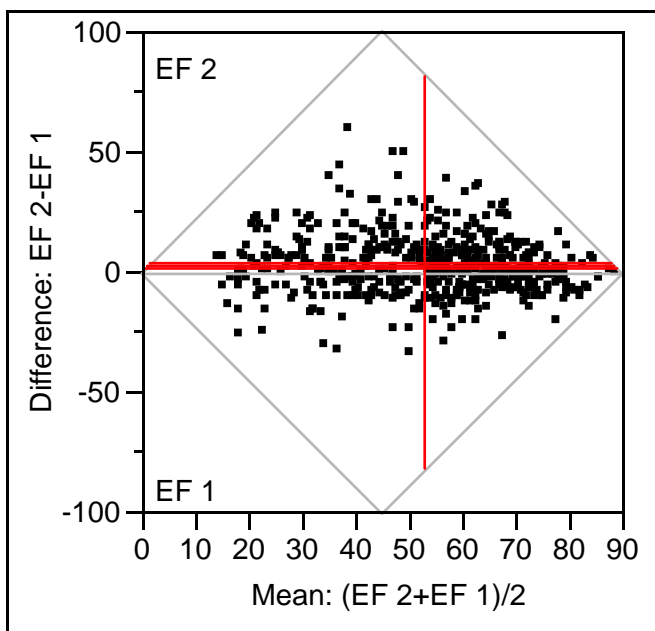


Abbildung 17 Keine Änderung der EF bei Anfangs-EF >45%, n=347; x-Achse: Durchschnitt von EF 1 und EF 2 pro Patient, y-Achse: Differenz der 2. zur 1. EF.



3.2.1.1 Hämodynamische Ergebnisse aus der Herzkatheteruntersuchung

Tabelle 38 zeigt, dass die hämodynamischen Parameter sich parallel zur Entwicklung der EF verbessern:

Tabelle 38 Verlauf der LVF und RVF bei Anfangs-EF \leq 45%, Gesamtkollektiv (n=527)

	EF<45%			EF>45%		
	1. Unters.	2. Unters.	p	1.Unters.	2. Unters.	p
LVEDP (mm Hg)	16,0 (\pm 8,8)	12,2 (\pm 7,9)	<0,0001	9,7 (\pm 5,0)	9,3 (\pm 4,6)	<0,0001
Aorta dia.(mm Hg)	70,1 (\pm 12,3)	66,3 (\pm 15,0)	0,14	70,0 (\pm 12,2)	67,9 (\pm 14,9)	0,75
Aorta sys. (mm Hg)	118 (\pm 25,1)	118 (\pm 19,9)	0,89	124,3 (\pm 19,6)	125,7 (\pm 25,)	0,45
LV sys.(mm Hg)	113 (\pm 19,4)	117,8 (\pm 20)	0,24	126,3 (\pm 21,4)	128,9 (\pm 23,4)	0,48
SVI (l/m ²)	38,5 (\pm 13,5)	41,5 (\pm 16,2)	0,01	49,5 (\pm 13,5)	50,2 (\pm 13,5)	0,38
HI (l/m ² /min)	2,9 (\pm 0,8)	2,9 (\pm 0,9)	0,25	3,4 (\pm 0,9)	3,4 (\pm 0,9)	0,35
RVEDP (mm Hg)	6,4 (\pm 3,7)	6,3 (\pm 3,9)	0,50	5,5 (\pm 3,3)	5,6 (\pm 3,4)	0,78
RV sys.(mm Hg)	34,0 (\pm 11,7)	30,9 (\pm 11,5)	0,0007	26,4 (\pm 7,6)	26,2 (\pm 7,6)	0,97
RV dia.(mm Hg)	5,2 (\pm 4,0)	5,0 (\pm 3,9)	0,49	4,4 (\pm 3,4)	4,4 (\pm 3,4)	0,85
RA mean (mm Hg)	5,1 (\pm 3,4)	5,0 (\pm 3,2)	0,6	4,5 (\pm 3,5)	4,3 (\pm 2,8)	0,81
PA dia.(mm Hg)	14,5 (\pm 7,8)	12,6 (\pm 7,5)	0,12	8,6 (\pm 4,3)	9,2 (\pm 5,6)	0,10
PA sys.(mm Hg)	31,7 (\pm 12,9)	28,8 (\pm 12,8)	0,11	22,5 (\pm 7,8)	22,9 (\pm 9,2)	0,17
PA mean (mm Hg)	19,9 (\pm 9,7)	17,6 (\pm 8,9)	0,13	13,8 (\pm 6,0)	13,9 (\pm 5,1)	0,54
PC (mm Hg)	13,1 (\pm 8,0)	10,8 (\pm 7,2)	0,04	7,7 (\pm 4,4)	7,5 (\pm 4,0)	0,56

3.2.1.2 Echokardiografie

Auch echokardiografisch zeigt sich, dass mit dem Anstieg der EF die hämodynamischen Parameter wie enddiastolischer und endsystolischer Durchmesser sowie der Mitralsegel-Septum(MSS)-Abstand abnehmen. Fractional shortening (FS) nimmt nicht signifikant zu, die Wanddicken bleiben im Wesentlichen unverändert (Tabelle 39).

Tabelle 39 Echodaten im Verlauf der 1. und 2. invasiven Diagnostik (Gesamtkollektiv)

	1. Unters.	2. Unters.	p Diff.
EF (%) Mean	46,0 (\pm 15,7)	50,5 (\pm 15,0)	<0,0001
PE	5%	3%	0,06
LA (mm)	39,7 (\pm 7,7)	38 (34 – 44)	0,35
LVEDD (mm)	58,1 (\pm 9,7)	50 (46 – 55)	<0,0001
LVESD (mm)	41,6 (\pm 12,5)	37 (32 – 45)	<0,0001
IVS (mm)	10,4 (\pm 2,2)	10,5 (\pm 1,9)	0,02
Hinterw. (mm)	9,9 (\pm 1,8)	10 (\pm 1,5)	0,19
FS (%)	26,1 (\pm 13,3)	27,3 (\pm 13,4)	0,24
MSS-Abst. (mm)	11,2 (\pm 8,4)	8,4 (\pm 7,7)	<0,0001

Teilt man das Gesamtkollektiv wieder in die Subgruppen mit EF \leq 45% auf, so zeigt sich wie bei der Katheter-EF, dass die Besserung der LVF überwiegend in der Gruppe mit EF \leq 45% stattfindet (Tabelle 40).

Tabelle 40 Echodaten im Verlauf bei Anfangs-EF \leq 45%, n=180

	EF \leq 45%			EF $>$ 45%		
	1.Unters.	2.Unters.	p	1.Unters.	2.Unters.	p
EF (%)	32,1(\pm 9,5)	39,1(\pm 11,7)	0,006	57,5(\pm 9,0)	58,4(\pm 11,6)	0,002
LVEDD	67,5 (\pm 8,2)	64,4 (\pm 9,7)	0,0001	54 (\pm 9,0)	53 (\pm 6,6)	0,0001
LVESD	55,7 (\pm 9,5)	50 (\pm 10,9)	0,0001	36 (\pm 8,3)	35 (\pm 7,5)	0,02
FS (%)	16 (\pm 7,7)	29 (\pm 11,0)	0,0001	30 (\pm 13,1)	31 (\pm 12,8)	0,44
MSS	18,9 (\pm 6,4)	15 (\pm 7,8)	0,0003	7 (\pm 6,0)	5,5 (\pm 5,4)	0,0002

3.2.1.3 Änderung der EF bei Männern und Frauen

Ein signifikanter Unterschied der Pumpfunktionsänderung zwischen Männern und Frauen lässt sich weder bei anfangs schlechter noch bei anfangs guter Pumpfunktion nachweisen. Durchschnittlich nimmt bei den Männern in der Gruppe mit der schlechteren Pumpfunktion die EF um 8,4% (von 30,4% auf 38,8%), bei den Frauen um 6,1% von 32,2% auf 38,3% zu (p=0,41).

In der Gruppe mit EF $>$ 45% ist bei den Männern die EF mit 62,5% bzw. 62,1%, bei den Frauen mit 63,6% bzw. 63,8% unverändert, p=0,55.

3.2.1.4 Verbesserung und Verschlechterung der LVF im Verlauf

Um Unterschiede im klinischen Verlauf zu erfassen, werden die Patienten in drei Gruppen (verschlechtert, gleichgeblieben, verbessert) eingeteilt; hierbei wird eine Änderung der EF um mehr als 5% als klinisch relevant angesehen.

Nach dieser Einteilung wird die Pumpfunktion von 172 (33%) Patienten schlechter; ihre EF sinkt von durchschnittlich 58,4 auf 49,7%⁹; bei 113 Patienten (21%) ändert sich die Pumpfunktion nicht wesentlich (EF anfangs durchschnittlich 62,1, im Verlauf 62,0%), 242 Patienten (46%) werden besser (die EF steigt von durchschnittlich 43,0 auf 55,9%).

Differenziert man die Änderung der Pumpfunktion nach Anfangs-EF \leq 45%, so erkennt man, dass sich in der schlechteren Gruppe mehr Patienten (fast 70%) und auch deutlicher (EF-Änderung 15%) verbessern als in der Gruppe mit EF $>$ 45% (Tabelle 41).

Zum Zeitpunkt der 2. invasiven Untersuchung hatten 298 Patienten (58%) eine eingeschränkte Pumpfunktion mit einer EF <60%; zum Zeitpunkt der 1. Untersuchung lag bei 63% aller Patienten (n=324) die EF unter 60%.

Tabelle 41 Änderung der EF in der 2. Biopsie bei Anfangs-EF $\leq 45\%$, n=527

	EF $\leq 45\%$			EF >45%		
	n (%)	EF 1	EF2	n (%)	EF 1	EF2
EF >5% besser	122 (69%)	29% ($\pm 9,7$)	44% ($\pm 13,6$)	120 (34%)	57% ($\pm 8,0$)	68% ($\pm 8,8$)
EF gleich	15 (9%)	32% ($\pm 8,4$)	32% ($\pm 8,5$)	91 (30%)	67% ($\pm 9,4$)	67% ($\pm 9,2$)
EF >5% schlechter	41 (23%)	35% ($\pm 8,0$)	28% ($\pm 8,2$)	132 (38%)	66% ($\pm 11,0$)	56% ($\pm 11,9$)

3.2.2 Ergebnisse der Histologie und Immunhistologie im Verlauf

3.2.2.1 Histologie

Die Zahl der in der konventionellen Histologie nachweisbaren aktiven oder borderline-Myokarditiden (nach Dallas-Kriterien) ist in der 2. Biopsie noch geringer als in der 1. Biopsie: Nur ein Patient hat eine aktive Myokarditis, 9 Patienten haben eine borderline-Myokarditis (insgesamt somit 10/229 Patienten; 4%).

Von den 25 Patienten, die in der 1. Biopsie histologisch eine Myokarditis hatten, lässt sich nur bei einem Patienten (mit borderline-MC) in der Kontroll-Biopsie erneut eine borderline-MC nachweisen; die übrigen 24 Patienten waren histologisch unauffällig.

Die Pumpfunktion dieser 25 Patienten mit aktiver oder borderline-Myokarditis verändert sich kaum, von 51,0% EF auf 52,2% EF ($p=0,67$). Auch diese Zahlen belegen die geringe Sensitivität der Histologie: es ist unwahrscheinlich, dass die 10 Patienten mit in der 2. Biopsie nachweisbaren Entzündung zur Zeit der 1. Biopsie keine Entzündung hatten.

3.2.2.2 Immunhistologie

Die in der 1. Biopsie immunhistologisch nachweisbare Entzündung bildet sich (größtenteils hochsignifikant) zurück (Tabelle 42). Dies lässt sich für alle Lymphozytensubpopulationen und die Adhäsionsmoleküle zeigen.

Tabelle 42 Verlauf der Immunhistologie im Gesamtkollektiv (Median/Interquartilenbereich der Lymphozyten; mean und Standardabweichung der CAM-Expression), n=485

	Zeitpunkt 1.Unters.	Zeitpunkt 2. Unters.	p
CD2	5,7 (3,2-9,3)	3,6 (2,1-6,4)	<0,0001
CD3	6,4 (3,6-10,4)	4,3 (2,1-7,9)	<0,0001
CD4	2,9 (1,4-5,4)	1,8 (0,7-3,2)	<0,0001
CD8	2,9 (1,1-5,5)	1,8 (0,7-3,2)	0,0008
CD45R0	3,9 (1,8-7,5)	2,5 (1,3-5,0)	0,01
Ma102	3,9 (1,8-7,5)	2,5 (1,3-5,0)	0,001
HLA I Gefäße	1,6 (±0,5)	1,5 (±0,5)	0,001
HLA I Int.	1,4 (±0,5)	1,3 (±0,4)	0,0003
HLA DR Gef.	1,5 (±0,4)	1,3 (±0,4)	<0,0001
HLA DR Int.	1,3 (±0,5)	1,2 (±0,4)	<0,0001
ICAM Gef.	1,5 (±0,4)	1,3 (±0,4)	0,0006
ICAM Int.	1,2 (±0,3)	1,1 (±0,4)	0,05

3.2.3 Einfluss der CD3-Zellzahl in der 1. Biopsie auf die LVF in der 2. Biopsie

Gibt es einen Unterschied in der Entwicklung der Pumpfunktion von Patienten mit und ohne deutliche myokardiale Entzündung in der 1. Biopsie? Die Antwort lässt sich aus Tabelle 43 ersehen:

Tabelle 43 Entwicklung der Pumpfunktion bei Patienten mit und ohne deutliche myokardiale Entzündung in der 1. Biopsie, n=527

	n	EF 1. Biopsie	EF 2. Biopsie	p
CD3 1. Biopsie <9 Zellen/mm ²	356	53,3 % (±17,6)	54,9 % (±16,7)	0,01
CD3 1. Biopsie >9 Zellen/mm ²	171	49,2 % (±19,8)	53,9 % (±18,6)	<0,0001

Es zeigt sich, dass sich die Pumpfunktion der Patienten mit relevanter Entzündung in der 1. Biopsie zum Zeitpunkt der 2. Biopsie eindeutig verbessert und trotz des anfänglich deutlichen EF-Unterschiedes fast genauso gut wird wie die der Patienten ohne wesentliche Entzündung.

Aus Tabelle 44 wird deutlich, dass sich die Pumpfunktion von Patienten mit relevanter Entzündung nicht häufiger verschlechtert als ohne relevante Entzündung; auch die Differenz der EF ist nicht wesentlich unterschiedlich.

Tabelle 44 Veränderung der Pumpfunktion im Verlauf in Abhängigkeit einer relevanten Entzündung in der 1. Biopsie, n=527

	Änd. EF	n (%)	EF 1. Biopsie	EF 2. Biopsie	Diff. EF2-EF1
CD3 1. Biopsie <9 Z./mm ²	-1	123 (35%)	60,0 (±15,4)	50,8 (±15,3)	-9,2%
CD3 1. Biopsie <9 Z./mm ²	0	74 (21%)	61,9 (±15,3)	61,7 (±15,0)	-0,2%
CD3 1. Biopsie <9 Z./mm ²	1	159 (44%)	44,3 (±15,8)	56,2 (±16,2)	+11,9%
CD3 1. Biopsie >9 Z./mm ²	-1	49 (29%)	54,3 (±19,3)	46,9 (±18,8)	-7,4%
CD3 1. Biopsie >9 Z./mm ²	0	39 (23%)	62,3 (±14,9)	62,7 (±14,8)	+0,4%
CD3 1. Biopsie >9 Z./mm ²	1	83 (49%)	40,5 (±18,0)	55,3 (±17,3)	+14,8

EF -1: Verschlechterung der EF >5%; EF 0: EF gleichgeblieben; EF 1: Verbesserung der EF >5%

Auch wenn sich die Pumpfunktion von Patienten mit myokardialer Entzündung in der 1. Biopsie verbessert, ist damit noch nicht gesagt, dass sie sich völlig normalisiert.

Wenn man als „normale systolische Pumpfunktion“ eine EF >60% annimmt, dann haben 67% der Patienten mit relevanter myokardialer Entzündung z.Z. der 1. Biopsie eine eingeschränkte EF. Bei 62% dieser Patienten verbessert sich die Pumpfunktion um >5%, und bei 16% erreicht sie sogar Werte >60%, normalisiert sich also.

Auf der anderen Seite verschlechtern sich von den Patienten mit anfänglicher EF >60% zwar 37%; jedoch haben nur 15% eine EF unter 60%, also keine normale Pumpfunktion mehr. Das bedeutet also, dass eine Myokarditis zwar häufig am Anfang mit einer eingeschränkten Pumpfunktion einhergeht, dass sich die Pumpfunktion aber im Verlauf oft bessert oder gelegentlich auch normalisiert. Wenn umgekehrt trotz Entzündung die Pumpfunktion anfangs normal war, ist das Risiko gering (15%), dass die Pumpfunktion im Verlauf unterhalb des Normbereiches gerät – jedenfalls im hier betrachteten Zeitverlauf von im Mittel 7 Monaten.

Dies wirft aber auch die Frage auf, ob es immunhistologische Marker gibt, mit denen die Patienten, deren Pumpfunktion sich im Verlauf klinisch relevant verändern wird, anhand der Ergebnisse der 1. Biopsie zu identifizieren.

3.2.4 CD8 als Prognosefaktor der LF-Funktion

Eine Erhöhung der CD8-positiven T-Lymphozyten ist bei der 1. Biopsie mit einer signifikant schlechteren linksventrikulären Pumpfunktion assoziiert. Daher soll nun der Verlauf der Pumpfunktion in Abhängigkeit von der Höhe der CD8-Zahl in der 1. Biopsie untersucht werden.

Betrachtet man die Abhängigkeit der EF zur Zeit der 2. Biopsie von der Höhe der CD8-pos. Zellen in der 1. Biopsie, so sieht man (Abbildung 18), dass eine deutliche, statistisch sehr signifikante ($p=0,005$) negative Korrelation von CD8 und EF besteht.

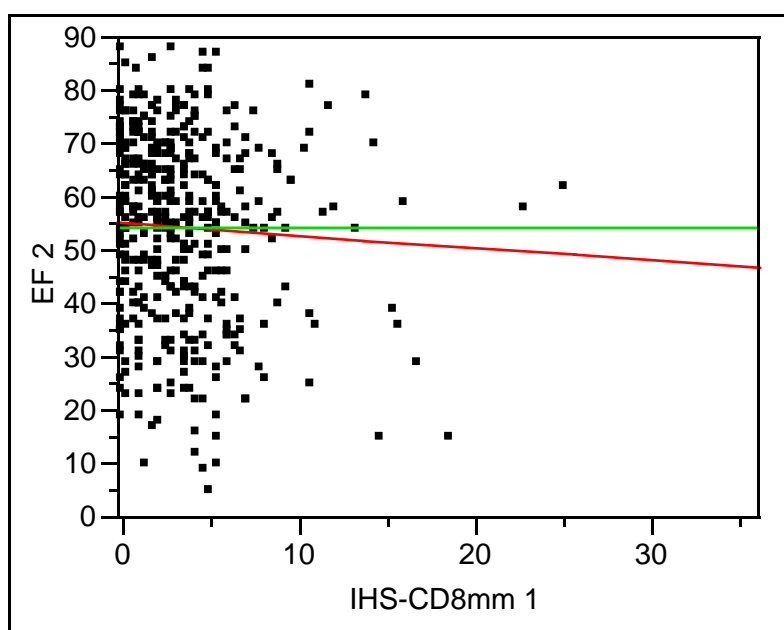
Diese Korrelation besteht auch für die Marker CD2, CD3, CD4, CD45R0, hier jedoch mit geringer ausgeprägter Abhängigkeit und Signifikanz (Tabelle 45).

Die Korrelation der EF mit dem Makrophagenmarker Ma102 ist positiv - je höher, desto besser die EF - jedoch nicht signifikant.

Tabelle 45 Korrelation der Lymphozytenmarker (1. Biopsie) mit der EF (2. Biopsie); $n=527$

Lymphozytensubpopulation	Regressionskoeffizient	p
CD 2, 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	-0,144	0,01
CD3, 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	-0,08	0,045
CD4, 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	-0,18	0,03
CD8, 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	-0,24	0,005
CD 45 R0, 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	-0,04	0,21
Ma 102, 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	0,129	0,30

Abbildung 18 Abhängigkeit der EF z.Z. der 2. Biopsie von der Höhe von CD8 in der 1. Biopsie, $n=527$.
x-Achse: Zahl der CD8-T-Zellen/ mm^2 ; y-Achse: EF z.Z. der 2. Biopsie.



Aus diesen Daten kann somit gefolgert werden, dass es einen Zusammenhang zwischen der Anzahl der CD8-Zellen in der 1. Biopsie und der Auswurfleistung zur Zeit der 1. und der 2. Biopsie gibt, der stärker ausgeprägt ist als für die übrigen Lymphozytensubpopulationen.

3.2.5 ICAM als Prognosefaktor der LV-Funktion

Gibt es einen ähnlich starken Zusammenhang auch für eines der Adhäsionsmoleküle?

Dies wird in der folgenden Tabelle (Tabelle 46) gezeigt:

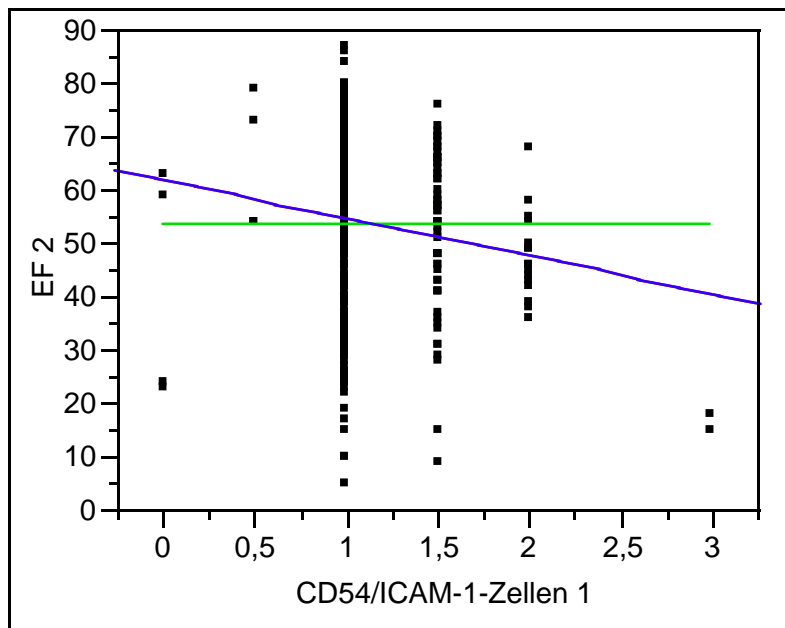
Tabelle 46 **Abhängigkeit der Pumpfunktion z.Z. der 2. Biopsie von der CAM-Expression in der 1. Biopsie (Gesamtkollektiv)**

CAM-Expression	Regressionskoeffizient	p
HLA I Gef., 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	1,67	0,32
HLA I Int., 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	0,64	0,71
HLA DR Gef., 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	0,22	0,90
HLA DR Int., 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	-0,32	0,85
ICAM Gef., 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	-0,38	0,85
ICAM Int., 1. Biopsie / EF 2. Biopsie	-7,1	0,007

Nur für ICAM I interstitiell besteht somit ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen der Expression in der 1. Biopsie und der EF in der 2. Biopsie, und zwar – ebenso wie die T-Zellmarker – in Form einer negativen Korrelation (je höher die Expression, desto niedriger die EF) (Abbildung 19).

Die übrigen Adhäsionsmoleküle sind teils negativ, teils positiv mit der EF korreliert, jedoch nicht signifikant.

Abbildung 19 Korrelation zwischen der Höhe der interstitiellen ICAM-Expression in der 1. Biopsie und der EF in der 2. Biopsie.



3.2.6 Prognose-Score (CD8 und ICAM)

Somit ergeben sich als mögliche prädiktive Faktoren einer auch im Verlauf schlechten Pumpfunktion eine hohe CD8-Zellzahl sowie eine hohe ICAM-Expression interstitiell in der 1. Biopsie.

Daher wird versucht, aus diesen beiden Markern einen Score zu entwickeln, der einen möglichst hohen prädiktiven Wert für die Verschlechterung der Pumpfunktion im Verlauf haben soll.

Auch hier wurden wieder verschiedene Modelle entworfen (Tabelle 47) und daraufhin getestet, welches am besten eine Verschlechterung der Pumpfunktion im Verlauf vorhersagen kann (Tabelle 48).

Tabelle 47 Verschiedene Prognosescores für die LVE, basierend auf CD8 und ICAM interstitiell in der 1. Biopsie

Score Nr.	Definition
1	CD8 >5 Zellen/mm ² und/oder ICAM Int.>1,0
2	CD8 >7 Zellen/mm ² und/oder ICAM Int.>1,0
3	CD8 >7 Zellen/mm ² und/oder ICAM Int.>1,5

Tabelle 48 Scores (s.a. obige Tabelle) CD8/ICAM aus der 1. Biopsie zur Prognose der Änderung der LVF in der 2. Biopsie

	Score 1 negativ	positiv	Score 2 negativ	positiv	Score 3 negativ	positiv
n (%)	216 (60%)	145 (40%)	240 (69%)	108 (31%)	289 (83%)	58 (17%)
EF 1. Bx	54% (±16,4)	49,5%(±17,7)	53,5%(±16,5)	48,5%(±17,1)	53% (±16,6)	46% (±17,1)
EF 2. Bx	56% (±16,6)	51,3%(±16,1)	55,4%(±16,5)	51,1%(±15,8)	54,6%(±16,3)	51% (±16,8)
EF = -1	66 / 31%	55 / 39%	75 / 32%	40 / 38%	98 / 35%	17 / 30%
EF = 0	50 / 23%	29 / 20%	56 / 24%	20 / 19%	63 / 22%	12 / 21%
EF = 1	97 / 46%	58 / 41%	105 / 44%	46 / 43%	123 / 43%	28 / 49%

EF -1: Verschlechterung der EF >5%; EF 0: EF gleichgeblieben; EF 1: Verbesserung der EF >5%; n / % der in diesem Score positiven bzw. negativen Patienten.

Von diesen drei untersuchten Scores kann Score Nr. 1 die (relativ und absolut) größte Zahl von Patienten erkennen (n=55, 39% der in diesem Score positiven Patienten, 45% aller Patienten mit verschlechterter Pumpfunktion), deren Pumpfunktion sich im Verlauf verschlechtert.

Allerdings verbessern sich auch bei diesem Score 41% aller „positiven“ Patienten, und andererseits sind von den insgesamt 121 Patienten, die sich verschlechtern, auch in diesem Score n=66 (55%) unauffällig; mit anderen Worten: die „Sensitivität“ dieses Tests zur Vorhersage einer Pumpfunktionsverschlechterung beträgt 45%; die „Spezifität“ beträgt lediglich 39%.

Nun soll dieser „Prognose-Score“ aus CD8 und ICAM mit den im Kapitel 3.1.21, Seite 64, vorgestellten Entzündungs-Definitionen („Scores“) verglichen werden. Dabei werden jetzt nur Patienten berücksichtigt, deren EF sich zwischen 1. und 2. invasiver Untersuchung um >5% verschlechtert hat.

Wenn man diese 5 Scores als Tests zur Abschätzung einer Pumpfunktionsverschlechterung betrachtet, so kann man – wie zuvor für den CD8/ICAM-Score – die Sensitivität und die Spezifität bei Entzündungsnachweis (= positiver Score) berechnen.

Dabei heißt „Sensitivität“: der Score erkennt n % Patienten mit sich verschlechternder Pumpfunktion von allen Patienten mit verschlechterter Pumpfunktion, und „Spezifität“: von allen Patienten, die in diesem Score positiv sind, verschlechtern sich m % im Verlauf (Tabelle 49).

Tabelle 49 Sensitivität und Spezifität der 5 Entzündungsscores hinsichtlich der Erkennung einer Pumpfunktionsverschlechterung im Verlauf

Entzündungsscore	Sensitivität	Spezifität
CAM-Score pos.	39% (53 / 137)	29% (53 / 180)
ICAM-Score pos.	36% (50 / 137)	29% (50 / 171)
CD8/ICAM-Score pos.	45% (55 / 121)	39% (53 / 141)
CD3 >10 Zellen/mm ² pos.	22% (38 / 170)	29% (38 / 132)
CD3 >9 Zellen/mm ² pos.	28% (48 / 170)	29% (48 / 168)

CAM-Score: Biopsien positiv, wenn >9 CD3-Zellen/mm² und/oder alle 4 HLA-Marker auf mind. Grad 2 erhöht sind

ICAM-Score: Biopsien positiv, wenn >9 CD3-Zellen/mm² und/oder ICAM Zellen und –Gefäße >1,5.

CD8/ICAM-Score: Biopsien positiv, wenn >5 CD8-Zellen/mm² und/oder ICAM-Int >1,0.

Aus dieser Tabelle erkennt man, dass als „Prognosescore“ eindeutig der CD8/ICAM-Score am besten geeignet ist, um Patienten zu identifizieren, deren Pumpfunktion sich im Verlauf möglicherweise verschlechtert.

Nicht nur als Prognosescore scheint dieser CD8/ICAM-Score sinnvoll; auch in Bezug auf die in der ersten Biopsie gefundenen klinischen Unterschiede zwischen Patienten mit geringer und hoher Entzündung schneidet er gut ab, was die folgende Tabelle (Tabelle 50) deutlich macht:

Tabelle 50 CD8/ICAM-Score in Bezug auf wesentliche Symptome und Befunde z.Z. der 1. und der 2. Biopsie, n=361

	Score negativ	Score positiv	p
Verteilung	n=216 (60%)	n=145 (40%)	n.a.
CD3 1. Biopsie	3,9 (2,2-6,8)	8,9 (6,1-13,2)	<0,0001
CD3 2. Biopsie	3,2 (1,8-6,1)	4,6 (2,9-8,9)	<0,0001
EF 1. Biopsie	54,0 (±16,4)	49,5 (±17,7)	0,02
EF 2. Biopsie	56,0 (±16,6)	51,3 (±16,1)	0,008
Virus positiv	65%	52%	0,01
EF </>45%	28% / 72%	39% / 61%	0,04
Atyp.A.p.	43%	28%	0,01
VT	6,8%	1,2%	0,05
T-Negativierung	12%	33%	<0,0001
Histo-pos. Biopsien	3 (20%)	12 (80%)	0,005

Schlüsselt man den CD8/ICAM-Score nach ICAM und CD8 im einzelnen auf, so zeigt sich, dass in der 1. Biopsie überwiegend CD8 mit der schlechteren Pumpfunktion korreliert, hinge-

gen eine Erhöhung von ICAM in der 1. Biopsie mit einer fehlenden Verbesserung der Pumpfunktion in der 2. Biopsie einhergeht (Tabelle 51):

Tabelle 51 CD8 und ICAM-Int. einzeln in Bezug auf die myokardiale Pumpfunktion (1. und 2. Biopsie)

	n	EF 1. Biopsie	EF 2. Biopsie
CD8 <5, ICAM <1,5 (1. Biopsie)	216	54,0% ($\pm 16,4$)	56,0 ($\pm 16,6$)
CD8 <5, ICAM $\geq 1,5$ (1. Biopsie)	49	53,8% ($\pm 15,1$)	53,2 ($\pm 12,3$)
CD8 >5, ICAM <1,5 (1. Biopsie)	38	45,6% ($\pm 17,7$)	49,0 ($\pm 15,9$)
CD8 >5, ICAM $\geq 1,5$ (1. Biopsie)	25	44,1% ($\pm 18,5$)	44,8 ($\pm 17,1$)

3.2.7 Marker einer günstigen Prognose (Makrophagen)

Bereits im Kapitel 3.1.21 fiel eine positive Korrelation der Makrophagen mit der Pumpfunktion auf. Nun soll untersucht werden, ob eine hohe Zahl von Makrophagen in der 1. Biopsie möglicherweise eine günstige Entwicklung der Pumpfunktion im Verlauf vorhersagen kann. Auch der Einfluss von CD3 soll diesbezüglich nochmals untersucht werden. Dazu die folgende Tabelle (Tabelle 52):

Tabelle 52 Einfluss von Makrophagen- und CD3-Erhöhung auf die EF zur Zeit der 1. und 2. Biopsie bei CD8/ICAM-negativen bzw. positiven Biopsien

	n	EF 1. Biopsie	EF 2. Biopsie
CD8/ICAM negativ; Ma <7 Z./mm ²	181	52,9 ($\pm 16,3$)	55,1 ($\pm 17,0$)
CD8/ICAM negativ; Ma >7 Z./mm ²	35	59,6 ($\pm 16,1$)	60,4 ($\pm 14,0$)
CD8/ICAM positiv; Ma <7 Z./mm ²	105	48,6 ($\pm 17,8$)	50,2 ($\pm 16,1$)
CD8/ICAM positiv; Ma >7 Z./mm ²	36	53,1 ($\pm 16,8$)	55,2 ($\pm 14,3$)
CD8/ICAM negativ; CD3 <9 Z./mm ²	190	53,0 ($\pm 16,5$)	55,3 ($\pm 16,7$)
CD8/ICAM negativ; CD3 >9 Z./mm ²	26	59,3 ($\pm 15,2$)	61,4 ($\pm 15,0$)
CD8/ICAM positiv; CD3 <9 Z./mm ²	73	54,3 ($\pm 15,7$)	54,0 ($\pm 14,1$)
CD8/ICAM positiv; CD3 >9 Z./mm ²	72	44,7 ($\pm 18,4$)	48,6 ($\pm 17,6$)

CD8/ICAM-Score: Biopsien positiv, wenn >5 CD8-Zellen/mm² und/oder ICAM-Int.>1,0.

Hierin zeigt sich deutlich, dass eine Erhöhung der Makrophagen auf >7 Zellen/mm² sowohl bei den Patienten mit positivem als auch mit negativem CD8/ICAM-Score mit einer um ca.

5% höheren EF in der 1. und in der 2. Biopsie einhergeht, somit in jedem Fall ein prognostisch günstiger Parameter zu sein scheint.

Eine Erhöhung von CD3 über 9 Zellen/mm² hingegen scheint zwar einen günstigen Effekt auf die Pumpfunktion zu haben, solange der CD8/ICAM-Score unauffällig ist; sobald dieser aber positiv ist, verschlechtert sich die Pumpfunktion bei erhöhten CD3-Zahlen nochmals deutlich.

3.2.8 LV-Funktion und myokardiale Entzündungspersistenz in der 2. Biopsie

Insgesamt persistiert eine Erhöhung von CD3 >9 Zellen bei 28% der Patienten mit anfänglicher CD3-Erhöhung in der 2. Biopsie, und bei 14% der Patienten mit unauffälliger 1. Biopsie zeigt sich eine deutliche Entzündung in der 2. Biopsie.

Legt man den CD8/ICAM-Score zugrunde, dann persistiert eine deutliche Entzündung in der 2. Biopsie sogar bei 56% der Patienten mit positivem Score in der 1. Biopsie, während sich bei 20% der Patienten der in der 1. Biopsie negativen Patienten in der 2. Biopsie ein positiver Score nachweisen lässt.

Zunächst wird analysiert, ob bei Persistenz einer deutlichen Entzündung in der 2. Biopsie eine schlechtere Pumpfunktion als bei Ausheilung resultiert. Als Kennzeichen einer deutlichen myokardialen Entzündung werden sowohl das Kriterium „CD3>9 Zellen“ als auch „positiver CD8/ICAM-Score“ überprüft (Tabelle 53):

Tabelle 53 Einfluss einer Entzündungspersistenz (CD8/ICAM und CD3 >9) auf die LVF im Verlauf

	n	EF 1. Bx	EF 2. Bx	p
CD8/ICAM 1. Bx neg. /2. Bx neg.	132 (46%)	54,1 (±16,6)	56,2 (±16,3)	0,03
CD8/ICAM 1. Bx neg. /2. Bx pos.	34 (12%)	54,1 (±15,0)	56,5 (±15,9)	0,19
CD8/ICAM 1. Bx pos. /2. Bx neg.	54 (19%)	48,6 (±17,2)	50,0 (±15,0)	0,50
CD8/ICAM 1. Bx pos. /2. Bx pos.	68 (24%)	49,2 (±18,4)	49,5 (±16,0)	0,85
CD3 >9 1. Bx neg. /2. Bx neg.	281 (58%)	53,5 (±17,6)	55,1 (±16,8)	0,02
CD3 >9 1. Bx neg. /2. Bx pos.	44 (9%)	50,9 (±17,2)	54,1 (±15,7)	0,10
CD3 >9 1. Bx pos. /2. Bx neg.	115 (24%)	49,2 (±19,8)	53,3 (±18,7)	0,002
CD3 >9 1. Bx pos. /2. Bx pos.	45 (9%)	48,8 (±20,2)	54,6 (±18,4)	0,004

CD8/ICAM-Score: Biopsien positiv, wenn >5 CD8-Zellen/mm² und/oder ICAM-Int. >1,0.

Dabei zeigt sich zwar erneut die negative Korrelation einer myokardialen Entzündung mit der EF in der 1. Biopsie (und bei positivem CD8/ICAM-Score mit EF in der 2. Biopsie), aber

überraschenderweise führt eine Entzündungspersistenz in der 2. Biopsie nicht zu einer schlechteren Pumpfunktion als bei Ausheilung der Entzündung.

Auch verschlechtert sich die Pumpfunktion der Patienten mit Entzündungsnachweis in der 2. Biopsie nicht häufiger als ohne Entzündung:

35% der Patienten bei positivem CD8/ICAM-Score in der 2. Biopsie verschlechtern sich um >5% versus 33% der Patienten ohne Entzündung in der 2. Biopsie.

22% der Patienten mit >9 CD3-pos. Zellen verschlechtern sich im Gegensatz zu 34% der Patienten mit <9 CD3-Zellen; das sind sogar tendenziell signifikant (p=0,06) weniger Patienten mit Entzündung in der 2. Biopsie als ohne (Einzelheiten nicht gezeigt).

3.2.8.1 Verlauf der myokardialen Entzündung in der 2. Biopsie

Als Kriterium für „Myokardiale Entzündung in der 1. Biopsie“ wird in den folgenden Untersuchungen der CD8/ICAM-Score verwendet, da er sowohl die klinischen Unterschiede der Patienten mit viel und wenig myokardialer Entzündung als auch die mögliche Pumpfunktionsverschlechterung im Verlauf am besten erfasst.

Man erkennt (Tabelle 54), dass in der Gruppe mit Entzündung alle Patienten in der 2. Biopsie durchschnittlich eine deutlich niedrigere CD3-Zellzahl haben als in der 1. Biopsie, unabhängig davon, ob sich die EF verbessert, verschlechtert oder aber gleich bleibt. Die Zellzahl ist allerdings auch im Verlauf noch höher als die der Patienten ohne Entzündungsnachweis.

Wie nicht anders zu erwarten, ist die Zellzahl der anfangs negativen Biopsien im Verlauf nicht wesentlich verändert und ist auch bei den Patienten, deren LV-Funktion sich bessert, nicht verschieden von denen, deren Pumpfunktion sich nicht ändert oder verschlechtert.

Tabelle 54 Änderung der CD3-Zellzahl in Abhängigkeit von der Änderung der EF im Verlauf und vom Befund der 1. Biopsie

Ergebnis 1. Biopsie	EF-Änderung	n (%)	CD3-Zahl 1. Biopsie	CD3-Zahl 2. Biopsie	p
Negativ	-1	56 (29%)	3,7 (1,8-7,1)	3,0 (1,8-5,7)	0,01
Negativ	0	46 (24%)	3,9 (2,4-7,9)	2,9 (1,4-4,6)	0,002
Negativ	1	91 (47%)	3,9 (2,5-6,1)	3,6 (1,8-7,5)	0,99
Positiv	-1	54 (39%)	8,6 (5,4-11,8)	4,6 (2,9-8,0)	0,001
Positiv	0	28 (20%)	10,0 (7,5-14,1)	5,9 (3,2-9,6)	0,0001
Positiv	1	57 (41%)	9,3 (7,0-13,8)	5,7 (2,7-10,2)	<0,0001

Ergebnis 1. Biopsie: ICAM/CD8-Score positiv: >5 CD8-Zellen und/oder ICAM interstitiell >1,0

EF-Änderung: -1: Verschlechterung >5%, 0: keine Änderung, 1: Verbesserung >5%

Nun hängt die Änderung der Zellzahl in Abhängigkeit von der Änderung der EF ja auch noch von der Ausgangs-EF ab. Daher wurde obige Analyse nochmals durchgeführt, jetzt zusätzlich aufgetrennt nach „EF zum Zeitpunkt der 1. Biopsie \leq 45%“ (Tabelle 55, Tabelle 56).

Bei der Gruppe ohne relevante Entzündung in der 1. Biopsie (Tabelle 55) lässt sich zwischen den Patienten mit EF \leq 45% und EF $>$ 45% weder in der 1. noch in der 2. Biopsie ein wesentlicher Unterschied der Zellzahlen nachweisen.

Tabelle 55 Änderung der CD3-Zellzahl in Abhängigkeit von der Änderung der EF bei Patienten ohne relevante Entzündung in der 1. Biopsie (=negativer CD8/ICAM-Score), n=213

EF 1. Biopsie	EF-Änderung	n	CD3-Zahl 1. Biopsie	CD3-Zahl 2. Biopsie	p Diff. 1./2.Bx
\leq 45%	-1	18 (30%)	4,6 (1,4-6,1)	3,9 (2,9-6,8)	0,75
\leq 45%	0	4 (7%)	2,8 (2,0-9,6)	4,1 (2,0-54,7)	0,38
\leq 45%	1	37 (63%)	4,3 (2,5-6,1)	3,6 (1,8-6,1)	0,52
$>$ 45%	-1	48 (34%)	3,4 (1,9-7,1)	2,5 (2,9-6,4)	0,002
$>$ 45%	0	46 (33%)	4,1 (2,4-7,9)	2,9 (1,4-4,1)	$<$0,0001
$>$ 45%	1	60 (43%)	3,9 (2,5-6,1)	4,6 (2,1-8,2)	0,60

Ergebnis 1.Biopsie: negativer ICAM/CD8-Score ($<$ 5 CD8-Zellen +ICAM int. $<$ 1,5)

EF-Änderung: -1: Verschlechterung $>$ 5%, 0: keine Änderung, 1: Verbesserung $>$ 5%

Anders ist es hingegen bei den Patienten mit relevanter Entzündung in der 1. Biopsie: hier ist die CD3-Zellzahl bei den Patienten mit EF \leq 45% deutlich höher als bei denen mit EF $>$ 45%. Ein wesentlicher Unterschied der Zellzahlen in der 2. Biopsie kann jedoch weder zwischen EF \leq 45% noch zwischen „Verschlechterung/Verbesserung der EF“ nachgewiesen werden.

Tabelle 56 Änderung der CD3-Zellzahl in Abhängigkeit von der Änderung der EF im Verlauf bei Patienten mit relevanter Entzündung in der 1. Biopsie; n=141 (pos. CD8/ICAM-Score)

EF 1. Biopsie	EF-Änderung	n (%)	CD3-Zahl 1. Biopsie	CD3-Zahl 2. Biopsie	p Diff. 1./2.Bx
\leq 45%	-1	13 (25%)	13,2 (8,8-25,9)	5,4 (3,6-12,3)	0,02
\leq 45%	0	6 (11%)	8,7 (4,8-10,6)	6,2 (2,9-7,9)	0,06
\leq 45%	1	34 (64%)	10,7 (7,0-15,0)	5,4 (2,9-10,4)	$<$0,0001
$>$ 45%	-1	42 (47%)	7,5 (3,6-9,7)	3,9 (2,9-6,4)	0,01
$>$ 45%	0	23 (26%)	11,8 (8,2-16,1)	5,9 (3,2-11,0)	0,003
$>$ 45%	1	24 (27%)	8,2 (5,8-12,0)	6,1 (2,2-9,9)	0,03

Ergebnis 1.Biopsie: positiver ICAM/CD8-Score ($>$ 5 CD8-Zellen und/oder ICAM int. $>$ 1,0)

EF-Änderung: -1: Verschlechterung $>$ 5%, 0: keine Änderung, 1: Verbesserung $>$ 5%

Insgesamt zeigen diese Daten, dass eine Verschlechterung der Pumpfunktion nicht mit höherer Entzündung in der 2. Biopsie assoziiert ist und dass eine Entzündungspersistenz in der 2. Biopsie umgekehrt ebenfalls nicht mit einer schlechteren LVF korreliert.

3.2.9 Verlauf der Pumpfunktion bei einer Anfangs-EF \leq 30%

Bisher wurden die Daten der Patienten mit EF $<$ bzw. $>$ 45% verglichen.

Von Bedeutung im klinischen Verlauf ist aber auch die Gruppe der Patienten mit einer EF $<$ 30%, denn bei diesen ist oft von einer deutlich ausgeprägten Herzinsuffizienz auszugehen, diese Patienten sind möglicherweise Kandidaten für eine Herztransplantation und – in den letzten Jahren verstärkt in der Diskussion - diese Patienten sollten nach den aktuell gültigen Leitlinien einen Defibrillator erhalten, falls sich ihre Pumpfunktion im Verlauf nicht bessert. Teilt man die Patienten des hier betrachteten Kollektives in 2 Gruppen mit EF \leq 30% ein, so haben 75 Patienten (14%) in der 1. Untersuchung eine EF von unter 30%.

Wie entwickelt sich deren Pumpfunktion? (Tabelle 57)

Tabelle 57 Entwicklung der Pumpfunktion bei Ausgangs-EF \leq 30%

EF zur Zeit d. 1. Unters.	n	EF 1. Unters.	EF 2. Unters.	p
EF $<$ 30%	75	20,9% (\pm 5,3)	32,5% (\pm 14,7)	$<$0,0001
EF $>$ 30%	452	57,4% (\pm 14,1)	58,5% (\pm 14,8)	0,05

Man erkennt, dass sich die Patienten mit der schlechten EF deutlich verbessern, wohingegen bei Patienten mit Anfangs-EF $>$ 30% kaum noch eine Änderung geschieht.

Nicht alle Patienten mit schlechter Pumpfunktion bessern sich; dies zeigt Tabelle 58:

Tabelle 58 Änderung der Pumpfunktion bei Pat. mit Anfangs-EF $<$ 30% im Verlauf

Änderung der EF	n	EF 1. Unters.	EF 2. Unters.
-1	10 (14%)	23% (\pm 3,9)	17% (\pm 2,8)
0	5 (7%)	21,6% (\pm 3,2)	22% (\pm 3,4)
1	58 (78%)	20,4% (\pm 5,6)	36,9% (\pm 13,7)

EF-Änderung: -1: Verschlechterung $>$ 5%, 0: keine Änderung, 1: Verbesserung $>$ 5%

Fast 80% der Patienten mit anfangs schlechter Pumpfunktion bessern sich also um mehr als 5% (durchschnittlich sogar um 16% absolut).

Im Vergleich zu den Patienten mit schlechter Pumpfunktion hat ein Viertel der Patienten mit anfänglicher EF >30% im Verlauf eine unveränderte Pumpfunktion (und zwar durchschnittlich eine normale EF), ein gutes Drittel verbessert sich von einer durchschnittlich leicht eingeschränkten Pumpfunktion und normalisiert sich; und ein weiteres gutes Drittel mit anfänglich normaler Pumpfunktion erleidet eine Verschlechterung mit im Verlauf leicht eingeschränkter Pumpfunktion (Daten nicht gezeigt).

3.2.10 Verlauf der myokardialen Entzündung bei Anfangs-EF \leq 30%

Die CD3-Lymphozytenzahlen in der 1. Biopsie sind bei den Patienten mit anfangs sehr schlechter Pumpfunktion deutlich höher als bei den Patienten mit guter Pumpfunktion (Tabelle 59), und der CD8/ICAM-Score in der 1. Biopsie ist bei 60% der Patienten mit EF <30% positiv.

Tabelle 59 Verlauf der CD3-Zellen bei Patienten mit guter und schlechter LVF, n=479

	n	CD3, 1. Unters.	CD3, 2. Unters.	p
EF < 30%	69	8,2 (5,0-12,5)	4,3 (2,5-7,7)	<0,0001
EF > 30%	410	6,1 (3,2-10,0)	4,2 (2,1-7,8)	<0,0001
p		0,01	0,73	

Die Ergebnisse der weiteren Aufteilung der Pumpfunktion in „verbessert, gleichgeblieben, verschlechtert“, sind in der folgenden Tabelle zusammengefasst (Tabelle 60):

Tabelle 60 Verlauf der CD3-Zellen bei Patienten mit Anfangs-EF \leq 30%, aufgeteilt nach Art der Änderung im Verlauf. CD3.1: CD3 z.Z. der 1. Biopsie, CD3.2: CD3 z.Z. der 2. Biopsie

Änd		EF < 30%				EF >30%		
EF	n	CD3.1	CD3.2	p	n	CD3.1	CD3.2	p
-1	9	10,2 (6,5-24,2)	5,4 (2,8-10,0)	0,02	142	6,1 (2,9-9,3)	3,9 (2,5-6,7)	<0,0001
0	4	6,2 (5,5-138,5)	5,5 (2,1-14,5)	0,88	100	7,1(3,6-11,3)	3,6 (2,5-6,7)	<0,0001
1	54	7,9 (4,3-12,5)	4,1 (2,4-7,6)	0,001	162	6,1(3,2-10,4)	5,4 (2,1-8,6)	0,001

EF-1: <5% Verschlechterung von der 1. zur 2. Biopsie; EF 0: unverändert; EF 1: >5% besser

Von den Patienten mit anfangs schlechter Pumpfunktion verschlechtern sich also offenbar diejenigen mit starker Entzündung zu Beginn, obwohl die Entzündung im Verlauf verschwindet. Die Patienten mit nur mäßiger Entzündung bessern sich hingegen im Verlauf, und die Patienten ohne wesentliche Entzündung bleiben bezüglich ihrer Pumpfunktion unverändert. Bei den Patienten mit anfangs besserer Pumpfunktion kann man einen solch eindeutigen Zusammenhang mit der myokardialen Entzündung jedoch nicht beobachten.

Die Bedeutung des CD8/ICAM-Scores wird auch in folgendem Zusammenhang noch einmal ersichtlich: nur einer von 16 Patienten mit EF.1 <30% und negativem Score verschlechtert sich um >5%; die EF der übrigen 15 Patienten verbessert sich um >5%. Bei positivem Score hingegen (und EF.1 <30%) wird die Pumpfunktion von 25% (n=6) der 24 Patienten nicht besser.

3.2.11 Verlauf bei ausgeprägter Entzündung in der 1. Biopsie

Nach den bisherigen Ergebnissen kann man vermuten, dass sich die Pumpfunktion von Patienten mit mäßiger Entzündung im Verlauf verbessert, dass sich jedoch diejenigen mit starker Entzündung nicht ändern oder sogar schlechter werden.

Daher soll nun die Gruppe der Patienten mit starker Entzündung (z.B. >15 oder 20 CD3-Zellen/mm²) untersucht werden.

Dabei zeigt sich, dass 60 Patienten (11%) in der 1. Biopsie >15 Zellen/mm² haben; ihre EF beträgt im Durchschnitt 48,6% (versus 49,2% bei >9 Zellen) und steigt bei der 2. Biopsie auf 53,7%. Das bedeutet keine Verschlechterung im Vergleich zu den Patienten mit >9 Zellen/mm² (Tabelle 62).

Im Gegensatz dazu ist die Pumpfunktion der Patienten mit anfangs >20 Zellen/mm² deutlich schlechter (EF 41,2%), und obwohl auch sie sich verbessert, bleibt sie weiterhin stärker eingeschränkt.

Tabelle 61 Verlauf der Pumpfunktion bei verschiedenen CD3-Grenzwerten in der 1. Biopsie

	n	EF 1	EF 2
CD3.1 <9 Z/mm ²	356	53,3% (±17,6)	54,9% (±16,7)
CD3.1 >9	171	49,2% (±19,8)	53,9% (±18,6)
CD3.1 >15	60	48,6% (±20,6)	53,7% (±19,8)
CD3.1 >20	34	41,2% (±20,0)	48% (±20,8)

Eine stärkere Entzündung in der 1. Biopsie bedeutet jedoch offenbar dennoch nicht, dass sich die Pumpfunktion im Verlauf häufiger verschlechtert (Tabelle 62). (Statistische Angaben zu p der Differenzen wurden wegen kleiner Fallzahlen nicht gemacht).

Tabelle 62 Vergleich der Änderung der Pumpfunktion bei Zellzahl <9, >9, >15, >20 Zellen in der 1. Biopsie; n (%)

	EF 1 <45%			EF 1 >45%		
	-1	0	1	-1	0	1
<9 Zellen	24 (22%)	10 (9%)	73 (68%)	98 (40%)	63 (26%)	83 (34%)
>9 Zellen	16 (24%)	5 (7%)	47 (69%)	32 (32%)	33 (33%)	35 (35%)
>15 Zellen	7 (29%)	1 (4%)	16 (67%)	9 (26%)	14 (40%)	12 (34%)
>20 Zellen	5 (27%)	1 (6%)	12 (67%)	2 (13%)	7(47%)	6 (40%)

EF-Änderung: -1: Verschlechterung >5%, 0: keine Änderung, 1: Verbesserung >5%

In der 2. Biopsie sinken die Zellzahlen sehr deutlich ab (Tabelle 63), in der Untergruppe mit anfänglich >20 CD3-Zellen/mm² sinkt die Zellzahl von im Median 29,3 Zellen auf 9,3 Zellen, ist damit allerdings durchschnittlich noch erhöht.

Tabelle 63 Verlauf der myokardialen Entzündung bei unterschiedlicher Höhe von CD3 in der 1. Biopsie

	n	CD3.1	CD3.2
CD3.1 <9	356	4,5 (2,9-6,8)	3,6 (1,9-6,8)
CD3.1 >9	171	13,2 (10,4-17,4)	5,7 (3,2-9,9)
CD3.1 >15	60	22,1 (16,5-29,9)	7,7 (3,5-13,8)
CD3.1 >20	34	29,3 (23,4-41,0)	9,3 (3,6-13,2)

3.2.12 Zusammenfassung der Immunhistologie bezüglich der Pumpfunktion

1. Patienten mit deutlicher myokardialer Entzündung in der 1. Biopsie (>9 CD3-pos. T-Zellen/mm²) haben durchschnittlich eine um ca. 5% niedrigere EF als Patienten mit < 9 CD3-pos. T-Zellen/mm².
2. Im Verlauf bessert sich durchschnittlich die Pumpfunktion der Patienten mit Entzündung und nähert sich der LV-Funktion der Patienten ohne Entzündung an.
3. Eine auf >5 Zellen/mm² erhöhte CD8-Zellzahl und/oder eine interstitielle ICAM-Expressionsverstärkung auf mindestens Grad 1,5 in der 1. Biopsie („positiver CD8/ICAM-

Score“) geht bei 39% der Patienten mit einer deutlich schlechteren Pumpfunktion zum Zeitpunkt der 2. invasiven Untersuchung einher.

4. Bei vielen Patienten heilt in der 2. Biopsie die Entzündung aus, jedoch lässt sich bei 28% der Patienten eine Persistenz von >9 CD3-Zellen bzw. bei 58% der Patienten ein persistierend positiver CD8/ICAM-Score nachweisen; diese Entzündungspersistenz scheint allerdings die Pumpfunktion nicht (unmittelbar) nachteilig zu beeinflussen.

5. Patienten mit Anfangs-EF <30%, die sich im Verlauf verschlechtern, haben die am stärksten ausgeprägte Entzündung in der 1. Biopsie, die sich in der 2. Biopsie wieder zurückbildet.

6. Patienten mit sehr starker Entzündung (>20 CD3-Zellen/mm²) in der 1. Biopsie haben anfangs eine schlechtere Pumpfunktion als die Patienten mit mäßiger Entzündung; diese bessert sich im Verlauf, erreicht aber nicht mehr normale Werte bzw. die EF der Patienten mit nur mittelgradiger Entzündung.

7. Somit kann insgesamt eine negative Assoziation einer myokardialen Entzündung mit der Pumpfunktion zum Zeitpunkt der 1. invasiven Diagnostik nachgewiesen werden; insbesondere eine Erhöhung von CD8 und ICAM in der 1. Biopsie korreliert auch mit einer schlechteren Pumpfunktion im weiteren Verlauf. Jedoch lässt sich – zumindest im untersuchten Zeitraum – keine negative Auswirkung einer persistierenden myokardialen Entzündung auf die LV-Funktion zeigen.

3.2.13 Virusinfektion und LV-Funktion im Verlauf

Im Vergleich der Virusinfektion bei der 1. und der 2. Biopsie zeigt sich im Verlauf eine geringere Zahl viruspositiver Patienten; vor allem die Zahl der Enterovirus-positiven Patienten nimmt ab, während es bei PVB19-positiven und bei HHV6-positiven Patienten in der 2. Biopsie nicht zu einer spontanen Elimination des Virus kommt (Tabelle 64):

Tabelle 64 Virusverteilung 1. und 2. Biopsie, n= 375 (1. Biopsie) bzw. 358 (2. Biopsie)

Virusart	Patientenzahl 1. Biopsie	Patientenzahl 2. Biopsie
Enterovirus-positiv	59 (16%)	26 (7%)
Adenovirus-positiv	13 (3%)	7(2%)
Parvovirus-B19	92(25%)	127(35%)
Humanes Herpes-Virus-6	18 (5%)	13 (4%)
Entero- und PVB19	4 (1%)	1 (0,3%)
PVB19 und HHV6	30 (8%)	21 (6%)
Keine Virusinfektion	138 (37%)	153 (43%)

Der Rest von 17 Patienten hat Doppel-oder Mehrfachinfektionen in unterschiedlicher Kombination; die Gruppen umfassen allerdings jeweils weniger als 5 Patienten und sind daher hier nicht mehr aufgeführt.

3.2.13.1 Entwicklung der EF bezüglich Virusstatus

Bei Betrachtung der durchschnittlichen EF zum Zeitpunkt der 1. und der 2. Biopsie fällt auf, dass sich – wie im Gesamtkollektiv – alle Patienten mit Virusinfektion verbessern, und zwar um durchschnittlich 1-5% (Tabelle 65). Signifikant ist dies nur für PVB19.

Tabelle 65 Verlauf der EF bei in der 1. Biopsie viruspositiven und -negativen Patienten, n=356

Virusart	n	EF 1. Biopsie	EF 2. Biopsie	p
Kein Virus	138	53,1 (±18,7)	54,9 (±20,1)	0,10
Enterovirus	59	51,3 (±18,8)	53,3 (±16,9)	0,15
Adenovirus	13	50,2 (±13,1)	51,2 (±15,2)	0,63
ParvovirusB19	92	51,9 (±19,9)	57,3 (±16,1)	0,0004
HHV6	18	49,2 (±18,7)	50,4 (±17,4)	0,68
Entero+PVB19	6	58,3 (±14,2)	62,0 (±16,5)	0,47
PVB19+HHV6	30	55,9 (±17,6)	58,1 (±16,7)	0,30

Die Patienten mit der schlechtesten Pumpfunktion unter den viruspositiven sind die mit Adenovirus und HHV6, die mit der besten Pumpfunktion sind die mit Parvovirus allein oder in verschiedenen Kombinationen. Ein statistisch signifikanter Unterschied der EF zum Zeitpunkt der 2. Untersuchung kann für die einzelnen Viren nicht nachgewiesen werden.

3.2.14 Einfluss einer Viruspersistenz in der 2. Biopsie auf die LV-Funktion

Nun stellt sich natürlich die Frage, ob die Patienten, bei denen in der 2. Biopsie noch Virus nachweisbar ist, eine schlechtere Pumpfunktion haben als diejenigen, bei denen es eliminiert wurde.

Statistisch eindeutig und klinisch relevant ist dies nur für Adenovirus nachzuweisen; bei einer Persistenz wird die LVF durchschnittlich schlechter. Alle anderen Viren führen offenbar trotz Persistenz durchschnittlich nicht zu einer Verschlechterung der Pumpfunktion; es fällt aber auf, dass die Patienten mit HHV6-Persistenz eine deutlich schlechtere Pumpfunktion bei der 2. Biopsie haben als die Patienten, bei denen das Virus eliminiert wird (Tabelle 66).

Bei 18 Patienten lässt sich in der 2. Biopsie erstmals PVB19 nachweisen, bei 5 Patienten in der 2. Biopsie erstmals HHV6, und 5 Patienten mit PVB19 in der 1. Biopsie haben zusätzlich in der 2. Biopsie HHV6 (wahrscheinlicher als eine Neuinfektion ist ein „sampling error“ der 1. Biopsie); PVB19 wird nur bei 11 von 114 Patienten spontan eliminiert.

Tabelle 66 Virusstatus im Verlauf in Verbindung mit der EF im Verlauf

1. Biopsie	2. Biopsie	n	EF 1. Biopsie	EF 2. Biopsie	p
Kein Virus	Kein Virus	73	51,7% ($\pm 17,8$)	54% ($\pm 17,7$)	0,10
Kein Virus	PVB19	18	47,6% ($\pm 17,8$)	53,9% ($\pm 19,6$)	0,13
Kein Virus	HHV6	5	71,6% ($\pm 7,9$)	71% ($\pm 8,0$)	0,77
Entero	Kein Virus	21	50,3% ($\pm 20,4$)	52,1% ($\pm 19,2$)	0,32
Entero	Entero	21	53,0% ($\pm 16,9$)	54,2% ($\pm 12,6$)	0,67
Adeno	Kein Virus	5	47,5% ($\pm 14,7$)	51,6% ($\pm 12,7$)	0,20
Adeno	Adeno	5	48,6% ($\pm 14,9$)	43,2% ($\pm 17,3$)	0,06
PVB19	Kein Virus	11	57,1% ($\pm 16,3$)	61,5% ($\pm 17,6$)	0,19
PVB19	PVB19	68	48,8% ($\pm 19,3$)	56,0% ($\pm 15,5$)	0,0001
PVB19	PVB19+HHV6	5	54,4% ($\pm 30,6$)	54,6% ($\pm 20,2$)	0,97
HHV6	Kein Virus	4	49,0% ($\pm 10,3$)	59,3% ($\pm 10,8$)	0,25
HHV6	HHV6	6	45,2% ($\pm 19,8$)	48,2% ($\pm 14,2$)	0,66
Entero+PVB19	PVB19	4	58% ($\pm 15,9$)	60,3% ($\pm 9,8$)	0,78
Entero+HHV6	Kein Virus	4	49% ($\pm 10,6$)	55,5% ($\pm 14,8$)	0,08
PVB19+HHV6	PVB19	19	57,7% ($\pm 18,2$)	59,9% ($\pm 16,9$)	0,36
PVB19+HHV6	PVB19+HHV6	7	58,4% ($\pm 14,4$)	59,3% ($\pm 12,8$)	0,89

3.2.15 Immunhistologie im Verlauf bei viruspositiven und –negativen Patienten

Die Entwicklung der myokardialen Entzündung ist für die verschiedenen Viren unterschiedlich, weswegen sie in getrennten Tabellen beschrieben wird.

Da es nur 6 Patienten mit der Kombination „Enterovirus und PVB19“ gibt und deren Daten nicht vollständig sind, ist eine statistische Auswertung nicht sinnvoll, und diese Gruppe wird hier nicht mehr berücksichtigt.

In der Tabelle 67 wird die Entwicklung der myokardialen Lymphozyteninfiltration bei Nachweis von Enteroviren in der 1. Biopsie gezeigt:

Tabelle 67 Immunhistologie im Verlauf bei Enterovirus-positiven Patienten, n=56

Marker (Median/25-75%Quartile)	1. Biopsie Zellzahl/mm ²	2. Biopsie Zellzahl/mm ²	p
CD2	6,2 (2,9-11,5)	3,6 (2,1-6,4)	0,008
CD3	7,1 (3,2-9,6)	3,9 (2,5-6,4)	0,02
CD4	2,9 (1,1-4,8)	1,8 (0,7-4,3)	0,13
CD8	2,9 (1,1-5,0)	2,1 (0,9-3,0)	0,42
CD45R0	2,9 (1,1-6,3)	2,1 (1,1-3,7)	0,48
Ma102	4,3 (2,9-7,2)	3,6 (2,1-5,4)	0,002
HLA I Gef.	1,5 (±0,52)	1,5 (±0,48)	0,84
HLA I Int.	1,4 (±0,44)	1,3 (±0,48)	0,59
HLA DR Gef.	1,5 (±0,49)	1,4 (±0,45)	0,26
HLA DR Int.	1,4 (±0,48)	1,2 (±0,49)	0,03
ICAM Gef.	1,4 (±0,41)	1,4 (±0,43)	0,78
ICAM Int.	1,2 (±0,31)	1,2 (±0,39)	0,63

Die Zellzahlen sind hier durchschnittlich leicht erhöht; sie sinken im Verlauf deutlich. HLA ist insgesamt leicht erhöht ohne Änderung im Verlauf.

Tabelle 68 zeigt den Verlauf der myokardialen Entzündung bei Adenoviren in der 1. Biopsie:

Tabelle 68 Immunhistologie im Verlauf bei Adenovirus-positiven Patienten, n=13

Marker (Median/25-75%Quartile)	1. Biopsie Zellzahl/mm ²	2. Biopsie Zellzahl/mm ²	p
CD2	6,1 (2,3-9,1)	4,6 (2,7-7,9)	0,33
CD3	6,8 (2,5-9,3)	3,9 (3,0-8,2)	0,27
CD4	2,9 (1,2-7,0)	1,4 (1,1-3,4)	0,13
CD8	2,9 (1,1-5,7)	1,8 (1,1-3,9)	0,33
CD45R0	2,5 (0,9-4,3)	1,6 (1,1-4,8)	0,69
Ma102	3,2 (1,6-6,4)	2,1 (1,1-3,7)	0,27
HLA I Gef.	1,7 (±0,61)	1,6 (±0,56)	0,67
HLA I Int.	1,3 (±0,59)	1,2 (±0,31)	0,19
HLA DR Gef.	1,4 (±0,49)	1,2 (±0,39)	0,25
HLA DR Int.	1,3 (±0,60)	1,1 (±0,28)	0,25
ICAM Gef.	1,4 (±0,41)	1,3 (±0,43)	0,31
ICAM Int.	1,1 (±0,29)	1,0 (±0,28)	0,34

Bei den Adenovirus-positiven Patienten sind die Lymphozytenzahlen leicht erhöht, ebenso wie die HLA-Expression. Im Verlauf sinken die Lymphozytenzahlen etwas, während die HLA-Expression etwa unverändert bleibt.

Tabelle 69 zeigt die Immunhistologie im Verlauf bei Nachweis von ParvovirusB19 in der 1. Biopsie:

Tabelle 69 Immunhistologie im Verlauf bei Parvovirus-positiven Patienten, n=92

Marker (Median/25-75%Quartile)	1. Biopsie Zellzahl/mm ²	2. Biopsie Zellzahl/mm ²	p
CD2	3,6 (1,4-7,9)	2,3 (1,1-5,3)	<0,0001
CD3	6,8 (2,5-9,3)	5,3 (2,1-9,7)	0,01
CD4	1,8 (0,4-3,9)	1,1 (0,4-2,1)	0,003
CD8	1,4 (0,4-3,6)	1,1 (0,1-2,5)	0,001
CD45R0	6,3 (2,5-14,7)	3,6 (2,1-13,7)	0,02
Ma102	2,9 (1,8-4,3)	3,2 (1,8-5,7)	0,47
HLA I Gef.	1,6 (±0,49)	1,5 (±0,47)	0,52
HLA I Int.	1,2 (±0,33)	1,2 (±0,34)	0,40
HLA DR Gef.	1,4 (±0,41)	1,2 (±0,42)	0,15
HLA DR Int.	1,0 (±0,28)	1,0 (±0,26)	0,87
ICAM Gef.	1,3 (±0,48)	1,2 (±0,47)	0,26
ICAM Int.	1,1 (±0,40)	1,0 (±0,34)	0,09

Hier sieht man eine ebenfalls leicht erhöhte T-Zellzahl, vor allem CD45R0 ist anfangs erhöht. Die HLA-Expression ist leicht bis mäßig verstärkt und verändert sich im Verlauf nur wenig. Auffällig ist ein deutlicher Unterschied zwischen CD2 und CD3.

Tabelle 70 zeigt den immunhistologischen Verlauf bei HHV6-Nachweis in der 1. Biopsie:

Tabelle 70 Immunhistologie im Verlauf bei HHV6-positiven Patienten, n=14

Marker (Median/25-75%Quartile)	1. Biopsie Zellzahl/mm ²	2. Biopsie Zellzahl/mm ²	p
CD2	3,9 (1,8-6,1)	3,6 (1,8-4,6)	0,50
CD3	3,0 (2,1-10,6)	5,9 (2,1-8,2)	0,92
CD4	1,1 (1,1-2,5)	1,8 (0,7-4,3)	0,88
CD8	1,1 (0,4-2,5)	1,1 (0,7-2,5)	0,79
CD45R0	3,7 (1,6-5,4)	3,7 (1,7-6,0)	0,77
Ma102	5,0 (3,5-6,6)	3,0 (1,7-6,2)	0,12
HLA I Gef.	1,5 (±0,39)	1,6 (±0,39)	0,53
HLA I Int.	1,1 (±0,18)	1,3 (±0,41)	0,34
HLA DR Gef.	1,3 (±0,32)	1,5 (±0,39)	0,35
HLA DR Int.	1,0 (±0)	1,0 (±0,15)	0,50
ICAM Gef.	1,3 (±0,37)	1,2 (±0,47)	0,79
ICAM Int.	1,0 (±0,13)	1,0 (±0,15)	0,98

In dieser sehr kleinen Gruppe scheint Entzündung keine Rolle zu spielen – weder Lymphozyten noch HLA-Expression sind erhöht.

Tabelle 71 zeigt die Immunhistologie bei PVB19 + HHV6 in der 1. Biopsie:

Tabelle 71 Immunhistologie im Verlauf bei Parvovirus- und HHV6-positiven Patienten, n=30

Marker (Median/25-75%Quartile)	1. Biopsie Zellzahl/mm ²	2. Biopsie Zellzahl/mm ²	p
CD2	3,2 (2,1-5,7)	2,5 (1,1-4,8)	0,52
CD3	5,0 (2,4-8,6)	3,2 (1,1-7,8)	0,29
CD4	1,4 (1,1-2,9)	0,4 (0-1,1)	0,01
CD8	0,9 (0-2,3)	0,7 (0-1,6)	0,28
CD45R0	3,9 (1,8-7,8)	3,0 (2,0-5,1)	0,12
Ma102	2,9 (1,4-4,5)	2,7 (1,8-5,3)	0,07
HLA I Gef.	1,8 (±0,54)	1,5 (±0,43)	0,16
HLA I Int.	1,2 (±0,36)	1,1 (±0,19)	0,38
HLA DR Gef.	1,5 (±0,41)	1,3 (±0,31)	0,40
HLA DR Int.	1,0 (±0,10)	1,0 (±0)	0,97
ICAM Gef.	1,5 (±0,45)	1,3 (±0,52)	0,18
ICAM Int.	1,0 (±0,15)	1,0 (±0,19)	0,89

In dieser Gruppe mit Doppelinfektion mit PVB19 und HHV6 sind ähnlich wie in der Gruppe mit alleiniger HHV6-Infektion die Zellzahlen nicht erhöht. Die HLA-Expression in der 1. Biopsie ist teils deutlich erhöht, sinkt im Verlauf jedoch ab.

Tabelle 72 zeigt den immunhistologischen Verlauf virusnegativer Patienten:

Tabelle 72 Immunhistologie im Verlauf bei Virus-negativen Patienten, n=132

Marker (Median/25-75%Quartile)	1. Biopsie Zellzahl/mm ²	2. Biopsie Zellzahl/mm ²	p
CD2	6,1 (3,9-9,6)	4,3 (2,5-7,1)	<0,0001
CD3	7,1 (4,2-11,6)	4,6 (2,9-8,1)	<0,0001
CD4	3,6 (2,1-5,5)	2,9 (1,2-5,0)	<0,0001
CD8	2,9 (1,4-5,0)	2,1 (0,7-3,9)	<0,0001
CD45R0	4,3 (2,5-7,6)	3,2 (1,4-5,4)	0,002
Ma102	3,6 (2,1-6,4)	3,6 (2,5-5,6)	0,19
HLA I Gef.	1,7 (±0,44)	1,7 (±0,43)	0,17
HLA I Int.	1,4 (±0,44)	1,4 (±0,41)	0,60
HLA DR Gef.	1,5 (±0,43)	1,4 (±0,42)	0,006
HLA DR Int.	1,2 (±0,40)	1,2 (±0,32)	0,17
ICAM Gef.	1,5 (±0,41)	1,4 (±0,47)	0,01
ICAM Int.	1,2 (±0,32)	1,2 (±0,30)	0,59

Diese virus-negative Patienten haben mäßig erhöhte Zellzahlen in der 1. Biopsie und sich normalisierende Zellzahlen in der 2. Biopsie.

Die Verteilung myokardialer Entzündung in der 1. und 2. Biopsie sieht folgendermaßen aus (Tabelle 73):

Tabelle 73 Häufigkeit einer myokardialen Entzündung in % (>9 CD3-Zellen/mm² bzw. pos. CD8/ICAM-Score) in der 1. und 2. Biopsie in Abhängigkeit der Virusinfektion in der 1. Bx

	> 9 CD3 Z/mm ² 1. Bx	> 9 CD3 Z/mm ² 2. Bx	Pos. ICAM-Score, 1. Bx	Pos. ICAM-Score, 2. Bx
Kein Virus	n=52, 38%	n=27, 20%	n=40, 48%	n=44, 59%
Enterovirus	n=19, 32%	n=10, 18%	n=21, 25%	n=14, 19%
Adenovirus	n=3, 23%	n=2, 15%	n=4, 5%	n=2, 3%
PVB19	n=35, 38%	n=23, 27%	n=11, 13%	n=7, 9%
HHV6	n=5, 28%	n=2, 14%	n=1, 1%	n=0
PVB19+HHV6	n=6, 20%	n=3, 14%	n=2, 2%	n=1, 1%

Positiver ICAM/CD8-Score: >5 CD8-Zellen und/oder ICAM int. >1,0

Man erkennt, dass Patienten mit Parvovirus-Nachweis ebenso häufig eine deutliche CD3-Infiltration haben wie Patienten ohne Virusnachweis, Patienten mit den anderen Viren hingegen etwas seltener. Ein positiver ICAM/CD8-Score ist bei Virusinfektion des Myokards viel seltener nachzuweisen.

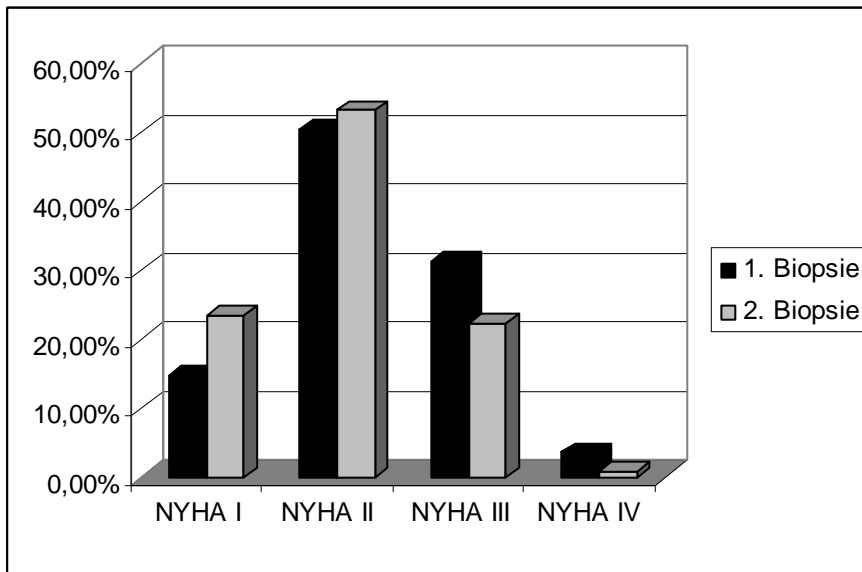
3.2.16 NYHA im Verlauf

Bereits im Gesamtkollektiv zeigt sich eine Besserung der Belastbarkeit anhand der NYHA-Klassifikation. Die meisten Patienten bleiben im Verlauf zwar in der Klasse, in die sie auch am Anfang eingestuft worden waren; wenn sich jedoch eine Änderung ergibt, dann häufiger zur besseren als zur schlechteren Klasse (Abbildung 20).

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang der NYHA-Klasse mit dem Nachweis einer myokardialen Entzündung in der 1. Biopsie oder 2. Biopsie konnte weder für CD3 >9 Zellen noch für einen positiven CD8/ICAM-Score nachgewiesen werden; ebenso wenig bestand ein Unterschied zwischen Männern und Frauen (Daten nicht gezeigt).

Abbildung 20

Verlauf NYHA-Klasse (unabhängig von der Ausgangs-EF), $p < 0,0001$; $n = 292$

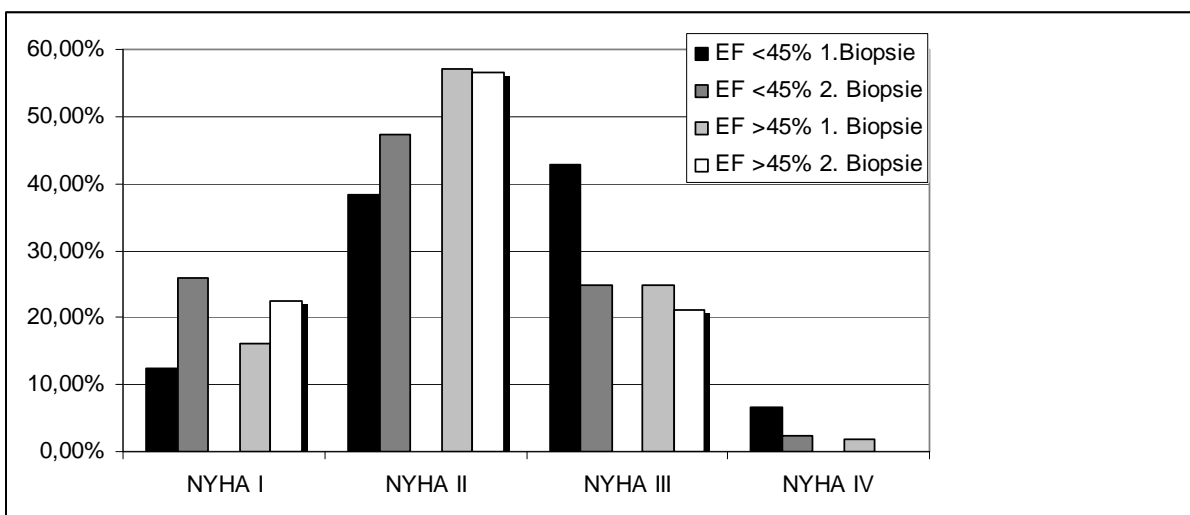


Da sich die Pumpfunktion in der schlechteren Gruppe bessert, stellt sich die Frage, ob dies auch klinisch zum Vorschein kommt (Abbildung 21). Als „NYHA IV“ wird niemand mehr eingestuft. Statistisch nicht ganz korrekt ausgedrückt, sinkt in der Gruppe mit $EF < 45\%$ die durchschnittliche NYHA-Klasse von 2,4 auf 2,0.

Auch die durchschnittliche NYHA-Klasse in der Gruppe mit der anfangs besseren Pumpfunktion wird niedriger; dieser Unterschied ist jedoch naturgemäß schwächer ausgeprägt. Die meisten Patienten bleiben in der Gruppe, in der sie anfangs waren; die „durchschnittliche“ NYHA-Klasse sinkt von 2,1 auf 2,0.

Abbildung 21

Verlauf NYHA-Klasse (Ausgangs-EF $\leq / > 45\%$), $EF < 45\%$: $p < 0,0001$, $n = 86$; $EF > 45\%$: $p = 0,002$, $n = 206$



3.2.17 Angina pectoris im Verlauf

Von den 104 Patienten, die am Anfang über atypische Angina pectoris klagten, haben nur 55 (53%) auch im Verlauf noch Beschwerden. Von 178 Patienten ohne Beschwerden am Anfang berichten nur 16 (9%) über Angina im Verlauf (Tabelle 74).

Die Abnahme der Häufigkeit ist statistisch hochsignifikant ($p < 0,0001$).

Bei der belastungsabhängigen Angina pectoris zeigt sich ein ähnliches Bild (Tabelle 74). Von den 182 Patienten, die am Anfang keine A.p. hatten, berichten nur 13 (7%) über ein Neuauf-treten. Hingegen verspürten von den 61 Patienten mit anfänglichen Beschwerden nur noch 35 Patienten (57%) im Verlauf über thorakale Schmerzen ($p < 0,0001$).

Ein statistisch signifikanter Zusammenhang mit der Höhe von CD3 in der 1. oder 2. Biopsie bzw. mit Entzündung (>9 Zellen/mm² oder mit positivem CD8/ICAM-Score) in der 1. oder 2. Biopsie konnte nicht gezeigt werden, obgleich sich auch hier ein Trend zu weniger pektangi-nösen Beschwerden bei stärkerer Entzündung abzeichnete (Daten nicht gezeigt).

Tabelle 74 Atypische und Belastungs-Angina pectoris im zeitlichen Verlauf

	Keine Ruhe-A.p. zu Beginn	Ruhe-A.p. zu Beginn	Keine Bel.-A.p. zu Beginn	Bel.-A.p. zu Beginn
Keine A.p. im Verlauf	n=162 (91%)	n=49 (47%)	n=169 (93%)	n=26 (43%)
A.p. im Verlauf	n=16 (9%)	n=55 (53%)	n=13 (7%)	n=35 (57%)

p Diff. atyp.A.p.: $<0,0001$; p Diff. Belastungs-A.p.: $<0,0001$

3.2.18 Herzrhythmusstörungen und EKG-Befunde im Verlauf

Die Häufigkeit des Auftretens von Herzrhythmusstörungen insgesamt nimmt signifikant ($p=0,0007$) von 42% auf 34% ab (Sinustachykardie, SVES, VES, AV-Blockierungen, abs. Arrhythmie).

EKG-Veränderungen wie ST-Hebungen (deutlich, von 10% auf 3,7%) und T-Negativierungen (schwach; von 42% auf 36%) nehmen signifikant ab, wohingegen ST-Streckensenkungen und Linksschenkelblockierungen leicht, aber statistisch signifikant zu-nehmen. Die Herzfrequenz ändert sich nicht.

Zwar lässt sich für Herzrhythmusstörungen insgesamt zum Zeitpunkt der 2. invasiven Untersuchung ein Trend zum häufigeren Auftreten bei Entzündungsnachweis in der 1. Biopsie und in der 2. Biopsie zeigen; eine statistische Signifikanz besteht jedoch nicht:

33% der Patienten ohne Entzündung haben Herzrhythmusstörungen versus 43% mit Entzündung (>9 Zellen/mm²) in der 1. Biopsie; p=0,26; 35% der Patienten ohne Entzündung haben Rhythmusstörungen versus 43% mit Entzündung in der 2. Biopsie; p=0,22.

Im Einzelnen verändern sich die Häufigkeiten von Rhythmusstörungen wie folgt (Tabelle 75):

Tabelle 75 Herzrhythmusstörungen und EKG-Befunde im Verlauf

	n	Zeitpunkt 1.Unters.	Zeitpunkt 2. Unters.	p Differenz
Sinustachykardie	282	6%	1,5%	0,001
SVES	235	7,7%	6,0%	0,0019
VES	232	16,8%	16,0%	<0,0001
ST-Hebung	191	10%	3,7%	0,15
ST-Senkung	148	14,2%	16,9%	<0,0001
Synkopen	284	11,6%	9,5%	<0,0001
T-Negativierung	196	42%	36%	<0,0001
AV-Block (ges.)	277	8%	4%	<0,0001
LSB	276	15%	17%	<0,0001
Abs. Arr.	296	18%	15,5%	<0,0001
Herzfrequenz	68	74 Schl./min	75 Schl./min	0,65

3.3 Ergebnisse zum Zeitpunkt der 3. invasiven Diagnostik

Im weiteren Verlauf sind einige Patienten noch ein – oder mehrmals biopsiert worden. Die Ergebnisse sollen hier zusammengefasst werden.

Man kann diese Patienten nicht als typisch für den Spontanverlauf von Herzmuskelerkrankungen betrachten, da überwiegend die Patienten ein drittes (oder weiteres Mal) biopsiert wurden, deren Beschwerden oder myokardiale Entzündung in den vorangegangenen Biopsien ausgeprägt waren, deren Pumpfunktion sich verschlechtert hatte oder die eine immunsuppressive oder immunmodulierende Therapie erhielten.

157 Patienten wurden ein drittes Mal biopsiert; von diesen waren zwischen der 2. und der 3. Biopsie 60 (38%) immunsuppressiv (mit Cortison und ggf. Imurek) oder mit Interferon wegen

Viruspersistenz behandelt worden (die Ergebnisse dieser Therapien sind nicht Thema dieser Arbeit). Von 78 der 97 nicht-immunmodulierend behandelten Patienten gibt es im Verlauf dreimal katheterangiografisch bestimmte EF-Werte, von 73 Patienten eine immunhistologische Auswertung zu allen 3 Zeitpunkten der invasiven Diagnostik.

Der Abstand der 3. zur 2. Biopsie ist durchschnittlich größer als von der 2. zur 1. Biopsie; er beträgt ca. 15 Monate (Alter der Patienten zur 3. Biopsie 47,7 Jahre).

Die Auswurfleistung dieser Patienten ändert sich im Verlauf nicht mehr wesentlich; die Pumpfunktion der Patienten ohne Immunsuppression ist besser als die der therapierten Patienten; die EF zur Zeit der 1. Biopsie beträgt 54,6%, zur 2. Biopsie 58,7 %, zur 3. Biopsie 56,4% (p=0,17).

3.3.1 Verlauf der Pumpfunktion bei anfänglicher EF \leq 45%

Teilt man die Patienten wiederum in 2 Gruppen mit EF \leq 45% (zum Zeitpunkt der 1. Biopsie) auf, so zeigt sich, dass die Patienten mit anfangs eingeschränkter Pumpfunktion sich im Verlauf zunächst verbessern, dann aber wieder verschlechtern (statistisch nicht signifikant).

Im Gegensatz dazu verändert sich die Pumpfunktion der Patienten mit EF $>$ 45% zur 1. Biopsie nicht (Tabelle 76).

Tabelle 76 Verlauf der LVF bei EF \leq 45% (1. Biopsie), n=78

	n	EF 1. Biopsie	EF 2. Biopsie	EF 3. Biopsie	p Diff. 2./3.Biopsie
EF \leq 45%	16	33,4%	47,0%	42,3%	0,24
EF $>$ 45%	62	63,2%	63,8%	63,3%	0,67

Aufgeschlüsselt nach „Änderung im Verlauf“ zeigt sich, dass sich in der Gruppe mit EF \leq 45% drei Patienten um $>$ 5% zwischen 2. und 3. Biopsie verschlechtern, ein Patient bleibt gleich (EF 42%), und 12 Patienten verbessern sich (Anstieg der EF von 36% auf 47%).

In der Gruppe mit EF $>$ 45% verschlechtern sich 19 Patienten (von 70% EF auf 66%); 18 Patienten bleiben gleich (EF 65%), und 18 Patienten verbessern sich (von 57 auf 65%).

3.3.2 Immunhistologie

Im Gesamtkollektiv (ohne immunsupprimierte Patienten) sinken im Verlauf alle immunhistologischen Marker noch weiter ab; überwiegend auch mit statistischer Signifikanz. Wo keine Signifikanz besteht, ist zumindest der Unterschied zwischen 1. und 3. Biopsie signifikant (außer dem Makrophagen-Marker und CD 45R0), (Tabelle 77).

Tabelle 77 Verlauf Immunhistologie 1., 2. und 3. Biopsie, n=73

	1. Biopsie	2. Biopsie	3. Biopsie	p Diff. 2./3. Bx.
CD2(Zellen/mm ²)	6,1 (3,6-10,7)	3,6 (2,1-7,8)	2,9 (1,6-4,8)	0,001
CD3(Zellen/mm ²)	7,1 (4,1-11,8)	3,9 (2,5-8,9)	3,3 (1,4-6,2)	0,001
CD4(Zellen/mm ²)	3,6 (1,1-6,2)	2,1 (1,1-4,3)	1,1 (0,4-3,1)	0,02
CD8(Zellen/mm ²)	2,7 (1,3-5,4)	2,0 (0,8-3,9)	1,2 (0-2,9)	<0,0001
CD45R0(Zellen/mm ²)	3,6 (2,1-7,1)	2,9 (1,4-5,0)	2,5 (1,4-5,4)	0,28
Ma102(Zellen/mm ²)	3,7 (2,1-6,5)	3,6 (2,1-6,3)	2,3 (1,1-4,6)	0,07
HLA I Gef. (Grad;mean)	1,6 (±0,49)	1,6 (±0,52)	1,4 (±0,49)	0,29
HLA I Int. (Grad;mean)	1,5 (±0,49)	1,4 (±0,44)	1,3 (±0,44)	0,11
HLADR Gef. (Grad;mean)	1,5 (±0,45)	1,4 (±0,42)	1,3 (±0,44)	0,18
HLA DRInt. (Grad;mean)	1,3 (±0,43)	1,3 (±0,42)	1,2 (±0,43)	0,15
ICAM Gef. (Grad;mean)	1,5 (±0,42)	1,4 (±0,44)	1,3 (±0,46)	0,16
ICAM Int. (Grad;mean)	1,2 (±0,34)	1,2 (±0,37)	1,1 (±0,39)	0,25

Bei den Biopsien der Patienten mit EF <45% zeigt sich ein weiterer Abfall der Zellzahlen (Tabelle 78).

Tabelle 78 Verlauf Immunhistologie 1., 2. und 3. Biopsie, EF 2. Biopsie <45%, n=16

	1. Biopsie	2. Biopsie	3. Biopsie	p Diff. 2./3. Bx
CD2(Zellen/mm ²)	9,6 (3,6-11,1)	6,1 (3,2-10,2)	2,1 (1,3-3,7)	0,005
CD3(Zellen/mm ²)	7,1 (4,6-11,8)	6,4 (3,2-13,6)	1,8 (0,7-5,7)	0,007
CD4(Zellen/mm ²)	5,4 (2,5-6,6)	3,2 (2,1-8,0)	1,2 (0-2,5)	0,01
CD8(Zellen/mm ²)	2,9 (1,2-5,2)	3,4 (1,1-7,9)	0,4 (0-2,8)	0,03
CD45R0(Zellen/mm ²)	3,9 (3,4-8,0)	4,1 (1,7-8,1)	2,5 (0,7-5,4)	0,19
Ma102(Zellen/mm ²)	3,9 (2,1-5,4)	5,4 (3,2-12,9)	2,5 (1,0-4,6)	0,06
HLA I Gef. (Grad;mean)	1,4 (±0,43)	1,7 (±0,50)	1,1 (±0,52)	0,54
HLA I Int. (Grad;mean)	1,5 (±0,45)	1,3 (±0,43)	1,1 (±0,32)	0,05
HLADR Gef. (Grad;mean)	1,4 (±0,42)	1,5 (±0,48)	1,0 (±0,43)	0,13
HLA DRInt. (Grad;mean)	1,6 (±0,43)	1,3 (±0,39)	1,0 (±0,39)	0,05
ICAM Gef. (Grad;mean)	1,3 (±0,32)	1,4 (±0,41)	1,0 (±0,45)	0,47
ICAM Int. (Grad;mean)	1,3 (±0,36)	1,3 (±0,28)	1,0 (±0,29)	0,5

Bei den Patienten mit besserer Pumpfunktion zeigt sich ebenfalls ein Abfall der Entzündungsmarker, der jedoch nur leicht ausgeprägt ist (Tabelle 79):

Tabelle 79 Verlauf Immunhistologie 1., 2. und 3. Biopsie, EF >45% 2. Biopsie, n=57

	1. Biopsie	2. Biopsie	3. Biopsie	p Diff. 2./3. Bx
CD2 (Zellen/mm ²)	5,9 (3,5-10,4)	3,6 (2,0-7,3)	2,9 (1,8-5,4)	0,03
CD3 (Zellen/mm ²)	7,3 (3,8-11,8)	3,6 (2,1-7,6)	3,6 (1,4-7,0)	0,28
CD4 (Zellen/mm ²)	2,9 (1,1-6,1)	1,8 (0,7-3,7)	1,1 (0,4-3,2)	0,03
CD8 (Zellen/mm ²)	2,5 (1,2-5,4)	1,4 (0,7-3,7)	1,4 (0-2,9)	0,008
CD45R0(Zellen/mm ²)	3,6 (1,8-7,1)	2,5 (1,4-4,6)	1,4 (0-2,9)	0,58
Ma102(Zellen/mm ²)	3,6 (2,1-6,8)	3,2 (1,8-5,7)	2,3 (1,1-4,6)	0,33
HLA I Gef. (Grad;mean)	1,6 (±0,53)	1,5 (±0,53)	1,5 (±0,48)	0,54
HLA I Int. (Grad;mean)	1,4 (±0,50)	1,4 (±0,45)	1,3 (±0,47)	0,57
HLADR Gef. (Grad;mean)	1,4 (±0,46)	1,3 (±0,39)	1,3 (±0,45)	0,64
HLA DR Int. (Grad;mean)	1,2 (±0,42)	1,3 (±0,43)	1,2 (±0,45)	0,57
ICAM Gef. (Grad;mean)	1,5 (±0,47)	1,4 (±0,46)	1,3 (±0,48)	0,32
ICAM Int. (Grad;mean)	1,2 (±0,33)	1,2 (±0,42)	1,1 (±0,42)	0,46

In der 3. Biopsie haben noch 10 Patienten (12%) >9 CD3-Lymphozyten/mm²; deren EF ist im Durchschnitt (61,4%) nicht schlechter als die der Patienten mit <9 Zellen (EF 56,4%).

3 Patienten haben in der 3. Biopsie >15 CD3-Lymphozyten/mm²; die EF beträgt 22%, 46% bzw. 71%, streut also sehr weit.

Was geschieht mit den Patienten (n=22), die in der 2. Biopsie noch eine deutliche Entzündung (CD3 >9 Zellen/mm²) gehabt hatten? Hier sinkt die Zellzahl ebenfalls deutlich und beträgt im Median 5,0 CD3-Zellen/mm². Die EF ist etwas niedriger als bei den 59 Patienten mit <9 CD3-Zellen in der 2. Biopsie (55,7% vs. 58,2%).

In der sehr kleinen Gruppe (n=7) von Patienten, bei denen in der 2. Biopsie >15 CD3-Zellen/mm² nachweisbar waren und ein drittes Mal biopsiert wurden, zeigt sich, dass die EF im Verlauf etwas schlechter wird (allerdings ohne statistische Signifikanz, p=0,63) und die durchschnittliche Zellzahl in der 3. Biopsie wieder abnimmt, mit 5,7 CD3-Zellen/mm² auf dem gleichen Niveau wie Patienten mit >9 Zellen (Tabelle 80).

Tabelle 80 Verlauf von CD3 und EF in der 1., 2. und 3. Biopsie bei Patienten mit ≤ 9 bzw. >15 CD3-Zellen in der 2. Biopsie

	CD3 ≤ 9 Z/mm ² (2. Biopsie), n=59	CD3 >9 Z/mm ² (2. Biopsie), n=22	CD3 >15 Z/mm ² (2. Biopsie), n=7
EF 1. Biopsie	53,4% ($\pm 17,8$)	50,9% ($\pm 16,0$)	54,8%
EF 2. Biopsie	59,0% ($\pm 16,0$)	54,3% ($\pm 17,0$)	57%
EF 3. Biopsie	58,2% ($\pm 16,7$)	55,7% ($\pm 16,5$)	52,5%
p Diff. 2./3. Bx	0,28	0,75	0,63
CD3 1. Biopsie	6,8 (3,2-10,5)	9,3 (5,9-15,0)	11,8 (9,3-15,7)
CD3 2. Biopsie	3,2 (2,1-5,7)	13,6 (10,9-18,7)	19,8 (18,2-62,5)
CD3 3. Biopsie	3,0 (1,2-6,3)	5,0 (3,6-8,3)	5,7 (5,0-14,3)
p Diff. 2./3. Bx	0,32	0,005	0,08

Welchen Einfluss hat ein positiver CD8/ICAM-Score auf die Pumpfunktion und die CD3-Zellzahl zum Zeitpunkt der 3. Biopsie? Darauf gibt Tabelle 81 Antwort:

Tabelle 81 Korrelation des CD8/ICAM-Scores in der 1. Biopsie mit EF und CD3 in der 1. – 3. Biopsie, n=71

	CD8/ICAM-Score negativ, n=41	CD8/ICAM-Score positiv, n=30	p
EF 1. Biopsie	56,3% ($\pm 15,0$)	49,1 ($\pm 18,3$)	0,02
EF 2. Biopsie	57,9% ($\pm 15,0$)	54,6 ($\pm 16,7$)	0,008
EF 3. Biopsie	58,5% ($\pm 15,9$)	55,2 ($\pm 17,0$)	0,29
CD3 1. Biopsie	3,2 (1,6-6,4)	10,7 (8,2-14,3)	<0,0001
CD3 2. Biopsie	3,6 (1,8-7,7)	5,9 (3,5-10,0)	0,05
CD3 3. Biopsie	3,4 (1,4-6,3)	3,6 (1,8-7,0)	0,71

Man erkennt, dass trotz ausheilender Entzündung die EF selbst in der 3. Biopsie noch nicht die Werte der Gruppe mit negativem CD8/ICAM-Score erreicht – allerdings ist dies statistisch nicht signifikant, $p=0,29$.

Der CD8/ICAM-Score ist bei 19 von 58 Patienten (33%) in der 3. Biopsie positiv; dies hat jedoch keinen negativen Einfluss auf die EF (Daten nicht gezeigt).

3.3.3 Virusnachweis in der 3. Biopsie

Die Gesamtverteilung der Viren sieht folgendermaßen aus:

	1. Biopsie	2. Biopsie	3. Biopsie
Kein Virus	37%	43%	39%
Entero	16%	7%	9%
Adeno	3%	2%	1%
ParvoB19	25%	35%	36%
HHV6	5%	4%	3%
HHV6+PVB19	8%	6%	9%

Die Zahl der Patienten mit Enterovirus scheint abzunehmen; bei den anderen Viren tritt keine wesentliche Änderung auf.

Welchen Einfluss hat eine Viruspersistenz in der 3. Biopsie auf die Pumpfunktion? Dazu die folgenden Daten (Tabelle 82):

Tabelle 82 Virusstatus in der 3. Biopsie bei im Verlauf verbesserter, gleichgebliebener und verschlechterter Pumpfunktion, n=78

	EF >5% schlechter	EF gleichgeblieben	EF >5% verbessert
Kein Virus	13 (38%)	7 (19%)	15 (43%)
Entero	1 (17%)	2 (33%)	3 (50%)
PVB19	8 (31%)	8 (28%)	11 (41%)
HHV6	0	0	2 (100%)
PVB19+HHV6	4 (50%)	2 (25%)	2 (25%)

Aus diesen Daten lässt sich (möglicherweise aufgrund der schon recht kleinen Fallzahlen) ebenfalls kein Zusammenhang einer persistierenden Virusinfektion mit einer Verschlechterung der Pumpfunktion ableiten.

3.3.4 Klinische Symptome zum Zeitpunkt der 3. invasiven Diagnostik

3.3.4.1 NYHA-Klasse im Verlauf

Auch im Verlauf zwischen 2. und 3. Biopsie zeigt sich eine Besserung der Belastbarkeit, abzulesen an einer tendenziell besseren NYHA-Gruppierung. Die meisten Patienten der Ausgangs-Gruppen II und III bleiben zwar in ihren Ausgangsgruppen; wenn sich die Belastbarkeit jedoch geändert hat, dann eher zum Besseren (Tabelle 83).

Nur die Patienten mit zunächst sehr guter Belastbarkeit (NYHA I) verschlechtern sich im Verlauf etwas. Patienten in der NYHA-Klasse IV gibt es zum Zeitpunkt der 2. Biopsie nicht.

Tabelle 83 NYHA-Verlauf zwischen 2. und 3. Biopsie

2. Biopsie	3. Biopsie NYHA I	3. Biopsie NYHA II	3. Biopsie NYHA III	3. Biopsie NYHA IV
NYHA I (n=11)	45%	55%	-	-
NYHA II (n=30)	23%	67%	10%	-
NYHA III (n=11)	0%	27%	73%	-
NYHA IV (n=0)	-	-	-	-

3.3.4.2 Atypische Angina pectoris

22% der Patienten, die zum Zeitpunkt der 2. Biopsie keine atypischen pektanginösen Beschwerden hatten, berichten zum Zeitpunkt der 3. Biopsie über solche Symptome. Umgekehrt jedoch hat ein gutes Drittel (38%) zur Zeit der 3. Biopsie keine atypische A.p. mehr, obwohl diese Beschwerden zum Zeitpunkt der 2. Biopsie bestanden.

3.3.5 Zusammenfassung der Daten der 3. Biopsie

Anhand der 78 zum dritten Mal biopsierten Patienten, die keine immunsuppressive Therapie erhielten, lässt sich durchschnittlich

- eine Verschlechterung der Pumpfunktion um knapp 5% bei EF <45% (n.s.),
- keine Verschlechterung der Pumpfunktion bei Patienten mit EF >45%
- kein Zusammenhang einer Verschlechterung mit Entzündung
- kein Zusammenhang einer Verschlechterung mit Viruspersistenz und
- ein weiterer Rückgang der immunhistologischen Marker

beobachten.

3.4 Vierte und weitere Biopsien

Von den 45 Patienten aus unserem Kollektiv, die zum 4. Mal biopsiert wurden, wurden nur 9 im Verlauf ihrer Krankheit nicht immunsuppressiv oder mit Interferon behandelt. Der Abstand zwischen 3. und 4. Biopsie war recht lang; er betrug im Durchschnitt über anderthalb Jahre (Alter zum Zeitpunkt der 3. Biopsie: 49,4 Jahre, Alter zum Zeitpunkt der 4. Biopsie: 51,0 Jahre).

3.4.1 EF, Immunhistologie und Virus in der 4. Biopsie

Insgesamt ergibt sich kein neuer Aspekt: die Pumpfunktion bleibt gleich. Nur ein Patient hat eine EF <45%.

Die Lymphozytenzahlen sinken deutlich von durchschnittlich erhöhten Zahlen in der 3. Biopsie (Tabelle 84).

Tabelle 84 Verlauf von EF und Immunhistologie; n=9

	1. Biop.	2. Biop.	3. Biop.	4. Biop.	p Diff. 3./4.B.
EF	60,3 (±12,7)	58,1 (±9,9)	58,7 (±10,1)	60,3 (±17,1)	0,76
CD2	7,1	5,0	3,9	3,2	0,04
CD3	7,5	5,0	6,1	3,6	0,04
CD4	4,3	2,1	2,1	1,8	0,64
CD8	3,7	2,5	2,1	0,7	0,83
CD45R0	3,9	3,2	2,5	3,6	0,36
Ma102	5,4	4,6	3,6	2,9	0,19
HLA I Gef.	1,7	1,7	1,7	1,8	0,76
HLA I Int.	1,6	1,5	1,5	1,6	0,79
HLADR Gef.	1,5	1,5	1,5	1,6	0,81
HLA DR Int.	1,3	1,3	1,3	1,3	1,0
ICAM Gef.	1,4	1,5	1,3	1,3	0,50
ICAM Int.	1,3	1,5	1,3	1,3	0,50

(Aus Gründen der Übersichtlichkeit wurde für die Immunhistologie auf die Angabe der Interquartile/Standardabweichung verzichtet)

Aus dieser Tabelle wird deutlich, dass alle Lymphozytenzahlen weiter absinken. Und wiederum kommt es spontan (ohne Immunsuppression) zu einer deutlichen Abnahme der Lympho-

zytenzahl, jedoch nicht zu einer Abnahme der HLA-Expression. Die EF und die Zellzahlen in diesen Gruppen listet die folgende Tabelle 85 auf:

Tabelle 85 EF und Zellzahlen in der 3. und 4. Biopsie nach Änderung der EF zwischen 3. und 4. Biopsie betrachtet

	-1 n=2		0 n=0		1 n=5	
	3. Biopsie	4. Biopsie	3. Biopsie	4. Biopsie	3. Biopsie	4. Biopsie
EF	69%	59%	-	-	54,6	67,8
CD2	39,1	6,1	-	-	6,1	3,2
CD3	35,0	7,3	-	-	6,1	3,6
CD8	17,1	3,7	-	-	2,1	0,7
ICAM Int.	2,0	1,5	-	-	1,2	1

-1: EF >5% schlechter, 0: EF gleichgeblieben; 1: EF >5% besser

Hier fällt auf, dass die beiden Patienten, die sich im Verlauf verschlechtern, in der 3. Biopsie eine ausgeprägte Entzündung hatten. In der 4. Biopsie lässt sich diese Entzündung allerdings kaum noch nachweisen. Die Patienten, die sich verbessern, haben in der 3. Biopsie durchschnittlich keine deutlich erhöhten Zellzahlen; die Zellzahlen sinken im Verlauf noch weiter.

3.4.1.1 Virus und EF

Es gibt nur von 27 dieser Patienten eine Information über den Virusstatus; davon haben 11 kein Virus, ein Patient eine Enterovirusinfektion, 13 Parvovirus B19 und 2 Patienten eine Doppelinfection mit HHV6 und PVB19.

Die EF dieser Patienten liegt unabhängig vom Virusstatus etwa bei 54%; durchschnittlich ist es nicht zu einer Verschlechterung der Pumpfunktion seit der 1. Biopsie gekommen.

3.4.2 Immunhistologie und Pumpfunktion in der 5. und 6. Biopsie

4 Patienten ohne Immunsuppression wurden ein 5. Mal biopsiert; ihre Pumpfunktion hatte sich zwischen 4. und 5. Biopsie nicht verändert (EF.4: 65,5%; EF.5: 65,3%); CD3 sank von 9,4 Zellen/mm² auf 6,0 Zellen.

2 Patienten wurden zum 6. Mal biopsiert; ihre EF war sehr gut (EF.5: 78%, EF.6: 76,5%); ihre CD3-Lymphozytenzahl sank von 5,0 auf 3,9 Zellen/mm².

4 Diskussion

4.1 Zusammenhang der myokardialen Entzündung mit der Pumpfunktion

Herzmuskelerkrankungen umfassen sehr heterogene Krankheitsbilder; das Spektrum reicht von asymptomatischen, nur zufällig diagnostizierten bis hin zu dramatischen und zum Teil das Leben bedrohenden Veränderungen, von akut einsetzenden bis jahrzehntelangen chronischen Verläufen. Auch die Prognose dieser Krankheiten ist sehr variabel: manche heilen völlig folgenlos aus, während andere eine dauerhafte ernsthafte Beeinträchtigung der Lebensqualität nach sich ziehen. Dennoch wird angenommen, dass es gemeinsame Pathomechanismen für diese so unterschiedlich erscheinenden Erkrankungen gibt.

Dabei wird einer myokardialen Entzündung (die oft viral ausgelöst wird) eine entscheidende Rolle zugewiesen, derart, dass eine solche Entzündung manchmal nicht nach Beseitigung der Ursache (z.B. Elimination eines Virus) ausheilt, sondern chronisch wird und auf diese Weise eine zunehmende Schädigung des Myokards bewirkt.

Aus großen Metaanalysen (D'Ambrosio, 2001) geht hervor, dass bei ca. 20% der Patienten mit (histologisch gesicherter) Myokarditis innerhalb weniger Jahre eine DCM entsteht, und umgekehrt lassen sich bei vielen Patienten mit DCM entzündliche Veränderungen des Myokards nachweisen.

Nun beruhen diese Studien alle auf einem histologischen Nachweis der Myokarditis nach den Dallas-Kriterien (Aretz, 1987); diese sind aber wegen ihrer geringen Sensitivität in der Detektion insbesondere einer chronischen Entzündung umstritten. Als bessere Untersuchungsinstrumente haben sich in den letzten Jahren der myokardiale Virusnachweis und die immunhistologische Aufarbeitung von Myokardbiopsien erwiesen, die es aufgrund der Spezifität monoklonaler Antikörper erlaubt, infiltrierende Entzündungszellen qualitativ und quantitativ zu erfassen. Auch durch zellunabhängige Entzündungsmarker wie die zellulären Adhäsionsmoleküle (CAM) kann der „sampling error“ der Probenentnahme reduziert werden.

Es gibt jedoch weder Vergleiche der histologischen mit immunhistologischen Ergebnisse an einer größeren Patientenzahl, noch liegen (histologische oder immunhistologische) Verlaufsuntersuchungen vor, die eindeutig gezeigt haben, welche Rolle insbesondere einer chronischen myokardialen Entzündung in Hinblick auf eine progrediente oder persistierende Myokardschädigung zukommt. Ebenfalls gibt es bislang keine Erkenntnisse darüber, bei welchen Patienten sich mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit eine chronische Herzmuskelschwäche entwickeln wird.

Aus diesem Grund wurden in der vorliegenden Arbeit einerseits histologische und immunhistologische Befunde miteinander verglichen und in Beziehung zu den klinischen Daten gesetzt, andererseits wurden die Krankheitsverläufe über mehrere Monate bis Jahre (und zwar nicht nur klinisch, sondern auch (immun)histologisch) analysiert.

An einem großen Patientenkollektiv von 5113 Patienten, die unter dem Verdacht auf eine Herzmuskelerkrankung mindestens einmal und an einer Untergruppe von 527 dieser Patienten, die im Verlauf mindestens zweimal invasiv kardiologisch untersucht worden waren (LV-Angiografie mit Bestimmung der Ejektionsfraktion; Myokardbiopsieentnahme), wurden ausführliche immunhistologische Untersuchungen der Myokardbiopsien durchgeführt und mit der linksventrikulären Pumpfunktion sowie wesentlichen anderen klinischen und anamnestischen Daten korreliert.

Ein Vergleich aller biopsierter Patienten mit dieser für die Verlaufsbeurteilung zur Verfügung stehenden Untergruppe ergab keine wesentlichen Unterschiede bezüglich der klinischen Daten; somit ist davon auszugehen, dass die an der Untergruppe erhobenen Verlaufsergebnisse auch für das Gesamtkollektiv repräsentativ sind.

Dass eine myokardiale Entzündung mit einer verschlechterten Pumpfunktion einhergehen kann, war zwar bislang oft im Einzelfall beschrieben und für das Krankheitsbild im Ganzen vermutet worden, konnte bis jetzt aber noch nicht an einem großen Patientenkollektiv nachgewiesen werden.

In der hier vorgestellten Arbeit wurde erstmals gezeigt, dass die hämodynamische Beeinträchtigung der Myokardfunktion vom Ausmaß und der Art der Entzündung beeinflusst wird. Es bestand ein statistisch signifikanter negativer Zusammenhang zwischen der Höhe der myokardialer CD3-T-Zellinfiltration (= myokardiale Entzündung) und der systolischen Ruhepumpfunktion.

Auch für weitere untersuchte T-Zell-Marker, die verschiedene Lymphozyten-Subpopulationen erfassen, konnten Schwellenwerte gefunden werden, bei deren Überschreitung ein signifikanter Effekt auf die Myokardfunktion sichtbar wurde.

Dabei ist die Assoziation der Entzündung aber nicht nur von der Höhe der T-Lymphozyten insgesamt, sondern auch von der Art der erhöhten Entzündungszell-Subtypen abhängig. Die differenzierte Betrachtung der myokardialen Entzündung zeigte, dass bei Patienten mit vermehrten zytotoxischen CD8-positiven T-Lymphozyten die LV-Funktion deutlich stärker be-

einträchtig war als beispielsweise bei Erhöhung der CD4-Lymphozyten, und umgekehrt hatten Patienten mit deutlich erhöhten aktivierten Makrophagen eine tendenziell bessere Pumpfunktion.

Eine myokardiale Entzündung ist nicht nur durch die Erhöhung infiltrierender T-Zellen gekennzeichnet, sondern auch durch weitere Entzündungsmediatoren wie die Zelldhäsionsmoleküle (CAM). Diesen (z.B. HLA I und II, ICAM1) kommt eine wesentliche Bedeutung bei der Entwicklung und Aktivierung einer Entzündung zu. Während HLA I und II Corezeptoren für CD8 und CD4 sind und zur Auslösung einer spezifischen Immunreaktion benötigt werden, sind andere Adhäsionsmoleküle wie ICAM-1 für die Adhäsion ans Gefäßendothel und Einwanderung der T-Zellen ins Gewebe erforderlich. Somit ist bei Erhöhung der CAM von einem aktivierten Entzündungszustand dieses Organs auszugehen.

Man konnte bereits vor längerem zeigen, dass eine enge Korrelation zwischen der T-Zellzahl im Myokard und der Höhe der CAM-Expression auf interstitiellen Zellen und dem Gefäßendothel besteht (Kuhl, 1994), wobei die verschiedenen Adhäsionsmolekülen parallel zu ihren spezifischen Gegenrezeptoren erhöht sind (CD4-HLA II; CD8-HLA I; LFA1-ICAM-1). Da die Expression dieser Adhäsionsmoleküle unabhängig von der Lokalisation der Zellinfiltrate vorliegt, kann der Nachweis ihrer Erhöhung zu einer Verminderung des „sampling error“ beitragen (Kühl, 1996).

Bei der Analyse der Daten unserer 527 Patienten stellte sich heraus, dass die Lymphozytenzahlen bei Patienten mit schlechterer Pumpfunktion (EF <45%) signifikant höher lagen als bei Patienten mit besserer Pumpfunktion (EF >45%) und dass die Patienten mit sehr schlechter Pumpfunktion (EF <30%) ohne Besserung im Verlauf durchschnittlich die höchsten Lymphozytenzahlen aufwiesen.

Dies ist auch insofern bemerkenswert, als nicht nur Patienten mit dem klinischen Verdacht auf eine akute Myokarditis, sondern auch Patienten mit dem schon zum Teil länger bestehenden Bild einer DCM untersucht wurden.

Die vorliegenden Daten lassen somit vermuten, dass ein Teil der Patienten mit dem klinischen Bild einer Dilatativen Kardiomyopathie eine entzündlich bedingte Herzmuskelschwäche hat. Auch im Myocarditis Treatment Trial wurde bei 10% der 2200 Patienten mit unklarer Herzinsuffizienz von weniger als 2 Jahren Dauer eine Myokarditis diagnostiziert (Mason et al., 1995); ähnliche Ergebnisse (9%) waren an 1230 weiteren Patienten (Felker et al., 2000) berichtet worden.

Bei der hier untersuchten Patientengruppe ließ sich allerdings in einem deutlich höheren Prozentsatz eine myokardiale Entzündung nachweisen; diese Diskrepanz lässt sich darauf zurückführen, dass in den genannten Studien die insensitiven histologischen Dallas-Kriterien zugrundegelegt wurden. Im eigenen Patientenkollektiv waren bei insgesamt 8% aller Patienten entweder eine aktive oder eine borderline-Myokarditis nach Dallas-Kriterien nachweisbar; somit ergab sich eine sehr gute Übereinstimmung mit den genannten großen Studien.

4.2 Verlauf der Erkrankung

Die immunhistologisch nachweisbaren Lymphozytenzellzahlen sanken im Verlauf alle deutlich und statistisch signifikant, und zwar – wie zu erwarten – nur in der Gruppe, die anfangs eine deutliche Entzündung hatte. Bei 28% der Patienten mit anfänglich deutlicher Entzündung (>9 CD3-Zellen/mm²) konnte jedoch eine Persistenz der Entzündung nachgewiesen werden. In weiteren Biopsien zu einem späteren Zeitpunkt kam es aber bei dem größten Teil auch dieser (kleinen) Patientengruppe zu einer Ausheilung.

Ein wichtiges Ziel der hier vorgestellten Untersuchungen war es, die Änderung der myokardialen Pumpfunktion in Abhängigkeit von einer myokardialen Entzündung im zeitlichen Verlauf zu erfassen. Dabei konnte gezeigt werden, dass sich die Patienten mit und ohne Entzündung in der 1. Biopsie in der Entwicklung ihrer Pumpfunktion unterschieden:

Patienten mit mäßiger Erhöhung der CD3-positiven Lymphozyten wiesen zwar durchschnittlich anfangs eine um ca. 5% schlechtere EF als Patienten ohne oder mit nur geringer Entzündung auf, erholten sich aber im Verlauf stärker als Patienten ohne Entzündung und näherten sich nach 7 Monaten deren Pumpleistung an.

Zwar verbesserte sich die Pumpfunktion häufig, normalisierte sich jedoch nur bei 16% der Patienten mit Entzündung und zum Zeitpunkt der 1. Biopsie eingeschränkter Pumpfunktion, so dass über die Hälfte aller Patienten mit Entzündung in der 1. Biopsie auch zum Zeitpunkt der 2. invasiven Diagnostik keine normale Pumpfunktion zeigten.

Auf der anderen Seite kam es bei einem Drittel der Patienten zu einer relevanten Verschlechterung der LV-Funktion, und selbst bei anfangs normaler Pumpfunktion betrug das Risiko, im Verlauf eine nicht-normale (EF $<60\%$) Pumpfunktion zu entwickeln, 15%.

Bei einer deutlichen Erhöhung der CD3-Zellen war die EF sowohl zum Zeitpunkt der 1. als auch zum Zeitpunkt der 2. Biopsie relevant niedriger als ohne Entzündung oder mit mäßiger Entzündung, und auch bei den wenigen Patienten, von denen Daten im weiteren Verlauf vorliegen, war sie stärker eingeschränkt als bei den anderen Patienten.

Für die Analyse des weiteren Spontanverlaufs standen lediglich die Daten von 78 Patienten zur Verfügung, da nur ein kleiner Teil der Patienten ohne immunmodulierende Therapie ein drittes Mal biopsiert wurde; diese Ergebnisse sind daher nicht repräsentativ. Die Pumpfunktion dieser Patienten blieb nach ca. 15 Monaten durchschnittlich unverändert leicht eingeschränkt, wobei sich auch in dieser Gruppe bei 30% der Patienten die EF um mehr als 5% verschlechterte, und zwar bei fast doppelt so vielen Patienten mit Entzündung in der 1. Biopsie wie ohne Entzündung.

Die schleichende Entwicklung einer DCM aus einer immunhistologisch diagnostizierten Myokarditis über einen längeren Zeitraum muss daher bei einem kleineren Teil der Patienten angenommen werden; wichtig ist dabei, dass auch Patienten mit Entzündung und anfangs unauffälliger Pumpfunktion diesem Risiko unterliegen (und nicht nur diejenigen, deren LVF bereits zum Erkrankungsbeginn eingeschränkt war).

Um die Patienten identifizieren zu können, deren Pumpfunktion sich im Verlauf möglicherweise verschlechtern wird, wurde die Assoziation einzelner Lymphozytensubpopulationen und Adhäsionsmoleküle mit dem Verlauf untersucht.

Dabei konnte sowohl eine Erhöhung der CD8-positiven zytotoxischen T-Lymphozyten als auch eine Verstärkung der interstitiellen ICAM-1-Expression in der 1. Biopsie als Marker einer nicht nur zum Zeitpunkt der 1. Biopsie, sondern auch zum Zeitpunkt der 2. und weiteren Biopsie schlechteren Pumpfunktion gezeigt werden.

Es wurden mehrere Modelle („Scores“) entwickelt und getestet, die eine Kombination unterschiedlicher Grenzwerte von CD8 und ICAM beinhalteten. Der beste dieser „Scores“ zeigte eine deutlich niedrigere EF der 1. und der Folgebiopsien bei Patienten mit positivem Score als bei Patienten mit negativem Score (Tabelle 50, S. 76; Tabelle 81, S. 98) und konnte einen größeren Prozentsatz der Patienten identifizieren, die sich im Verlauf verschlechterten (Tabelle 48, S. 75).

Um eine Verschlechterung der Pumpfunktion allein aus den Daten der 1. Biopsie vorhersagen zu können, reichte dieser Score jedoch nicht aus, da die Sensitivität nur 45% betrug.

Bereits seit längerem wird vermutet, dass zytotoxischen CD8-Lymphozyten eine wichtige Rolle bei der Persistenz einer Myokarditis zukommt (z.B. nach Coxsackievirus(CVB)-Infektion; (Woodruff and Woodruff, 1974)), aber auch bei Abstoßungsreaktionen nach Herztransplantationen. Daten am Menschen gibt es hierfür nicht, aber im Tiermodell mit Coxsackievirus-B3-Infektion von Mäusen (die in der Anfangsphase wie die humane akute Myokarditis verläuft), konnte Henke (Henke et al., 1995) zeigen, dass myokardiale Entzündung und kardialer Tod nach CVB3-Infektion sowohl bei Mäusen nach CD8-Depletion als auch bei Mäusen, die – genetisch bedingt – kaum CD8-Lymphozyten aufweisen, deutlich geringer ausgeprägt ist bzw. seltener auftritt als bei Mäusen mit intaktem Immunsystem und effektiven CD8-Zellen. Neuere Arbeiten (Grabie et al., 2003) zeigten darüber hinaus, dass Interleukin-12 die zytotoxische Antwort der CD8-Lymphozyten verstärkt.

Daher kann vermutet werden, dass eine erhöhte CD8-Zellzahl bei Myokarditis entweder einen initial stärkeren Virusbefall (CD8-Lymphozyten sind verantwortlich für die spezifische Immunantwort nach Virusinfektion) oder aber die Induktion einer autoimmun bedingten Myokardschädigung (möglicherweise ebenfalls nach Viruselimation) anzeigt.

Ein Zusammenhang zwischen einer verstärkten Expression von ICAM-1 und dem klinischen Verlauf (z.B. der Pumpfunktion) wurde hingegen bislang weder tierexperimentell noch am Menschen beschrieben. In einer tierexperimentellen Studie konnte jedoch gezeigt werden, dass eine Infektion mit CVB3 die ICAM-Expression auf Kardiomyozyten verstärkt und dass in-vivo-Behandlung mit Anti-ICAM-Antikörpern von Mäusen mit CVB3 zu einer deutlich geringeren Entzündung führt (Seko et al., 1993). Dies könnte ebenfalls für eine (auto)immun bedingte myokardiale Schädigung nach Virusinfektion sprechen.

Eine verstärkte ICAM-Expression in der 1. Biopsie hat im Übrigen weniger starke Auswirkungen auf die Pumpfunktion zum Zeitpunkt der 1. Biopsie als auf die Pumpfunktion zum Zeitpunkt der 2. Biopsie, scheint also – im Gegensatz zur erhöhten CD8-Infiltration – einen verzögert wirkenden oder im Verlauf noch weiter schädigend wirkenden Mechanismus widerzuspiegeln.

Als prognostisch günstig für die Entwicklung der Pumpfunktion konnte eine Erhöhung von aktivierten Makrophagen in der 1. Biopsie nachgewiesen werden; dieser Effekt war unabhängig von CD3, CD8 und ICAM, allerdings nur tendenziell signifikant.

Eine Entzündungspersistenz in der 2. Biopsie führt überraschenderweise nicht zu einer schlechteren Pumpfunktion als bei Ausheilung der Entzündung.

Auch Patienten mit ausgeprägter Entzündung in der 1. Biopsie (oder Erhöhung der genannten Subpopulationen) können sich im Verlauf verbessern, während sich andererseits auch ca. 25% der Patienten ohne nachweisbare Entzündung in der 1. Biopsie im Verlauf verschlechtern. Es müssen für den Verlauf also noch andere Pathomechanismen Bedeutung besitzen, die durch die immunhistologische Entzündungsdiagnostik nicht erfasst werden und die möglicherweise bereits zu Beginn einer Myokarditis die Weichen für die weitere Entwicklung stellen.

Hierbei ist vor allem eine (persistierende?) Virusinfektion zu diskutieren; wie gezeigt wurde, ist vor allem bei Infektionen mit Adenoviren, Enteroviren und HHV6 die Pumpfunktion oft noch deutlicher eingeschränkt als bei Patienten ohne Virusnachweis. Daraus erklärt sich möglicherweise auch die Bedeutung der zytotoxischen CD8-T-Lymphozyten für die Prognose: die CD8-positiven Lymphozyten erkennen Bruchstücke von Virusgenom, die via HLA auf Zelloberflächen exprimiert werden, und lysieren diese (virusbefallenen) Zellen.

Denkbar ist auch eine Myokardschädigung durch negativ-inotrope Zytokine wie z.B. TNF α , Interleukin-6 oder Interferon γ , die bei myokardialer Entzündung gebildet werden (Finkel et al., 1992), (Torre-Amione et al., 1996), (Deswal et al., 2001).

Bei anfangs starker Entzündung (ob durch Viren oder andere Mechanismen ausgelöst) kann durch massenhaften Untergang von Kardiomyozyten (durch Lyse oder Apoptose) ein Myokardschaden entstehen, der auch nach Ausheilung der Entzündung nicht mehr reversibel ist. Auch durch eine chronische Überlastung der myokardialen Muskulatur mit erhöhter Wandspannung durch Dilatation werden Mechanismen in Gang gesetzt (vor allem eine Bindegewebsvermehrung, die zu einer Fibrose führt, „remodeling“), die ihrerseits dauerhaft und unabhängig von Entzündung oder Viruspersistenz zu einer weiteren Verschlechterung der hämodynamischen Situation führen können.

Letzlich sind die hier nachgewiesenen Lymphozytenerhöhungen nicht gleichzusetzen mit einer Aktivität dieser immunkompetenten Zellen; denkbar ist es daher, dass eine T-Zell-Erhöhung (oder auch Verstärkung der CAM-Expression) bei einem Teil der Patienten eine aktive myokardiale Entzündung bedeutet, bei einem anderen Teil hingegen nur noch Ausdruck einer früher durchgemachten, jetzt nicht mehr aktiven Myokarditis ist.

Bei einem Teil (laut Literatur ca. 20-30% aller DCM-Patienten) der Patienten muss als Ursache einer eingeschränkten Pumpfunktion eine familiäre / genetische Störung vermutet werden; mittlerweile lassen sich viele verschiedene Gendefekte nachweisen, die mit einer progredienten Einschränkung der LV-Funktion assoziiert sind. Dies wurde hier nicht untersucht; jedoch ist es wahrscheinlich, dass ein Teil unserer Patienten mit persistierender oder progredienter LV-Dysfunktion einen Gendefekt hat und somit eine Besserung im Verlauf nicht erwartet werden kann.

Die hier gewonnenen Ergebnisse bestätigen im Übrigen, dass beispielsweise vor der primärprophylaktischen Implantation eines Defibrillators erst einmal der Spontanverlauf der Pumpfunktion abgewartet werden sollte: bei den hier untersuchten Patienten, die anfangs eine EF <30% hatten, blieb nach durchschnittlich 7 Monaten nur bei 19% die EF gleich oder verschlechterte sich, bei den übrigen 81% stieg die EF von 20% auf durchschnittlich 37%; somit waren nicht mehr die Kriterien zur primärprophylaktischen Defibrillator-Implantation erfüllt. Gerade bei diesen Patienten ist eine differenzierte Betrachtung der myokardialen Entzündung wichtig: während sich die Pumpfunktion von Patienten mit mäßiger Entzündung oft deutlich bessert, ist bei starker Entzündung, aber auch ohne Entzündung häufig keine Änderung oder sogar eine Verschlechterung zu erwarten.

4.3 Immunhistologische Diagnose der Myokarditis

Das bisher angewandte Diagnosekriterium einer myokardialen Entzündung beim Vorliegen von mehr als 7 CD2- oder CD3-Lymphozyten pro mm^2 beruhte auf Auswertungen der Biopsien von Donorherzen bei Herztransplantation oder von Autopsieherzen.

Bei den hier untersuchten Patienten war allerdings eine geringe myokardiale Entzündung (mit einer CD3-Zellzahl von $6 < 9$ Zellen/ mm^2) nicht mit einer klinisch relevant schlechteren Pumpfunktion assoziiert als die der Patienten mit noch niedrigeren T-Zellzahlen. Dennoch ist dieser Befund gegenüber Kontrollen als pathologisch anzusehen und beispielsweise bei einer ausheilenden Myokarditis anzutreffen; auch vermag er Beschwerden des einzelnen Patienten zu erklären.

Ab einem Schwellenwert von 9 CD3-Lymphozyten pro mm^2 ließ sich ein relevanter und statistisch signifikanter negativer Einfluss auf die myokardiale Pumpfunktion nachweisen. Der

Unterschied der EF betrug im untersuchten Patientenkollektiv durchschnittlich ca. 5% absolut. Dieser Grenzwert für die Diagnose einer myokardialen Entzündung mit klinisch relevant und statistisch signifikant schlechterer Pumpfunktion war der durchschnittlichen CD3-Zahl unserer 25 Patienten mit histologisch gesicherter aktiver oder borderline-Myokarditis von 10,7 Zellen sehr ähnlich.

Ab einer Zellzahl von ca. 20 CD3-Lymphozyten konnte dann eine nochmals schlechtere Pumpfunktion nachgewiesen werden, die auch im weiteren Verlauf stärker eingeschränkt war als die der Patienten ohne oder mit mäßiger Entzündung. Wahrscheinlich war in dieser Gruppe der anfängliche Myokardschaden (durch Myozytolyse) so groß, dass sich die Pumpfunktion nicht mehr deutlich bessern konnte.

Daher kann man ab einer CD3-Lymphozytenzahl >20 Zellen/mm² von einer ausgeprägten myokardialen Entzündung ausgehen.

Für die Untergruppe der zytotoxischen CD8-T-Lymphozyten konnte eine stärkere negative Korrelation mit der LV-Funktion gezeigt werden, so dass auch diese Lymphozytensubpopulation bei der Bewertung einer myokardialen Entzündung betrachtet werden sollte. Bei einer Erhöhung dieser Zellen auf über 5 Zellen/mm² war die Pumpfunktion sogar noch deutlicher negativ mit der Pumpfunktion assoziiert als eine Erhöhung der CD3-Zellen. Ähnliches galt für die ICAM-I-Expression auf interstitiellen Zellen; eine Erhöhung auf mindestens Grad 1,5 korrelierte vor allem negativ mit der Pumpfunktion im Verlauf.

Die Makrophagenzahl korrelierte hier als einziger Zellmarker positiv mit der Pumpfunktion auch im Verlauf, eine Erhöhung auf >7 Zellen/mm² in der 1. Biopsie könnte damit also einen Hinweis auf eine günstigere Prognose geben. Dies galt auch dann, wenn CD3 oder CD8/ICAM über die oben genannten Grenzen erhöht waren.

Eine Diagnose der myokardialen Entzündung anhand der Expression der zellulären Adhäsionsmoleküle hat den Vorteil eines geringeren „sampling errors“, da eine verstärkte Expression nicht nur fokal (wie oft die Lymphozytenverteilung), sondern diffus über die gesamte Biopsie anzutreffen ist.

Übereinstimmend mit Ergebnissen von Noutsias (Noutsias et al., 1999) korrelierte die Expression der Zelladhäsionsmoleküle in unserer Untersuchung zwar signifikant mit der Höhe der T-Lymphozyten. Allerdings konnte bei alleiniger Betrachtung der CAM-Expression kein

statistisch signifikanter Zusammenhang mit der Pumpfunktion hergestellt werden, sondern allenfalls ein Trend. Der einzige Marker, dessen Erhöhung eindeutig negativ mit dem Verlauf der Pumpfunktion korrelierte, war die ICAM-Expression auf interstitiellen Zellen.

Die fehlende Übereinstimmung der übrigen CAM-Marker mit der Pumpfunktion (sowie weiteren klinischen Parametern) ist von Bedeutung, da postuliert wurde, dass man anstelle der Lymphozytenmarker ebenso gut die HLA-Marker zur immunhistologischen Diagnose einer myokardialen Entzündung benutzen könne; eine polnische Arbeitsgruppe (Wojnicz et al., 2001) benutzte sogar ausschließlich die HLA-Expression, um zu entscheiden, welche Patienten immunsuppressiv behandelt werden sollten.

Dabei soll nicht in Abrede gestellt werden, dass die CAM-Expression eine Aussage über eine myokardiale Inflammation zu treffen vermag. Dennoch sollte die Diagnose einer Myokarditis nicht allein auf der Analyse der Adhäsionsmoleküle beruhen, da die oben beschriebenen, durchaus divergenten Einflüsse verschiedener Lymphozytensubpopulationen auf die Pumpfunktion damit nicht erfasst werden können.

Möglicherweise gelingt durch automatische quantitative Bildauswerteprogramme (Noutsias et al., 2002a) und der dadurch möglichen exakten quantitativen Bestimmung der CAM-Expression eine bessere Korrelation mit klinischen Daten, insbesondere der Pumpfunktion. Allerdings können diese automatischen Bildauswerteprogramme nicht zwischen endothelialer und interstitieller Expression unterscheiden. Dies ist von Nachteil, da – wie gezeigt wurde – ein deutlicher Unterschied zwischen der endothelialen und interstitiellen Expression vor allem von ICAM in Bezug auf die myokardiale Pumpfunktion besteht.

Nach den hier vorgestellten Ergebnissen gehen ebenfalls Informationen verloren, wenn aus der Gesamtzahl der CD3-T-Lymphozyten, CD-45RO-Zellen, Makrophagen und Endothelzellen (Maisch et al., 2000) eine Myokarditis diagnostiziert wird, da auf diese Weise die möglichen prognostischen Unterschiede und gegenläufigen Effekte bei Erhöhung unterschiedlicher Zell-Subpopulationen nicht erfasst werden können, somit vielleicht sogar Patienten immunsuppressiv behandelt werden, bei denen es aufgrund einer günstigen Konstellation der infiltrierenden Zellen und Adhäsionsmoleküle spontan zu einer Ausheilung der Entzündung gekommen wäre (und umgekehrt).

4.4 Klinische Symptome und Befunde der immunhistologischen Analyse

Als Hauptsymptom bestand bei 85% aller Patienten eine ingeschränkte Belastbarkeit (NY-HA II-IV); dieses klinische Symptom korrelierte jedoch nicht mit dem myokardialen Entzündungsnachweis.

Andere Symptome waren belastungsabhängige und –unabhängige Thoraxschmerzen, EKG-Veränderungen und Herzrhythmusstörungen. Nur belastungsunabhängige Angina pectoris und T-Negativierungen im EKG waren bei Patienten mit und ohne Entzündung unterschiedlich häufig nachweisbar.

Thorakale Schmerzen in Ruhe („atypische Angina pectoris“) oder bei Belastung (Belastungs-A.p.) traten im Gesamtkollektiv relativ häufig auf, aber insbesondere für die atypische Angina pectoris konnte klar gezeigt werden, dass weder in Bezug auf die Lymphozytenmarker noch auf die HLA-Expression (auch nicht isoliert auf den Gefäßen) ein Zusammenhang mit einer myokardialen Entzündung besteht.

Dabei ist es überraschend, dass die atypische Angina pectoris – die als ein Charakteristikum der akuten Myokarditis gilt, aber auch als typisches Symptom einer chronischen Entzündung angesehen wird – bei Patienten mit entzündlich verändertem Myokard signifikant seltener auftritt als bei Patienten ohne myokardiale Entzündung. Eine atypische Angina pectoris wird nämlich als durch Entzündung verursachte endotheliale Dysfunktion im Rahmen einer myokardialen Entzündung gedeutet (Klein et al., 1998). Auch Vallbracht et al. (z.B.(Vallbracht et al., 2002)) sahen einen Zusammenhang zwischen einer endothelialen Dysfunktion) und einer myokardialen Entzündung.

Denkbar ist beispielsweise eine postentzündliche Endothelschädigung mit der verminderten Fähigkeit zur Autoregulation des Gefäßtonus.

Allerdings können auch Viren eine Rolle spielen (Kandolf, 2004; Tschöpe et al., 2005; Kuhl et al., 2003a), da gezeigt wurde, dass Parvovirus B19 eine kontinuierliche Endothelzellinfektion, ausgehend von infizierten Endothel-Progenitor-Zellen (EPCs) im Knochenmark, auslöst und damit eine chronische endotheliale Funktionsstörung bewirkt.

Die anamnestiche Angabe von Thoraxschmerz ist generell nicht mit einer endothelialen Dysfunktion gleichzusetzen; in den oben zitierten Arbeiten hatte nur ein Teil der bereits sehr ausgewählten Patienten mit Angina pectoris (keine Patienten >70 Jahre, mit arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus oder KHK, keine Raucher) eine nachweisbare endotheliale Dysfunktion.

Dem (atypischen) Thoraxschmerz liegen somit vermutlich mehrere verschiedene Mechanismen zugrunde (unter anderem auch eine perikardiale Mitbeteiligung im Sinne einer Perikarditis), so dass die endotheliale Dysfunktion nur bei einem Teil der Patienten eine Rolle spielt.

Für präterminale T-Negativierungen konnte eine statistisch signifikante höhere Häufigkeit bei immunhistologisch nachweisbarer Entzündung gezeigt werden, die möglicherweise auf einer entzündungsbedingten Endothelzell dysfunktion mit Spasmen beruht.

Andere apparativ erhobene Befunde konnten jedoch keinen Hinweis auf die entzündliche Genese der Herzmuskelerkrankung geben; insbesondere EKG-Veränderungen wie ST-Streckenhebungen oder –senkungen korrelierten nicht mit den immunhistologisch nachweisbaren Veränderungen.

Interessanterweise waren auch Herzrhythmusstörungen nicht signifikant häufiger bei Myokarditis; für ventrikuläre Tachykardien konnte sogar gezeigt werden, dass sie bei Entzündung seltener auftraten. Absolute Arrhythmie bei Vorhofflimmern, SVES und VES traten unabhängig von einer myokardialen Entzündung auf; auch Sinustachykardien ließen sich nicht häufiger nachweisen.

Auch die untersuchten häufigen Begleiterkrankungen arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus oder der Risikofaktor Rauchen hatten keinen Einfluss auf die Höhe der myokardialen T-Zellinfiltration oder CAM-Expression.

Aus diesen Daten ließen sich insgesamt somit keine klinischen Symptome oder apparativ erhobenen Befunde ableiten, die eindeutig für oder gegen eine myokardiale Entzündung sprechen.

Selbstverständlich gab es klinische Konstellationen, die ganz eindeutig auf eine (akute) Myokarditis wiesen (beispielsweise erhöhte Herzenzyme nach Ausschluss einer koronaren Herzkrankung in Verbindung mit Leistungsknick und EKG-Veränderungen), aber die Daten an dem hier untersuchten recht großen Patientenkollektiv zeigten, dass solch eindeutige Verläufe nur selten beobachtet werden konnten.

Die Mehrzahl der Patienten präsentierte sich mit Leistungsknick und Belastungsdyspnoe, etwas eingeschränkter Pumpfunktion, ohne spezifische EKG-Veränderungen und eher schleichendem Beginn der Symptomatik. Anhand dieser unspezifischen Symptome kann eine Myokarditis weder diagnostiziert noch ausgeschlossen werden.

Das bedeutet, dass die Diagnose einer Myokarditis weiterhin nur myokardbiptisch gesichert werden kann, und zwar – wegen der geringen Sensitivität der konventionellen Histologie – immunhistologisch.

4.5 Ergebnisse der Virus-PCR-Analyse

Als häufigste Ursache einer Myokarditis werden Virusinfektionen angenommen, und damit übereinstimmend wurde bei 63% der hier untersuchten Patienten Virusgenom im Myokard nachgewiesen; am häufigsten das Parvovirus B19, gefolgt von Enteroviren, humanem Herpesvirus 6 und Adenoviren. Auch Mehrfachinfektionen waren relativ oft nachweisbar. Dies sind ähnliche Zahlen wie in der Literatur berichtet: Bowles berichtete über 40% Virusnachweis bei unter 18jährigen (vorwiegend Entero- und Adenoviren), (Bowles et al., 2003). Bei Erwachsenen sind es nach einer neueren Studie (Kuhl et al., 2005) überwiegend Parvoviren, Enteroviren und HHV6 bei 67% aller Patienten.

Die Zahl der Virus-positiven Patienten sank im Verlauf leicht ab von 63% auf 57%, wobei vor allem Enteroviren und auch Adenoviren spontan eliminiert wurden; die PVB19-Infektionsrate blieb jedoch unverändert.

Das Spektrum der im Myokard nachgewiesenen Erreger hat sich in den letzten Jahren kontinuierlich erweitert: während in den 80er und 90er Jahren überwiegend nach Enterovirus-Genom gesucht wurde (Jin et al., 1990b), (Grasso et al., 1992), (Muir et al., 1996), kamen Ende der 90er Jahre Adenoviren hinzu (Pauschinger et al., 1999a), (Shirali et al., 2001); und seit einigen Jahren werden Infektionen mit PVB19 und HHV6 untersucht (Pankuweit et al., 2003), (Kuhl et al., 2005); diese sind momentan am häufigsten nachweisbar.

Unabhängig von diesen erweiterten Untersuchungsmöglichkeiten hat möglicherweise in den vergangenen Jahren ein Wandel des Erregerspektrums stattgefunden: Auch absolut sind aktuell weniger Enterovirus- und Adenovirusinfektionen nachweisbar als noch vor wenigen Jahren.

Die Auswirkungen einer Virusinfektion auf die myokardiale Entzündung bei den hier untersuchten Patienten waren unterschiedlich; für keines der untersuchten Viren konnte (ähnlich wie bei Kühl (Kuhl et al., 2005)) eine durchschnittlich stärkere myokardiale Entzündung als ohne Virusinfektion nachgewiesen werden. Die Lymphozytenzahl und HLA-Expression war

für Patienten mit Entero- und Adenoviren ähnlich hoch wie bei Patienten ohne Virusnachweis; und die T-Zellzahl war deutlich niedriger bei Patienten mit HHV6.

Auch im Verlauf konnte kein eindeutiger Zusammenhang einer myokardialen Virusinfektion mit der Entzündung hergestellt werden – bei Adenoviren war die Entzündung teils deutlich ausgeprägt, bei HHV6 kaum nachweisbar.

Das Fehlen einer stärkeren myokardialen Entzündung bei Virusbefall könnte darauf beruhen, dass verschiedene Viren die Fähigkeit haben, das Immunsystem des Wirts zu unterdrücken; dieser Mechanismus (der den Viren einen Schutz gegen Elimination durch das Immunsystem bietet), wurde beispielsweise für Herpesviren und Epstein-Barr-Viren (Dockrell, 2003) nachgewiesen. Eine stärkere myokardiale Entzündung wäre demnach erst dann zu erwarten, wenn das Immunsystem mit Hilfe von T-Lymphozyten die Virusinfektion erfolgreich überwunden und Virus-befallene Zellen lysiert hat.

Die Pumpfunktion war bei Patienten mit Enteroviren, Adenoviren und HHV6 ca. 3-4% schlechter als bei Patienten ohne Virus (statistisch nicht signifikant), nicht hingegen bei PVB19-Infektion.

Im Verlauf war die LV-Funktion bei Adenovirus- und Herpesvirus6-Infektion deutlich schlechter als ohne Virus. Es konnte gezeigt werden, dass eine Persistenz von Adenoviren in der 2. Biopsie mit einer durchschnittlichen Verschlechterung der EF im Verlauf assoziiert war (statistisch signifikant). Auch war die EF der Patienten mit Persistenz von HHV6 in der 2. Biopsie 10% niedriger als bei Viruselimination. Dies stimmt mit Beobachtungen der eigenen Arbeitsgruppe (Kühl et al., 2005) überein und bestätigt die Vermutung, dass eine chronische Viruspersistenz zu einer dauerhaften, manchmal progredienten Herzmuskelschwäche führen kann.

Die beste Pumpfunktion auch im Verlauf hatten Patienten mit einer PVB19-Infektion (allein oder in Kombination mit anderen Viren). Für Enterovirus und Parvovirus B19 konnte – im Gegensatz zur oben zitierten Arbeit – kein eindeutiger Unterschied der LV-Funktion zwischen Viruspersistenz und –elimination gesehen werden; hier war aber möglicherweise die beobachtete Zeitspanne zu kurz, um statistisch signifikante und klinisch relevante Unterschiede erfassen zu können; denkbar sind auch Unterschiede im untersuchten Patientenkollektiv.

Die möglicherweise ungleich starke Schädigung des Myokards durch verschiedene Viren lässt sich durch Befall unterschiedlicher Zielzellen erklären: während für Adeno- und Enteroviren über den CAR-Rezeptor ein Befall der Kardiomyozyten nachgewiesen werden konnte (Bergelson et al., 1998), infiziert Parvovirus B19 Endothelzellen (Klingel et al., 2002), (Bultmann et al., 2003). Da angenommen wird, dass jede Virus-infizierte Zelle auf die Dauer durch das Immunsystem erkannt und zerstört wird, ist es einleuchtend, dass sich beim Verlust einer genügenden Anzahl von Kardiomyozyten die Pumpfunktion verschlechtert.

Endothelzellen hingegen haben keinen direkten Einfluss auf die Pumpfunktion und werden ständig nachgebildet, so dass ihre Elimination durch das Immunsystem keinen Verlust an funktionsfähigem Gewebe bedeutet.

4.6 Welche Patienten sollten biopsiert werden?

Wie aus den hier beschriebenen Ergebnissen hervorgeht, kann eine Myokarditis nur selten eindeutig anhand der Klinik diagnostiziert werden kann; eine sichere Diagnose kann meist nur myokardbiopsisch (und dabei dann nur immunhistologisch und mittels Virus-PCR-Diagnostik) gestellt werden.

Dabei konnte gezeigt werden, dass eine myokardiale Entzündung oft mit einer eingeschränkten Pumpfunktion einhergeht, dass sich im Verlauf die Pumpfunktion eines Drittels der Patienten klinisch relevant verschlechtert und dass die (noch nicht näher bekannten) Bedingungen, die zu einer eingeschränkten Pumpfunktion führen, offenbar bereits am Anfang der Erkrankung wirken. All dies spricht dafür, bereits frühzeitig nach Diagnose einer Herzinsuffizienz eine Klärung der Ursache durch Myokardbiopsieentnahme zu versuchen und nicht in einem späteren Stadium, in dem man möglicherweise nur noch unspezifische Reaktionen des Myokards und ausgedehnte Fibrosierungen nachweisen kann, die einer Therapie kaum noch zugänglich sind.

Seit Oktober 2007 liegen gemeinsame Empfehlungen der American Heart Association, des American College of Cardiology und der European Society of Cardiology vor, in denen erstmals Empfehlungen ausgesprochen werden, welche Patienten biopsiert werden sollten (Cooper et al., 2007).

Kurzgefasst wird hierin für zwei Konstellationen eindeutig eine Myokardbiopsieentnahme empfohlen (Klasse I –Indikation, Level of Evidence B), nämlich 1. für seit weniger als 2 Wochen neu aufgetretene Herzinsuffizienz mit hämodynamischer Einschränkung sowie 2. seit

weniger als 3 Monaten neu aufgetretene Herzinsuffizienz mit ventrikulären Arrhythmien, höhergradigen AV-Blockierungen oder therapierefraktären Symptomen.

Für weitere 6 Konstellationen besteht eine Klasse-IIa-Empfehlung, Level of Evidence C; diese umfassen 1. länger bestehende Herzinsuffizienz mit höhergradigen Herzrhythmusstörungen (s.o.), 2. vermutete allergische Reaktionen/Eosinophilie, 3. vermutete Anthrazyklintoxizität, 4. ungeklärte Restriktion, 5. vermutete kardiale Tumoren und 6. ungeklärte Kardiomyopathie bei Kindern.

Die meisten der in dieser Arbeit untersuchten Patienten gehören zur Gruppe mit Herzinsuffizienzzeichen seit über drei Monaten ohne schwerwiegende Arrhythmien; nach der oben angeführten Empfehlung wird für diese Patienten eine Klasse IIb-Empfehlung ausgesprochen, eine Myokardbiopsieentnahme durchzuführen.

Bei einem großen Teil der hier untersuchten Patienten konnte nur durch Myokardbiopsieentnahme die Diagnose einer viralen oder chronisch-entzündlichen Kardiomyopathie gesichert werden. Wenn man bedenkt, dass sich die LV-Funktion eines Drittels aller Patienten in kurzer Zeit verschlechterte (davon ein großer Teil mit Entzündung oder Virusinfektion), sollte alles getan werden, um eine behandelbare Ursache der Herzschwäche zu diagnostizieren.

Eine spezifische Therapie wird auch nach Untersuchung der Myokardbiopsien nicht immer möglich sein. Da aber insbesondere die Ergebnisse einer antiviralen Therapie bei Entero- und Adenovirusinfektion (Kuhl et al., 2003b) ermutigend sind, sollte diese Chance genutzt werden.

Noch offen ist die optimale Behandlung einer chronischen myokardialen Entzündung ohne Virusnachweis; bisherige Studien konnten kaum eine Besserung durch Kortikosteroide zeigen. Dies lag – wie in der Einleitung bereits ausgeführt – sicherlich an den Schwierigkeiten der histologischen Diagnose nach Dallas-Kriterien und am fehlenden Ausschluss einer myokardialen Viruspersistenz. Neuere Studien, in denen diese Probleme vermieden wurden, haben bessere Ergebnisse bezüglich der linksventrikulären Pumpfunktion (Frustaci et al., 2003), (Wojnicz et al., 2001).

Aber, wie in den Ergebnissen dieser Arbeit dargelegt, ist es möglicherweise nicht nur die myokardiale Entzündungspersistenz, die zu einem chronischen Myokardschaden führt, sondern es sind auch andere, teils noch unbekannte Ursachen denkbar (z.B. Virusinfektionen, Schädigung durch Zytokine, andere Autoimmunphänomene nach Myozytolyse, mechanische Überlastung mit Ausbildung von Fibrose). Demzufolge ist die chronische myokardiale Ent-

zündung möglicherweise häufig ein Symptom und nicht Ursache der Herzinsuffizienz, so dass eine antientzündliche Therapie zwar in einer Verminderung der Entzündung, nicht immer aber in einer Besserung der Myokardfunktion resultiert.

Auch um diese These zu belegen, müssten große (Biopsie)studien möglichst an Patienten in einem Frühstadium der Herzinsuffizienz durchgeführt werden.

4.7 Limitationen der Arbeit

Bei der vorgelegten Arbeit handelt es sich nicht um eine prospektive Studie mit genau definierten Ein- und Ausschlusskriterien, sondern um eine retrospektive Analyse eines Teiles der Patienten, die an unserer Klinik myokardbiopsiert wurden. Daher waren die eingeschlossenen Patienten sowohl bezüglich ihrer Beschwerden als auch ihrer Befunde heterogen. Es wurden nicht nur Patienten mit entweder „klinisch akuter Myokarditis“ oder (seit längerem bekannter) „Dilatativer Kardiomyopathie“ untersucht, sondern auch Patienten mit „Mischbildern“ bzw. uneindeutigen Beschwerden. Nicht von allen Patienten lagen vollständige Informationen über Beschwerdesymptomatik oder Virusstatus vor. Auch wurde nicht von vornherein festgelegt, welche Patienten erneut biopsiert werden sollten.

Andererseits wurden bei all diesen Patienten eine relevante KHK, ein relevantes Klappenvitium, ein Cor hypertensivum oder eine extrakardiale Ursache der Beschwerden ausgeschlossen, und die Beschwerden waren immerhin ausgeprägt genug, um sowohl Patienten als auch Hausärzte als auch die Ärzte unserer Klinik zu einer invasiven Untersuchung mit Entnahme von Myokardbiopsien unter der Verdachtsdiagnose einer entzündlichen Kardiomyopathie zu veranlassen. Auch sind gerade die Vielfalt und „Uneindeutigkeit“ der Symptome, unter der die untersuchten Patienten litten, im klinischen Alltag viel häufiger als der Lehrbuch-hafte klinische Verlauf einer Myokarditis; insofern ist dieses nicht-selektierte Patientenkollektiv realitätsnäher, als es unter kontrollierten Studienbedingungen zu erwarten wäre.

Die Tatsache, dass nicht alle Patienten zweimal im Verlauf biopsiert wurden, könnte eine Verschiebung im untersuchten Kollektiv zugunsten der Patienten mit schlechterer Pumpfunktion oder ausgeprägterer Entzündung bedeuten. Daher wurden die Analysen nicht nur an den 527 mindestens zweimal untersuchten Patienten durchgeführt, sondern (in Bezug auf die wichtigsten klinischen und apparativen Parameter) zusätzlich bei allen 5113 Patienten, denen Myokardbiopsien entnommen worden waren. Dabei bestätigten sich die wesentlichen Ergebnisse bis auf wenige Ausnahmen, zum Teil mit höherer Signifikanz.

Daher ist zu erwarten, dass auch der klinische Verlauf repräsentativ ist. Um dies zu zeigen, werden aktuell große prospektive Untersuchungen durchgeführt.

Für die weiteren Folgebiopsien lag eine gewisse Selektion (z.B. der Patienten mit höherer Entzündung) vor. Da aber anzunehmen ist, dass eher Patienten mit Beschwerden und/oder eingeschränkter Pumpfunktion mehr als zweimal biopsiert wurden, bedeutet dieser „bias“ letztlich auch, dass der klinische Verlauf im allgemeinen günstiger sein dürfte als hier gezeigt.

Die Untersuchung der diastolischen Pumpfunktion, die ebenso wichtig bei der Diagnostik der Herzinsuffizienz ist wie die systolische Pumpfunktion, wurde hier nur bei einem kleinen Teil der Patienten durchgeführt und daher nicht in die Auswertung aufgenommen. Über eine systematische Untersuchung der diastolischen Dysfunktion lassen sich möglicherweise Symptome wie beispielsweise Belastungsdyspnoe trotz guter systolischer Funktion oder sogar kardiale Dekompensationen erklären; eventuell liegt bei einem Teil der hier untersuchten Frauen, bei denen die EF nicht signifikant mit der NYHA-Klasse korreliert ist, eine diastolische Dysfunktion als Ursache einer eingeschränkten Belastbarkeit vor.

5 Zusammenfassung

Ziel der Arbeit: Anhand immunhistologischer Aufarbeitung von Herzmuskelbiopsien und Analyse der klinischen Symptome und Befunde wurden Herzmuskelerkrankungen (Myokarditis und Dilatative Kardiomyopathie) charakterisiert; dabei sollte insbesondere der klinische und immunhistologische Spontanverlauf dieser Erkrankungen untersucht werden. **Patienten:** Von 5113 myokardbiopsierten Patienten mit Verdacht auf Herzmuskelerkrankung wurden alle Patienten (n=527) ausgewählt, deren LV-EF mit zeitlichem Abstand mindestens zweimal katheterangiografisch bestimmt wurde. **Ergebnisse: Erstbiopsie:** 85% der Patienten hatten Luftnot bei Belastung (NYHA II-IV), 40% grippeartige Symptome zum Anamnesebeginn, 22% Fieber, 10% einen Perikarderguss. Bei $\frac{3}{4}$ dieser Patienten war die Pumpfunktion eingeschränkt (Median der EF 54%); und bei 63% war Virusgenom im Myokard nachweisbar. **Immunhistologisch** war die T-Lymphozyten-Zahl bei Patienten mit schlechterer Pumpfunktion signifikant höher; es bestand ein Zusammenhang zwischen EF und myokardialer Entzündung. Ab einer CD3-Zellzahl von 9 Zellen/mm² ließ sich eine klinisch relevante und statistisch signifikante schlechtere Pumpfunktion (EF 49,5% versus 55%) nachweisen. Die Expression der zellulären Adhäsionsmoleküle (CAM) korrelierte mit der Lymphozytenzahl; jedoch war der Zusammenhang der CAM-Expression mit der Pumpfunktion statistisch nicht signifikant. In der konventionellen Histologie wurde nur selten eine Myokarditis diagnostiziert: bei knapp 3% eine akute Myokarditis und bei knapp 5% eine borderline-Myokarditis. Immunhistologisch war in dieser kleinen Gruppe die Lymphozytenzahl deutlich höher (Median 10,6 Zellen/mm²). Atypische Angina pectoris war hingegen nicht mit einer myokardialen Entzündung assoziiert, ebenso wenig andere klinische Zeichen wie grippeartige Symptome zum Anamnesebeginn, Fieber zum Anamnesebeginn oder ein Perikarderguss. Auch Herzrhythmusstörungen traten bei myokardialer Entzündung nicht häufiger auf. T-Negativierungen korrelierten signifikant mit der Lymphozytenzahl und der CAM-Expression, andere EKG-Veränderungen wie ST-Strecken-Hebungen oder –Senkungen hingegen nicht. Virusinfektion: Ein Unterschied der myokardialen Entzündung zwischen Patienten ohne Virus, Patienten mit Enteroviren und Patienten mit Adenoviren ließ sich nicht finden; hingegen war die Zahl der Lymphozyten bei Patienten mit HHV6-Infektion deutlich niedriger; dies passt zur Beobachtung, dass manche Viren die Immunabwehr unterdrücken. Die Pumpfunktion der Patienten mit Adenoviren war (nicht signifikant) schlechter als die der übrigen Patienten. **Folgebiospien:** In den nach durchschnittlich 7 Monaten durchgeführten Verlaufskontrollen zeigten alle Lymphozytensubgruppen und die CAM-Expression im Myokard einen deutlichen und signifikanten Abfall. Die Pumpfunktion der Patienten mit Entzündung in der 1. Biopsie verbesser-

te sich signifikant deutlicher als ohne Entzündung (EF-Differenz 4,7% versus 1,6%). Vor allem die Patienten mit zunächst schlechter Pumpfunktion besserten sich; in der Gruppe mit 1.EF <45% stieg die EF um 8% von durchschnittlich 30,7% auf 38,7%. Bei einem Drittel aller Patienten verschlechterte sich jedoch die Pumpfunktion um >5%; als prognostisch ungünstige Konstellation dafür konnte eine Erhöhung von CD8-T-Zellen in der 1. Biopsie auf >5 Zellen/mm² und/oder eine Verstärkung von ICAM 1 interstitiell sowie eine CD3-Zellzahl von >20 Zellen/mm² ausfindig gemacht werden. Die Pumpfunktion bei Persistenz einer Entzündung in der 2. Biopsie war allerdings nicht schlechter als bei Ausheilung. Die LV-Funktion bei Virusbefall war sowohl zum Zeitpunkt der 1. als auch der 2. Biopsie durchschnittlich bei Adenoviren, HHV6 und Enteroviren schlechter als ohne Virusinfektion (nicht signifikant). Eine negative Auswirkung einer persistierenden Virusinfektion auf die Pumpfunktion konnte im untersuchten Zeitraum für Adenoviren und HHV6 nachgewiesen werden. 78 Pat. ohne immunmodulierende Therapie wurden im Verlauf erneut biopsiert; die EF stieg von 54,6 auf 56,4%. Die Zellzahlen in der Immunhistologie sanken von „eindeutig erhöht“ in der 1. Biopsie auf durchschnittlich normale Werte in der 3. Biopsie. Dies galt sowohl für Patienten mit guter als auch mit schlechter Pumpfunktion, wobei die Häufigkeit einer Virusbesiedelung des Myokards zwischen 2. und 3. Biopsie unverändert blieb. **Schlussfolgerungen:**

1. Eine immunhistologisch nachgewiesene hohe T-Zellzahl (=myokardiale Entzündung) korreliert mit einer niedrigeren EF. Andere klinische, anamnestische oder apparative Befunde lassen keine Rückschlüsse auf eine myokardiale Entzündung zu, sodass zur Diagnosesicherung meist nur eine Myokardbiopsieentnahme mit immunhistologischer Aufarbeitung sinnvoll ist. Als Grenzwert für eine klinisch relevante Entzündung scheint der Nachweis von >9 CD3-Zellen/mm² gut geeignet; der Erhöhung der interstitiellen ICAM-Expression und der CD8-Zellzahl kommt dabei eine besondere prognostische Bedeutung zu. Die CAM-Expression alleine erscheint nicht ausreichend zur Diagnose „Myokarditis“, sie reduziert aber in Kombination mit den Lymphozyten den „sampling error“.
2. Eine myokardiale Entzündung heilt meist auch ohne Therapie aus (teils erst nach längerer Zeit); und die Pumpfunktion bessert sich oft im Verlauf. Dies spricht dafür, dass es aufgrund einer Myokarditis häufig zunächst zu einer Myokardschädigung kommt, die reversibel sein kann. Insbesondere bei sehr starker Entzündung (>20 CD3-Zellen/mm²) oder Erhöhung bestimmter Marker kommt es allerdings trotz Ausheilung der Entzündung im Verlauf nicht zu einer vollständigen Erholung, teilweise schon innerhalb von 6 Monaten sogar zu einer Verschlechterung der Pumpfunktion.
3. Die Persistenz einer Adenovirus- oder HHV6-Infektion geht mit einer Verschlechterung der Pumpfunktion einher, nicht hingegen eine persistierende PVB19-Infektion.

6 Literaturverzeichnis

- Angelini, A., Calzolari, V., Calabrese, F., Boffa, G. M., Maddalena, F., Chioin, R., and Thiene, G. (2000). Myocarditis mimicking acute myocardial infarction: role of endomyocardial biopsy in the differential diagnosis. *Heart* **84**, 245-50.
- Archard, L. C., Richardson, P. J., Olsen, E. G., Dubowitz, V., Sewry, C., and Bowles, N. E. (1987). The role of Coxsackie B viruses in the pathogenesis of myocarditis, dilated cardiomyopathy and inflammatory muscle disease. *Biochem Soc Symp* **53**, 51-62.
- Aretz, H. T. (1987). Myocarditis: the Dallas criteria. *Hum Pathol* **18**, 619-24.
- Baboonian, C., Davies, M. J., Booth, J. C., and McKenna, W. J. (1997). Coxsackie B viruses and human heart disease. *Curr Top Microbiol Immunol* **223**, 31-52.
- Baboonian, C., and Treasure, T. (1997). Meta-analysis of the association of enteroviruses with human heart disease. *Heart* **78**, 539-43.
- Badorff, C., and Knowlton, K. U. (2004). Dystrophin disruption in enterovirus-induced myocarditis and dilated cardiomyopathy: from bench to bedside. *Med Microbiol Immunol (Berl)* **193**, 121-6.
- Barbaro, G., and Lipshultz, S. E. (2001). Pathogenesis of HIV-associated cardiomyopathy. *Ann N Y Acad Sci* **946**, 57-81.
- Bergelson, J. M., Cunningham, J. A., Droguett, G., Kurt-Jones, E. A., Krithivas, A., Hong, J. S., Horwitz, M. S., Crowell, R. L., and Finberg, R. W. (1997). Isolation of a common receptor for Coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science* **275**, 1320-3.
- Bergelson, J. M., Krithivas, A., Celi, L., Droguett, G., Horwitz, M. S., Wickham, T., Crowell, R. L., and Finberg, R. W. (1998). The murine CAR homolog is a receptor for coxsackie B viruses and adenoviruses. *J Virol* **72**, 415-9.
- Billingham, M. (1987). Acute myocarditis: a diagnostic dilemma. *Br Heart J* **58**, 6-8.
- Bowles, N. E., Ni, J., Kearney, D. L., Pauschinger, M., Schultheiss, H. P., McCarthy, R., Hare, J., Bricker, J. T., Bowles, K. R., and Towbin, J. A. (2003). Detection of viruses in myocardial tissues by polymerase chain reaction. evidence of adenovirus as a common cause of myocarditis in children and adults. *J Am Coll Cardiol* **42**, 466-72.
- Bowles, N. E., Richardson, P. J., Olsen, E. G., and Archard, L. C. (1986). Detection of Coxsackie-B-virus-specific RNA sequences in myocardial biopsy samples from patients with myocarditis and dilated cardiomyopathy. *Lancet* **1**, 1120-3.
- Bultmann, B. D., Klingel, K., Sotlar, K., Bock, C. T., and Kandolf, R. (2003). Parvovirus B19: a pathogen responsible for more than hematologic disorders. *Virchows Arch* **442**, 8-17.
- Caforio, A. L., Bonifacio, E., Stewart, J. T., Neglia, D., Parodi, O., Bottazzo, G. F., and McKenna, W. J. (1990). Novel organ-specific circulating cardiac autoantibodies in dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* **15**, 1527-34.
- Caforio, A. L., Mahon, N. G., and McKenna, W. J. (2006). Clinical implications of anti-cardiac immunity in dilated cardiomyopathy. *Ernst Schering Res Found Workshop*, 169-93.
- Cappola, T. P., Felker, G. M., Kao, W. H., Hare, J. M., Baughman, K. L., and Kasper, E. K. (2002). Pulmonary hypertension and risk of death in cardiomyopathy: patients with myocarditis are at higher risk. *Circulation* **105**, 1663-8.
- Carlquist, J. F., Menlove, R. L., Murray, M. B., O'Connell, J. B., and Anderson, J. L. (1991). HLA class II (DR and DQ) antigen associations in idiopathic dilated cardiomyopathy. Validation study and meta-analysis of published HLA association studies. *Circulation* **83**, 515-22.

- Chow, L. H., Radio, S. J., Sears, T. D., and McManus, B. M. (1989). Insensitivity of right ventricular endomyocardial biopsy in the diagnosis of myocarditis. *J Am Coll Cardiol* **14**, 915-20.
- Cooper, L. T., Baughman, K., Feldman, A., Frustaci, A., Jessup, M., Kühl, U., Levine, G. N., Narula, J., Starling, R. C., Towbin, J., and Virmani, J. (2007). AHA/ACC/ESC Joint Scientific Statement: The Role of Endomyocardial Biopsy in the Management of Cardiovascular Disease. *Circulation* **107**, in press.
- Cooper, L. T., Jr., Berry, G. J., and Shabetai, R. (1997). Idiopathic giant-cell myocarditis--natural history and treatment. Multicenter Giant Cell Myocarditis Study Group Investigators. *N Engl J Med* **336**, 1860-6.
- D'Ambrosio, A., Patti, G., Manzoli, A., Sinagra, G., Di Lenarda, A., Silvestri, F., and Di Sciascio, G. (2001). The fate of acute myocarditis between spontaneous improvement and evolution to dilated cardiomyopathy: a review. *Heart* **85**, 499-504.
- Dec, G. W., Jr., Waldman, H., Southern, J., Fallon, J. T., Hutter, A. M., Jr., and Palacios, I. (1992). Viral myocarditis mimicking acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* **20**, 85-9.
- Dec, G. W., Palacios, I., Yasuda, T., Fallon, J. T., Khaw, B. A., Strauss, H. W., and Haber, E. (1990). Antimyosin antibody cardiac imaging: its role in the diagnosis of myocarditis. *J Am Coll Cardiol* **16**, 97-104.
- Deswal, A., Petersen, N. J., Feldman, A. M., Young, J. B., White, B. G., and Mann, D. L. (2001). Cytokines and Cytokine Receptors in Advanced Heart Failure : An Analysis of the Cytokine Database from the Vesnarinone Trial (VEST). *Circulation* **103**, 2055-2059.
- Di Cesare, E. (2001). MRI of the cardiomyopathies. *Eur J Radiol* **38**, 179-84.
- Dockrell, D. H. (2003). Human herpesvirus 6: molecular biology and clinical features. *J Med Microbiol* **52**, 5-18.
- Drory, Y., Turetz, Y., Hiss, Y., Lev, B., Fisman, E. Z., Pines, A., and Kramer, M. R. (1991). Sudden unexpected death in persons less than 40 years of age. *Am J Cardiol* **68**, 1388-92.
- Elliott, P., Andersson, B., Arbustini, E., Bilinska, Z., Cecchi, F., Charron, P., Dubourg, O., Kuhl, U., Maisch, B., McKenna, W. J., Monserrat, L., Pankuweit, S., Rapezzi, C., Seferovic, P., Tavazzi, L., and Keren, A. (2007). Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the european society of cardiology working group on myocardial and pericardial diseases. *Eur Heart J*.
- Fairweather, D., Frisancho-Kiss, S., and Rose, N. R. (2005). Viruses as adjuvants for autoimmunity: evidence from Coxsackievirus-induced myocarditis. *Rev Med Virol* **15**, 17-27.
- Felker, G. M., Thompson, R. E., Hare, J. M., Hruban, R. H., Clemetson, D. E., Howard, D. L., Baughman, K. L., and Kasper, E. K. (2000). Underlying causes and long-term survival in patients with initially unexplained cardiomyopathy. *N Engl J Med* **342**, 1077-84.
- Finkel, M. S., Oddis, C. V., Jacob, T. D., Watkins, S. C., Hattler, B. G., and Simmons, R. L. (1992). Negative inotropic effects of cytokines on the heart mediated by nitric oxide. *Science* **257**, 387-9.
- Fowles, R. E., and Mason, J. W. (1982). Endomyocardial biopsy. *Ann Intern Med* **97**, 885-94.
- Friedrich, M. G., Strohm, O., Schulz-Menger, J., Marciniak, H., Luft, F. C., and Dietz, R. (1998). Contrast media-enhanced magnetic resonance imaging visualizes myocardial changes in the course of viral myocarditis. *Circulation* **97**, 1802-9.
- Frustaci, A., Chimenti, C., Calabrese, F., Pieroni, M., Thiene, G., and Maseri, A. (2003). Immunosuppressive therapy for active lymphocytic myocarditis: virological and immunologic profile of responders versus nonresponders. *Circulation* **107**, 857-63.

- Frustaci, A., Pieroni, M., and Chimenti, C. (2002). The role of endomyocardial biopsy in the diagnosis of cardiomyopathies. *Ital Heart J* **3**, 348-53.
- Fuse, K., Kodama, M., Okura, Y., Ito, M., Hirono, S., Kato, K., Hanawa, H., and Aizawa, Y. (2000). Predictors of disease course in patients with acute myocarditis. *Circulation* **102**, 2829-35.
- Gauntt, C. J., Arizpe, H. M., Higdon, A. L., Wood, H. J., Bowers, D. F., Rozek, M. M., and Crawley, R. (1995). Molecular mimicry, anti-coxsackievirus B3 neutralizing monoclonal antibodies, and myocarditis. *J Immunol* **154**, 2983-95.
- Gore, I., and Saphir, D. (1947). Myocarditis: A classification of 1402 cases. *Am Heart J* **34**, 827.
- Grabie, N., Delfs, M. W., Westrich, J. R., Love, V. A., Stavrakis, G., Ahmad, F., Seidman, C. E., Seidman, J. G., and Lichtman, A. H. (2003). IL-12 is required for differentiation of pathogenic CD8⁺ T cell effectors that cause myocarditis. *J Clin Invest* **111**, 671-80.
- Grasso, M., Arbustini, E., Silini, E., Diegoli, M., Percivalle, E., Ratti, G., Bramerio, M., Gavazzi, A., Viganò, M., and Milanese, G. (1992). Search for Coxsackievirus B3 RNA in idiopathic dilated cardiomyopathy using gene amplification by polymerase chain reaction. *Am J Cardiol* **69**, 658-64.
- Grunig, E., Tasman, J. A., Kucherer, H., Franz, W., Kubler, W., and Katus, H. A. (1998). Frequency and phenotypes of familial dilated cardiomyopathy [see comments]. *J Am Coll Cardiol* **31**, 186-94.
- Halsell, J. S., Riddle, J. R., Atwood, J. E., Gardner, P., Shope, R., Poland, G. A., Gray, G. C., Ostroff, S., Eckart, R. E., Hospenthal, D. R., Gibson, R. L., Grabenstein, J. D., Arness, M. K., and Tornberg, D. N. (2003). Myopericarditis following smallpox vaccination among vaccinia-naïve US military personnel. *Jama* **289**, 3283-9.
- Hauck, A. J., Kearney, D. L., and Edwards, W. D. (1989). Evaluation of postmortem endomyocardial biopsy specimens from 38 patients with lymphocytic myocarditis: implications for role of sampling error. *Mayo Clin Proc* **64**, 1235-45.
- Heim, A., Grumbach, I., Pring-Akerblom, P., Stille-Siegener, M., Müller, G., Kandolf, R., and Figulla, H. R. (1997). Inhibition of coxsackievirus B3 carrier state infection of cultured human myocardial fibroblasts by ribavirin and human natural interferon-alpha. *Antiviral Res* **34**, 101-11.
- Henke, A., Huber, S., Stelzner, A., and Whitton, J. L. (1995). The role of CD8⁺ T lymphocytes in coxsackievirus B3-induced myocarditis. *J Virol* **69**, 6720-8.
- Herskowitz, A., Campbell, S., Deckers, J., Kasper, E. K., Boehmer, J., Hadian, D., Neumann, D. A., and Baughman, K. L. (1993). Demographic features and prevalence of idiopathic myocarditis in patients undergoing endomyocardial biopsy. *Am J Cardiol* **71**, 982-6.
- Horwitz, M. S., La Cava, A., Fine, C., Rodriguez, E., Ilic, A., and Sarvetnick, N. (2000). Pancreatic expression of interferon-gamma protects mice from lethal coxsackievirus B3 infection and subsequent myocarditis. *Nat Med* **6**, 693-7.
- Huber, S. A., Lyden, D. C., and Lodge, P. A. (1985). Immunopathogenesis of experimental Coxsackievirus induced myocarditis: role of autoimmunity. *Herz* **10**, 1-7.
- Jin, O., Sole, M. J., Butany, J. W., Chia, W. K., McLaughlin, P. R., Liu, P., and Liew, C. C. (1990a). Detection of enterovirus RNA in myocardial biopsies from patients with myocarditis and cardiomyopathy using gene amplification by polymerase chain reaction. *Circulation* **82**, 8-16.
- Jin, O., Sole, M. J., Butany, J. W., Chia, W. K., McLaughlin, P. R., Liu, P., and Liew, C. C. (1990b). Detection of enterovirus RNA in myocardial biopsies from patients with myocarditis and cardiomyopathy using gene amplification by polymerase chain reaction [see comments]. *Circulation* **82**, 8-16.

- Kandolf, R. (2004). [Virus etiology of inflammatory cardiomyopathy]. *Dtsch Med Wochenschr* **129**, 2187-92.
- Kandolf, R., Canu, A., and Hofschneider, P. H. (1985). Coxsackie B3 virus can replicate in cultured human foetal heart cells and is inhibited by interferon. *J Mol Cell Cardiol* **17**, 167-81.
- Karjalainen, J., and Heikkila, J. (1999). Incidence of three presentations of acute myocarditis in young men in military service. A 20-year experience. *Eur Heart J* **20**, 1120-5.
- Klein, R. M., Schwartzkopff, B., and Strauer, B. E. (1998). Evidence of endothelial dysfunction of epicardial coronary arteries in patients with immunohistochemically proven myocarditis. *Am Heart J* **136**, 389-97.
- Klingel, K., Selinka, H. C., Sauter, M., Bock, C. T., Szalay, G., and Kandolf, R. (2002). Molecular mechanisms in enterovirus and parvovirus B19 myocarditis and inflammatory cardiomyopathy. *Eur Heart J* **4**, 8-12.
- Knowlton, K. U., and Badorff, C. (1999). The immune system in viral myocarditis: maintaining the balance. *Circ Res* **85**, 559-61.
- Konno, S., Sekiguchi, M., and Sakakibara, S. (1971). Catheter biopsy of the heart. *Radiol Clin North Am* **9**, 491-510.
- Kuhl, U., Daun, B., Seeberg, B., Schultheiss, H. P., and Strauer, B. E. (1992). [Dilated cardiomyopathy--a chronic myocarditis? Immunohistological characterization of lymphocytic infiltrates]. *Herz* **17**, 97-106.
- Kuhl, U., Noutsias, M., Seeberg, B., and Schultheiss, H. P. (1996). Immunohistological evidence for a chronic intramyocardial inflammatory process in dilated cardiomyopathy. *Heart* **75**, 295-300.
- Kuhl, U., Pauschinger, M., Bock, T., Klingel, K., Schwimmbeck, C. P., Seeberg, B., Krautwurm, L., Poller, W., Schultheiss, H. P., and Kandolf, R. (2003a). Parvovirus B19 infection mimicking acute myocardial infarction. *Circulation* **108**, 945-50.
- Kuhl, U., Pauschinger, M., Noutsias, M., Seeberg, B., Bock, T., Lassner, D., Poller, W., Kandolf, R., and Schultheiss, H. P. (2005). High prevalence of viral genomes and multiple viral infections in the myocardium of adults with "idiopathic" left ventricular dysfunction. *Circulation* **111**, 887-93.
- Kuhl, U., Pauschinger, M., and Schultheiss, H. P. (1997). [New concepts in the diagnosis of inflammatory myocardial disease]. *Dtsch Med Wochenschr* **122**, 690-8.
- Kuhl, U., Pauschinger, M., Schwimmbeck, P. L., Seeberg, B., Lober, C., Noutsias, M., Poller, W., and Schultheiss, H. P. (2003b). 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**, 2793-8.
- Kühl, U., Pauschinger, M., Seeberg, B., Lassner, D., Noutsias, M., Poller, W., and Schultheiss, H. P. (2005). Viral persistence in the myocardium is associated with progressive cardiac dysfunction. *Circulation* **112**, 1965-70.
- Kuhl, U., and Schultheiss, H. P. (1995). Treatment of chronic myocarditis with corticosteroids. *Eur Heart J* **16**, 168-72.
- Lambert, E. C., Menon, V. A., Wagner, H. R., and Vlad, P. (1974). Sudden unexpected death from cardiovascular disease in children. A cooperative international study. *Am J Cardiol* **34**, 89-96.
- Larsson, E., Wesslen, L., Lindquist, O., Baandrup, U., Eriksson, L., Olsen, E., Rolf, C., and Friman, G. (1999). Sudden unexpected cardiac deaths among young Swedish orienteers--morphological changes in hearts and other organs. *Apmis* **107**, 325-36.
- Lauer, B., Niederau, C., Kuhl, U., Schannwell, M., Pauschinger, M., Strauer, B. E., and Schultheiss, H. P. (1997). Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol* **30**, 1354-9.

- Limas, C., Limas, C. J., Boudoulas, H., Graber, H., Bair, R., Sparks, L., and Wooley, C. F. (1992). T-cell receptor gene polymorphisms in familial cardiomyopathy: correlation with anti-beta-receptor autoantibodies. *Am Heart J* **124**, 1258-63.
- Limas, C. J., Goldenberg, I. F., and Limas, C. (1989). Autoantibodies against beta-adrenoceptors in human idiopathic dilated cardiomyopathy. *Circ Res* **64**, 97-103.
- Magnani, J. W., Danik, H. J., Dec, G. W., Jr., and DiSalvo, T. G. (2006). Survival in biopsy-proven myocarditis: a long-term retrospective analysis of the histopathologic, clinical, and hemodynamic predictors. *Am Heart J* **151**, 463-70.
- Mahon, N. G., Hamid, S., and McKenna, W. J. (2000). Prevalence and natural history of dilated cardiomyopathy. *Int J Cardiol* **75**, 158-9.
- Mahon, N. G., Zal, B., Arno, G., Risley, P., Pinto-Basto, J., McKenna, W. J., Davies, M. J., and Baboonian, C. (2001). Absence of viral nucleic acids in early and late dilated cardiomyopathy. *Heart* **86**, 687-92.
- Mahrholdt, H., Goedecke, C., Wagner, A., Meinhardt, G., Athanasiadis, A., Vogelsberg, H., Fritz, P., Klingel, K., Kandolf, R., and Sechtem, U. (2004). Cardiovascular Magnetic Resonance Assessment of Human Myocarditis. A Comparison to Histology and Molecular Pathology. *Circulation*.
- Maisch, B. (1999). Myokardbiopsien und Perikardioskopien. In "Herzkatheter, Einsatz in Diagnostik und Therapie" (O. M. Hess and R. W. Simon, eds.), pp. 309-49. Springer, Berlin-Heidelberg-New York.
- Maisch, B., Portig, I., Ristic, A., Hufnagel, G., and Pankuweit, S. (2000). Definition of inflammatory cardiomyopathy (myocarditis): on the way to consensus. A status report. *Herz* **25**, 200-9.
- Maisch, B., Ristic, A. D., Portig, I., and Pankuweit, S. (2003). Human viral cardiomyopathy. *Front Biosci* **8**, s39-67.
- Maron, B. J., Towbin, J., G, T., Antzelevitch, C., Corrado, D., Amett, D., Moss, A. J., Seidman, C. E., and Young, J. B. (2006). Contemporary definitions and classification of cardiomyopathies. *Circulation* **113**, 1807-1816.
- Mason, J. W., O'Connell, J. B., Herskowitz, A., Rose, N. R., McManus, B. M., Billingham, M. E., and Moon, T. E. (1995). A clinical trial of immunosuppressive therapy for myocarditis. The Myocarditis Treatment Trial Investigators. *N Engl J Med* **333**, 269-75.
- Matsumori, A. (1996). Cytokines in myocarditis and cardiomyopathies. *Curr Opin Cardiol* **11**, 302-9.
- Matsumori, A., Matoba, Y., and Sasayama, S. (1995). Dilated cardiomyopathy associated with hepatitis C virus infection. *Circulation* **92**, 2519-25.
- Matsumori, A., Yutani, C., Ikeda, Y., Kawai, S., and Sasayama, S. (2000). Hepatitis C virus from the hearts of patients with myocarditis and cardiomyopathy. *Lab Invest* **80**, 1137-42.
- McCarthy, R. E., 3rd, Boehmer, J. P., Hruban, R. H., Hutchins, G. M., Kasper, E. K., Hare, J. M., and Baughman, K. L. (2000). Long-term outcome of fulminant myocarditis as compared with acute (nonfulminant) myocarditis. *N Engl J Med* **342**, 690-5.
- McKenna, C. J., Codd, M. B., McCann, H. A., and Sugrue, D. D. (1997). Idiopathic dilated cardiomyopathy: familial prevalence and HLA distribution. *Heart* **77**, 549-52.
- McNamara, D. M., Holubkov, R., Starling, R. C., Dec, G. W., Loh, E., Torre-Amione, G., Gass, A., Janosko, K., Tokarczyk, T., Kessler, P., Mann, D. L., and Feldman, A. M. (2001). Controlled trial of intravenous immune globulin in recent-onset dilated cardiomyopathy. *Circulation* **103**, 2254-9.
- Milei, J., Bortman, G., Fernandez-Alonso, G., Grancelli, H., and Beigelman, R. (1990). Immunohistochemical staining of lymphocytes for the reliable diagnosis of myocarditis in endomyocardial biopsies. *Cardiology* **77**, 77-85.

- Muir, P., Nicholson, F., Illavia, S. J., McNeil, T. S., Ajetunmobi, J. F., Dunn, H., Starkey, W. G., Reetoo, K. N., Cary, N. R., Parameshwar, J., and Banatvala, J. E. (1996). Serological and molecular evidence of enterovirus infection in patients with end-stage dilated cardiomyopathy. *Heart* **76**, 243-9.
- Noutsias, M., Pauschinger, M., Ostermann, K., Escher, F., Blohm, J. H., Schultheiss, H., and Kuhl, U. (2002a). Digital image analysis system for the quantification of infiltrates and cell adhesion molecules in inflammatory cardiomyopathy. *Med Sci Monit* **8**, MT59-71.
- Noutsias, M., Pauschinger, M., Schultheiss, H., and Kuhl, U. (2002b). Phenotypic characterization of infiltrates in dilated cardiomyopathy - diagnostic significance of T-lymphocytes and macrophages in inflammatory cardiomyopathy. *Med Sci Monit* **8**, CR478-87.
- Noutsias, M., Seeberg, B., Schultheiss, H. P., and Kuhl, U. (1999). Expression of cell adhesion molecules in dilated cardiomyopathy: evidence for endothelial activation in inflammatory cardiomyopathy. *Circulation* **99**, 2124-31.
- Olbrich, H. G. (2001). [Epidemiology-etiology of dilated cardiomyopathy]. *Z Kardiol* **90 Suppl 1**, 2-9.
- Olsen, E. G. (1985). The role of biopsy in the diagnosis of myocarditis. *Herz* **10**, 21-6.
- Osterziel, K. J., Scheffold, T., Perrot, A., and Dietz, R. (2001). [Genetics of dilated cardiomyopathy]. *Z Kardiol* **90**, 461-9.
- Pankuweit, S., Moll, R., Baandrup, U., Portig, I., Hufnagel, G., and Maisch, B. (2003). Prevalence of the parvovirus B19 genome in endomyocardial biopsy specimens. *Hum Pathol* **34**, 497-503.
- Parrillo, J. E., Cunnion, R. E., Epstein, S. E., Parker, M. M., Suffredini, A. F., Brenner, M., Schaer, G. L., Palmeri, S. T., Cannon, R. O., 3rd, Alling, D., and et al. (1989). A prospective, randomized, controlled trial of prednisone for dilated cardiomyopathy. *N Engl J Med* **321**, 1061-8.
- Pauschinger, M., Bowles, N. E., Fuentes-Garcia, F. J., Pham, V., Kuhl, U., Schwimmbeck, P. L., Schultheiss, H. P., and Towbin, J. A. (1999a). Detection of adenoviral genome in the myocardium of adult patients with idiopathic left ventricular dysfunction. *Circulation* **99**, 1348-54.
- Pauschinger, M., Doerner, A., Kuehl, U., Schwimmbeck, P. L., Poller, W., Kandolf, R., and Schultheiss, H. P. (1999b). Enteroviral RNA replication in the myocardium of patients with left ventricular dysfunction and clinically suspected myocarditis. *Circulation* **99**, 889-95.
- Richardson, P., McKenna, W., Bristow, M., Maisch, B., Mautner, B., O'Connell, J., Olsen, E., Thiene, G., Goodwin, J., Gyarfas, I., Martin, I., and Nordet, P. (1996). Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation* **93**, 841-2.
- Rohayem, J., Dinger, J., Fischer, R., Klingel, K., Kandolf, R., and Rethwilm, A. (2001). Fatal myocarditis associated with acute parvovirus B19 and human herpesvirus 6 coinfection. *J Clin Microbiol* **39**, 4585-7.
- Sakakibara, S., and Konno, S. (1962). Endomyocardial biopsy. *Jpn Heart J* **3**, 537-43.
- Sakakibara, S., and Konno, S. (1967). [Symposium on biopsy in the field of internal medicine. (7) Endomyocardial biopsy]. *Nippon Naika Gakkai Zasshi* **56**, 1228-9.
- Schowengerdt, K. O., Ni, J., Denfield, S. W., Gajarski, R. J., Bowles, N. E., Rosenthal, G., Kearney, D. L., Price, J. K., Rogers, B. B., Schauer, G. M., Chinnock, R. E., and Towbin, J. A. (1997). Association of parvovirus B19 genome in children with myocarditis and cardiac allograft rejection: diagnosis using the polymerase chain reaction. *Circulation* **96**, 3549-54.

- Schultheiss, H. P. (1992). Dysfunction of the ADP/ATP carrier as a causative factor for the disturbance of the myocardial energy metabolism in dilated cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol* **87**, 311-20.
- Schwimmbeck, P. L., Rohn, G., Wrusch, A., Schulze, K., Doerner, A., Kuehl, U., Tschoepe, C., Pauschinger, M., and Schultheiss, H. P. (2000). Enteroviral and immune mediated myocarditis in SCID mice. *Herz* **25**, 240-4.
- Seko, Y., Matsuda, H., Kato, K., Hashimoto, Y., Yagita, H., Okumura, K., and Yazaki, Y. (1993). Expression of intercellular adhesion molecule-1 in murine hearts with acute myocarditis caused by coxsackievirus B3. *J Clin Invest* **91**, 1327-36.
- Shirali, G. S., Ni, J., Chinnock, R. E., Johnston, J. K., Rosenthal, G. L., Bowles, N. E., and Towbin, J. A. (2001). Association of viral genome with graft loss in children after cardiac transplantation. *N Engl J Med* **344**, 1498-503.
- Staudt, A., Mobini, R., Fu, M., Grosse, Y., Stangl, V., Stangl, K., Thiele, A., Baumann, G., and Felix, S. B. (2001). beta(1)-adrenoceptor antibodies induce positive inotropic response in isolated cardiomyocytes. *Eur J Pharmacol* **423**, 115-9.
- Strauer, B. E., Kandolf, R., Mall, G., Maisch, B., Mertens, T., Schwartzkopff, B., and Schultheiss, H. P. (1996). Myocarditis--cardiomyopathy. Consensus Report of the German Association for Internal Medicine, presented at the 100th annual meeting, Wiesbaden, 13 April 1994. *Acta Cardiol* **51**, 347-71.
- Sugrue, D. D., Rodeheffer, R. J., Codd, M. B., Ballard, D. J., Fuster, V., and Gersh, B. J. (1992). The clinical course of idiopathic dilated cardiomyopathy. A population-based study. *Ann Intern Med* **117**, 117-23.
- Theleman, K. P., Kuiper, J. J., and Roberts, W. C. (2001). Acute myocarditis (predominately lymphocytic) causing sudden death without heart failure. *Am J Cardiol* **88**, 1078-83.
- Torre-Amione, G., Kapadia, S., Benedict, C., Oral, H., Young, J. B., and Mann, D. L. (1996). Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* **27**, 1201-6.
- Tschoepe, C., Bock, C. T., Kasner, M., Noutsias, M., Westermann, D., Schwimmbeck, P. L., Pauschinger, M., Poller, W. C., Kuhl, U., Kandolf, R., and Schultheiss, H. P. (2005). High prevalence of cardiac parvovirus B19 infection in patients with isolated left ventricular diastolic dysfunction. *Circulation* **111**, 879-86.
- Vallbracht, K. B., Schwimmbeck, P. L., Seeberg, B., Kuhl, U., and Schultheiss, H. P. (2002). Endothelial dysfunction of peripheral arteries in patients with immunohistologically confirmed myocardial inflammation correlates with endothelial expression of human leukocyte antigens and adhesion molecules in myocardial biopsies. *J Am Coll Cardiol* **40**, 515-20.
- Why, H. J., Meany, B. T., Richardson, P. J., Olsen, E. G., Bowles, N. E., Cunningham, L., Freeke, C. A., and Archard, L. C. (1994). Clinical and prognostic significance of detection of enteroviral RNA in the myocardium of patients with myocarditis or dilated cardiomyopathy. *Circulation* **89**, 2582-9.
- Wojnicz, R., Nowalany-Kozielska, E., Wodniecki, J., Szczurek-Katanski, K., Nozynski, J., Zembala, M., and Rozek, M. M. (1998). Immunohistological diagnosis of myocarditis. Potential role of sarcolemmal induction of the MHC and ICAM-1 in the detection of autoimmune mediated myocyte injury. *Eur Heart J* **19**, 1564-72.
- Wojnicz, R., Nowalany-Kozielska, E., Wojciechowska, C., Glanowska, G., Wilczewski, P., Niklewski, T., Zembala, M., Polo, nacute, ski, L., Rozek, M. M., and Wodniecki, J. (2001). Randomized, Placebo-Controlled Study for Immunosuppressive Treatment of Inflammatory Dilated Cardiomyopathy : Two-Year Follow-Up Results. *Circulation* **104**, 39-45.

- Woodruff, J. F., and Woodruff, J. J. (1974). Involvement of T lymphocytes in the pathogenesis of coxsackie virus B3 heart disease. *J Immunol* **113**, 1726-34.
- Yamada, T., Matsumori, A., and Sasayama, S. (1994). Therapeutic effect of anti-tumor necrosis factor-alpha antibody on the murine model of viral myocarditis induced by encephalomyocarditis virus. *Circulation* **89**, 846-51.

7 Danksagungen

Herrn Prof. Dr. H.-P. Schultheiss danke ich für die Überlassung des Themas, die Arbeitsmöglichkeiten in seinem Labor und seine Geduld.

Ganz besonders danke ich Herrn Dr. Uwe Kühl für seine Unterstützung in allen praktischen Fragen, seine unermüdliche Bereitschaft zur Diskussion, seine Begeisterung für alle neuen Ideen und seine Fähigkeit, aus jeder unerwarteten Beobachtung ein neues Konzept zu entwickeln!

Im Labor hat Herr Georg Zingler sorgfältig und geschickt Schnitte angefertigt und gefärbt; darüber hinaus war er immer ein netter Gesprächspartner. Vielen Dank!

Herrn Dr. Martin Püschel danke ich für Aufmunterung und sein gutes Vorbild.

Und zu guter Letzt möchte ich mich bei meiner Familie bedanken:
bei meinen Eltern, weil sie mir kritisches Denken, aber auch Mitgefühl für Hilfsbedürftige nahebrachten und mir eine gute Ausbildung ermöglichten,
und bei meinen Söhnen Martin und Moritz, die mir computertechnisch geholfen und geduldig das Ende dieser Arbeit erwartet haben.

8 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Erklärung

„Ich, Bettina Seeberg, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Klinischer Verlauf und immunhistologische Befunde von Patienten mit Verdacht auf entzündliche Kardiomyopathie“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

Datum

Unterschrift