

Aus dem  
CharitéCentrum11 Herz-, Kreislauf und Gefäßmedizin  
Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie, Campus Virchow Klinikum  
Direktor: Professor Dr. Burkert Pieske

## **Habilitationsschrift**

# **Pathophysiologie und Diagnostik von Myokarditis und inflammatorischer Kardiomyopathie**

zur Erlangung der Lehrbefähigung  
für das Fach Innere Medizin und Kardiologie

vorgelegt dem Fakultätsrat der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Dr. med. Felicitas Escher

Eingereicht: April 2015  
Dekan: Prof. Dr. med. Axel R. Pries  
1. Gutachter: Prof. Dr. Roland Jahns  
2. Gutachter: Prof. Dr. Rolf Wachter

**Inhaltsverzeichnis**

Abkürzungen	4
<b>1. Einleitung</b>	<b>5</b>
1.1. Definition und klinischer Verlauf	5
1.2. Ätiologie	6
1.3. Pathophysiologische Aspekte und Prognose	7
1.4. Diagnostik	9
1.4.1. Nichtinvasive Bildgebung	9
1.4.2. Endomyokardbiopsie	9
1.5. Fragestellung und Zielsetzung	11
<b>2. Ergebnisse (Eigene Arbeiten)</b>	<b>12</b>
2.1. Entwicklung einer diastolischen Herzinsuffizienz in Patienten nach stattgehabter akuter Myokarditis	12
2.2. Fraktalkine bei inflammatorischer Kardiomyopathie	19
2.3. Der Nachweis von Perforin in Endomyokardbiopsien bei Patienten mit inflammatorischer Kardiomyopathie ist prädiktiver Marker für schlechtes Outcome	27
2.4. Neue echokardiographische Parameter in der Diagnostik der akuten Myokarditis und inflammatorischen Kardiomyopathie	35
2.5. Analyse von rechts- vs. linksventrikulärer Endomyokardbiopsie in Patienten mit Verdacht auf Myokarditis	45
<b>3. Diskussion</b>	<b>49</b>
3.1. Verlauf	49
3.2. Neue Erkenntnisse zur Pathophysiologie der viralen Myokarditis	50
3.3. Neue Erkenntnisse zur Autoimmunmyokarditis	51
3.4. Neue Erkenntnisse zur Diagnostik	52
<b>4. Zusammenfassung</b>	<b>54</b>
<b>5. Literaturangaben</b>	<b>56</b>

<b>Danksagung</b>	62
<b>Eidesstattliche Erklärung</b>	64

**Abkürzungen:**

AMC	Akute Myokarditis
BNP	Brain natriuretic peptide
CMi	Inflammatorische Kardiomyopathie
CX3CL1	Fraktalkine
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
EMB	Endomyokardbiopsien
EF	Ejektionsfraktion
ESC	European Society of Cardiology
HFNEF	Heart failure with normal ejection fraction
HHV6	Humanes Herpes Virus 6
HLA-1	Human leucocyte antigen-1
ICAM-1/CD54	Intercellular adhesion molecule-1
IL	Interleukin
LFA-1	Lymphocyte function-associated antigen-1
LS	Systolischer longitudinaler strain
LSR	Systolische longitudinale strain rate
LV	Linksventrikulär
Mac-1	Macrophage-1 antigen
MCP-1	Monocyte chemotactic protein-1
PBMCs	Peripheral Blood Mononuclear Cell
RV	Rechtsventrikulär
TDI	Tissue Doppler Imaging
TNF- $\alpha$	Tumor Nekrose Faktor- $\alpha$
VCAM-1/CD106	Vascular cell adhesion molecule-1

## 1. Einleitung

### 1.1. Definition und klinischer Verlauf

Unter einer Myokarditis wird ein akut im Myokard verlaufender Prozess bezeichnet, der histologisch durch den Nachweis entzündlicher Infiltrate – assoziiert mit Myozytendegeneration und Nekrose – gekennzeichnet ist. Die entzündliche Kardiomyopathie (CMi) ist beschrieben als nach einem zeitlich definierten Beschwerdebeginn eintretende kardiale Symptome mit myokardialen Funktionseinschränkungen und einem chronisch oder chronisch-rezidivierenden intramyokardialen Entzündungsprozess<sup>1-3</sup>. Prognostisch werden sehr unterschiedliche Verläufe beobachtet. Wegen bisher fehlender epidemiologischer Daten werden Inzidenz und Prävalenz der CMi eher unterschätzt<sup>4-6</sup>.

Das Spektrum der Symptome ist sehr variabel<sup>7-8</sup>. Bei akutem Krankheitsverlauf sind plötzlich auftretende pektanginöse Beschwerden, Dyspnoe, kongestive Herzinsuffizienz mit normalen oder vergrößerten Ventrikeln, Herzrhythmusstörungen und abnormen ST-T-Streckenveränderungen bei gleichzeitig erhöhten Herzenzymwerten (CK/CKMB oder TnT) deutliche Verdachtsmomente für eine akute Myokarditis (AMC), sofern andere akute Herzkrankheiten mit ähnlichem klinischen Erscheinungsbild bereits ausgeschlossen sind<sup>9</sup>. Zur klinischen Unterscheidung einer begleitenden Myokarditis von einem akuten Koronarsyndrom muss zuvor eine Angiografie durchgeführt werden. In der subakuten und chronischen Phase nach zwei bis vier Wochen sind die meisten klinischen Merkmale, die auf eine akute Myokarditis schließen lassen, abgeklungen. Patienten klagen über nicht charakteristische Symptome, wie eine anhaltende Angina, Dyspnoe, Müdigkeit, verminderte körperliche Leistungsfähigkeit oder Herzrhythmusstörungen bei gleichzeitiger weitgehend intakter oder verminderter systolischer oder diastolischer LV-Funktion, oder werden mit einer dilatativen Kardiomyopathie (DCM) vorstellig<sup>10-12</sup>. Zu einer DCM kann es durch post-infektiöse Prozesse kommen. Diese können sich entweder als eine primäre Schädigung des Myokards (Myokardzellverlust, Matrixremodeling und Narbenbildung) oder als persistierende (auto-) immunologische Prozesse, die chronisch zu einer progredienten Schädigung des

Herzmuskels geführt haben, auswirken.<sup>13-14</sup> Dieser ätiopathogenetische Zusammenhang wird durch Untersuchungen nahegelegt, in denen bei bis zu 60% der Patienten mit dem klinischen Bild einer DCM eine chronische Entzündung nachgewiesen werden konnte. Die DCM stellt neben der koronaren Herzerkrankung damit eine der häufigsten Ursachen einer Herzinsuffizienz dar<sup>15-19</sup>. In Deutschland liegt die Prävalenz der Herzinsuffizienz bei ca. 1,5 Mio. Patienten, folglich ist davon auszugehen, dass mindestens 500.000 Patienten an einer DCM leiden.

Myokardiale Entzündungen können prinzipiell durch fast alle infektiösen Erreger (Viren, Bakterien, Parasiten), durch nicht-infektiöse Noxen (rheumatoide Erkrankungen, Sarkoidose) oder durch toxische Substanzen (z. B. Alkohol, Chemotherapeutika) hervorgerufen werden. Am häufigsten aber werden akute Myokarditiden durch virale Infektionen ausgelöst<sup>20-23</sup>. Kann das Immunsystem die Erreger nicht frühzeitig ausschalten, so entwickelt sich eine chronische Infektion mit oder ohne begleitende Entzündung. Selbst bei vollständiger Beseitigung der Viren können postinfektiöse Autoimmunreaktionen fortbestehen. Da die pathologischen Prozesse auf der Zellebene stattfinden, können virale Myokarditis und postinfektiöse Autoimmunreaktionen vermutet, jedoch nicht klinisch diagnostiziert werden.

## **1.2. Ätiologie**

Bei erworbenen „idiopathischen“ Erkrankungen des Herzmuskels sind Infektionserreger häufigste Ursache für eine Myokarditis und entzündliche Kardiomyopathie. Obwohl praktisch jeder mikrobiische Erreger eine myokardiale Entzündung oder Funktionsstörung hervorrufen kann, sind nicht-virale Infektionen, zumindest in westlichen Ländern, in diesem Zusammenhang sehr selten<sup>24</sup>. Virale Formen gelten heute als häufigste Ursache einer erworbenen entzündlichen Kardiomyopathie<sup>25</sup>. Seit Jahrzehnten sind Enteroviren (EV) - Coxsackie-Viren und in geringerem Umfang auch Adenoviren - als Ursache für Myokarditis und chronische Herzmuskelerkrankungen bei Kindern und Erwachsenen bekannt<sup>26-28</sup>. Das Erregerspektrum hat sich in der letzten Dekade verschoben zu bestimmten Genotypen von

Erythroviren, einschließlich Parvovirus B19 (B19V)<sup>29-39</sup> und Humanem Herpesvirus Typ 6 (HHV6A/B und ciHHV6)<sup>40-45</sup>. Seltener vorkommend sind Human Immunodeficiency Virus (HIV)<sup>46</sup>, Zytomegalievirus (CMV), Herpes-simplex-Viren Typ 2 und Hepatitis-C-Virus neben vielen weiteren mit unterschiedlicher Häufigkeit in Herzmuskelgeweben festgestellten Erregern.

### 1.3. Pathophysiologische Aspekte und Prognose

Insgesamt existieren nur wenige Untersuchungen zur prognostischen Abschätzung des Langzeitverlaufes bei CMi. Sowohl eine enterovirale Infektion/Persistenz als auch lymphozytäre Infiltration sind bekannter Weise mit einer schlechten Prognose bei CMi Patienten assoziiert<sup>47-49</sup>.

Neben bislang noch nicht genetisch prädisponierenden Faktoren scheint die Effizienz der antiviralen Immunantwort im Hinblick auf die erzielte Viruselimination eine wesentliche prognostische Bedeutung zu haben. Aus experimentellen Untersuchungen ist bekannt, dass kardiotope Viren antivirale Effektormechanismen (z.B. proinflammatorische Zytokine oder Chemokine) induzieren und damit die Viruselimination begünstigt wird<sup>50-51</sup>. Die deutlich bessere Prognose von Patienten mit fulminanter Myokarditis verglichen mit einem chronischen Verlauf ist vermutlich u.a. darauf zurückzuführen, dass erstere zwar durch die fulminante Immunantwort eine transiente hochgradige Depression der Kontraktilität erleiden, langfristige aber durch die effektive Viruselimination keine Langzeitschäden davontragen<sup>52-53</sup>. Die durch Virusinfektion induzierte Entzündungsreaktion stellt somit teleologisch betrachtet eine protektiv auf die Viruselimination gerichtete Reaktion dar. Mit der Entwicklung einer Autoimmunreaktion persistiert die Inflammation trotz Viruselimination, was letztlich in Myozytenverlust resultiert und wiederum die Autoimmunität perpetuiert.

Zytotoxische Zellen scheinen für autoimmunologische Prozesse von besonderer Bedeutung. Die Generierung zytotoxischer Zellen und die Umsetzung des zytotoxischen Angriffs auf die das Zielepitop tragende Zelle sind ein komplexer Prozess: Initiiert durch CD4<sup>+</sup>-Zellen wird die Immunreaktion aktiviert und koordiniert. Es sind naive CD8<sup>+</sup>-Zellen, die hiernach zu

zytotoxischen T-Zellen proliferieren. Da ihre Effektorwirkung so zerstörerisch ist, benötigen sie eine starke Costimulierung (z.B. durch dendritische Zellen, die sie selbst zur Synthese von u.a. Interleukin (IL)-2 anregen) für ihre Entwicklung. Die zytotoxischen Zellen setzen im Anschluss Calcium-abhängig lytische Granulae frei, sobald sie auf der Oberfläche einer Zielzelle Antigene erkannt haben. Die Granulae entsprechen dabei modifizierten Lysosomen mit dem Hauptbestandteil Perforin. Das so sezernierte Perforin bildet auf der Oberfläche der Zellmembran der Zielzellen ca. 20 nm große Poren aus, die eine irreversible Kaskade der Apoptose auslösen<sup>54</sup>. Eine Infiltration mit zytotoxischen Zellen ist bei Patienten mit CMi mit Viruspersistenz nachweisbar, was ein Indiz dafür sein könnte, dass es bei einem Teil dieser Patienten trotz einer aktivierten zellulären Immunantwort zu einer Viruspersistenz kommen kann. Die im murinen Modell untersuchte Perforin-vermittelte Lyse infizierter Myozyten, die primär durch CD8<sup>+</sup>T-Zellen angeregt wird, scheint für die Eliminierung virusinfizierter Herzmuskelzellen eine untergeordnete Rolle zu spielen, da gezeigt werden konnte, dass Perforin-defiziente Mäuse bei induzierter CVB3-Myokarditis während der akuten Phase der Erkrankung ausheilen<sup>55-57</sup>. In Endomyokardbiopsien (EMBs) von DCM-Patienten sind – im Vergleich zu Kontrollherzen – erhöhte zytotoxische T-Zellen beschrieben mit direkter Assoziation zu Zelladhäsionsmolekülen<sup>58-59</sup>. Die Rolle von Perforin bei virusnegativer inflammatorischer Kardiomyopathie ist bislang jedoch unzureichend untersucht.

Proinflammatorische Zytokine wie Tumor-Nekrosefaktor (TNF) -  $\alpha$  oder Chemokine wie Monocyte Chemoattractant Protein (MCP) -1 oder CX3CL1 (Fraktalkine) können die kardiale Funktion direkt durch eine Veränderung der Myozyten beeinflussen; andererseits wirken sie auch auf die Fibroseentwicklung und können so indirekt die Progression der Erkrankung vorantreiben<sup>60</sup>. Eine erhöhte transendotheliale Migration von Monozyten nach intrakardial ist zudem selbst mit einer Progression der Herzinsuffizienz und dem Matrixremodeling assoziiert<sup>61-62</sup>.



## **1.4. Diagnostik**

### **1.4.1. Nichtinvasive Bildgebung**

Während die konventionelle Echokardiographie bei CMi insbesondere im Ausschluß von Differentialdiagnosen (z.B. Klappenvitien) ihren uneingeschränkten Stellenwert hat, so bleiben die Veränderungen bei Myokarditis und CMi unspezifisch <sup>63</sup>. Neuere Bildgebungsverfahren wie die Speckle-Tracking Echokardiographie mit der Bestimmung von Systolischer Strain und Strain Rate haben in ersten Studien die Diagnostik der koronaren Herzerkrankung und akuten Myokarditis erweitert <sup>64-67</sup>. Systolischer und maximaler Strain repräsentieren dabei das Ausmaß der myokardialen Deformation und können nicht nur zur sensiblen Beurteilung der myokardialen Gesamtfunktion, sondern insbesondere von subtilen regionalen Funktionsstörungen herangezogen werden. Inwiefern die Speckle-Tracking Echokardiographie auch in der Diagnostik bei Verdacht auf akute Myokarditis und bei chronischer CMi herangezogen werden kann, ist ein Gegenstand der Untersuchungen dieser Arbeit.

### **1.4.2. Endomyokardbiopsie**

In der Vergangenheit haben unterschiedliche diagnostische Verfahren die Standardisierung einer allgemein akzeptierten Diagnostik und auch Therapierichtlinien erschwert. Ferner kommt hinzu, dass sämtliche klinischen Methoden, einschließlich bildgebender Verfahren, irreführend sind, wenn Infektionserreger beteiligt sind <sup>68</sup>. Die Konsequenz einer fehlender Diagnosesicherung ist eine rein symptomatische Behandlung, unter der sich viele Patienten je nach Ätiologie der Erkrankung gar nicht oder langfristig nur unzureichend verbessern.

Zu einer zuverlässigen Diagnose lässt sich nur mittels gleichzeitiger histologischer, immunhistochemischer und molekularbiologischer Untersuchung des Gewebes gelangen. Die differenzierte Diagnostik von Myokardbiopsien ermöglicht so eine ätiopathogenetische Abklärung als Grundlage für eine spezifische Behandlungsoption <sup>69</sup>. Dennoch wurde in der Vergangenheit die Endomyokardbiopsieentnahme wegen fehlender Standardisierung und

des möglichen sampling errors als kritisch gesehen. Sie stellt jedoch weiterhin den Goldstandard zur Diagnosefindung bei Myokarditis und inflammatorischer Kardiomyopathie dar. Dies gilt - insbesondere in chronischen Fällen - dann, wenn die Histologie von dem hochsensitiven immunhistochemischen Verfahren ergänzt wird, das eine Quantifizierung und Bestimmung von Entzündungszellunterarten ermöglicht.

Die ersten Empfehlungen zur Indikation der Endomyokardbiopsie haben die amerikanischen kardiologischen Gesellschaften (AHA, ACCF) und die European Society of Cardiology (ESC) 2007 auf der Basis verschiedener Krankheitsszenarien veröffentlicht: Im Positionspapier der ESC Working Group Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases von 2013 wird eine selektive Koronarangiografie und eine nachfolgende EMB bei praktisch allen Patienten mit dem klinischen Verdacht auf eine Myokarditis als sinnvoll beschrieben <sup>70-71</sup>.

### **1.5. Fragestellung und Zielsetzung**

Im Mittelpunkt dieser Arbeit stehen Untersuchungen zur Aufklärung von Determinanten der individuell variablen Suszeptibilität für die Entwicklung einer Myokarditis und inflammatorischen Kardiomyopathie an Patienten, um frühzeitig eine Erfassung, Risikostratifizierung und letztlich Therapie gefährdeter Personen zu ermöglichen. Hierbei werden insbesondere Spontanverläufe im Langzeit-follow-up, der Erkrankung zugrundeliegende Pathomechanismen als auch neue prognostische Marker untersucht. Darüber hinaus werden Verfahren zur exakten Diagnosesicherung im Vergleich überprüft.

Die folgenden Originalpublikationen bilden dabei eine kumulative Habilitationsschrift. Eine abschließende Zusammenfassung stellt den thematischen Zusammenhang der einzelnen Publikationen dar.

## **2. Ergebnisse (Eigene Arbeiten)**

### **2.1. Entwicklung einer diastolischen Herzinsuffizienz in Patienten nach stattgehabter akuter Myokarditis im Langzeitverlauf**

#### **Originalarbeit:**

Development of diastolic heart failure in a 6-year follow-up study in patients after acute myocarditis. Heart. 2011 May;97(9):709-14.

Escher F, Westermann D, Gaub R, Pronk J, Bock T, Al-Saadi N, Kühl U, Schultheiss HP, Tschöpe C.

Akute Myokarditiden werden zumeist durch virale Infektionen ausgelöst und gelten als prognostisch günstig. Etwa 20% der Patienten entwickeln innerhalb von 36 Monaten eine progressive Pumpfunktionsstörung mit dem klinischen Bild einer DCM<sup>12</sup>. Die Patienten, die sich hinsichtlich ihrer linksventrikulären (LV)-Funktion rasch normalisieren, werden zumeist nicht mehr medikamentös therapiert oder konsequent nachkontrolliert. In dieser prospektiven Studie haben wir 50 Patienten mit akuter Myokarditis im Langzeitverlauf (72 [54-78] Monate) hinsichtlich ihres klinischen outcomes untersucht. Die Patienten wurden initial Endomyokard-biopsiert und mittels Tissue Doppler Imaging (TDI) untersucht. Im Verlauf starben 2 Patienten und 3 entwickelten eine DCM. Von den verbliebenen 45 Patienten beklagten im Follow-up jedoch noch 49 % eine Herzinsuffizienzsymptomatik, trotz normalisierter LV-Funktion (HFNEF). Im TDI konnte eine Assoziation mit einem pathologisch erhöhten Füllungsindex  $E/E'$  als Zeichen einer diastolischen Funktionsstörung erhoben werden - im Vergleich zu den asymptomatischen Patienten. Gleichzeitig war der Plasma N-terminal proBrain natriuretic Peptide (Nt-proBNP)-Spiegel bei den Patienten mit HFNEF um das 3-fache erhöht. Nach akuter Myokarditis besteht damit trotz normalisierter LV-Funktion im Langzeitverlauf ein deutliches Risiko der Entwicklung einer diastolischen Funktionsstörung.

<http://dx.doi.org/10.1136/hrt.2010.199489>.













## 2.2. Fraktalkine bei inflammatorischer Kardiomyopathie

### Originalarbeit:

Fractalkine in human inflammatory cardiomyopathy. *Heart*. 2011 May;97(9):733-9.

Escher F, Vetter R, Kühl U, Westermann D, Schultheiss HP, Tschöpe C.

Nach wie vor wird kontrovers diskutiert, ob als Ursache von progredienter Schädigung des Myokards bei viruspositiver CMi die aktive Virusreplikation zu vermuten ist oder ob eine Virus-getriggerte Induktion von Entzündungsmediatoren hierbei die entscheidende Rolle spielt. Wir untersuchten in dieser Studie daher die Rolle des Chemokins Fraktalkin (CX3CL1) hinsichtlich seiner chemotaktischen und adhäsiven Eigenschaften in der Aufrechterhaltung von Inflammation bei Patienten mit EV<sup>+</sup> CMi. Fraktalkine kommen sowohl Endothelzell-membrangebunden als auch in löslich Form vor und regulieren die Migration und Ädhärenz infiltrativer Zellen. Es wurden Patienten mit EV-Genom-Nachweis in der EMB im Vergleich zu EV negativen Kontrollen untersucht.

Die myokardiale Expression von CX3CL1 und MCP-1 in EMBs war signifikant bei EV<sup>+</sup> Patienten erhöht. In der Zellkultur war die Gegenrezeptor (CX3CR1)-vermittelte Chemotaxis mononukleärer Zellen des peripheren Blutes (PBMCs) im Migrationsassay um das 2-fache bei EV<sup>+</sup> Patienten erhöht. Die MCP-1 Sekretion der PBMCs virusinfizierter Patienten *in vitro* war 3,1-fach höher als in Kontrollpatienten und diese wurde nochmals durch die Zugabe von CX3CL1 verstärkt. Dieser Effekt konnte nicht in den Kontrollpatienten beobachtet werden.

Darüber hinaus konnten wir ein direktes kardiodepressives Potential von CX3CL1 an spontan schlagenden adulten Rattenkardiomyozyten nachweisen: Die Exposition von CX3CL1 hemmte konzentrationsabhängig Effekte einer  $\beta$ -adrenergen Stimulation der Kardiomyozyten mit Isoproterenol auf die systolische Zellverkürzung.

<http://dx.doi.org/10.1136/hrt.2010.205716>.















### **2.3. Der Nachweis von Perforin in Endomyokardbiopsien bei Patienten mit inflammatorischer Kardiomyopathie ist prädiktiver Marker für schlechtes Outcome**

#### **Originalarbeit:**

Presence of Perforin in Endomyocardial Biopsies of Patients with Inflammatory Cardiomyopathy predicts poor Outcome. Eur J Heart Failure 2014;16:1066-1072.

Escher F, Kühl U, Lassner D, Stroux A, Westermann D, Skurk C, Tschöpe C, Poller W, Schultheiss H-P.

Da die Inflammation wesentlich zur Prognose der Patienten mit CMi beiträgt, wurden in dieser Studie die intramyokardiale lymphozytäre Infiltration und hier im Speziellen zytotoxische Zellen (Perforin) untersucht, um neue prognostische Marker im Rahmen der primär ablaufenden Immunantwort zu erarbeiten. Letztlich sollte hiermit eine Basis für den Kliniker zur Verlaufsbeurteilung und frühzeitigen Therapieentscheidung noch vor Entwicklung einer irreversiblen Myokardschädigung bei CMi Patienten geschaffen werden. Hierzu wurden 495 virusnegative CMi Patienten untersucht. In der initial durchgeführten EMB wurde eine aktive Myokarditis ausgeschlossen. Häodynamische Messungen mit Bestimmung der LV-Funktion fanden im Follow-up im Mittel nach  $30 \pm 35$  Monaten statt. Zum Follow-up-Zeitpunkt zeigten 388 Patienten (*Gruppe 1*) eine signifikante Verbesserung der LV-Ejektionsfraktion (LVEF) von  $46,2 \pm 14,8\%$  auf  $64,3 \pm 12,3\%$  ( $P < 0,0001$ ). Eine signifikante Verschlechterung zeigten 107 Patienten (*Gruppe 2*) (LVEF von  $42,1 \pm 14,2\%$  auf  $32,3 \pm 11,6\%$ ,  $P < 0,0001$ ).

Die Multivariaten-Analyse von LVEF und aller untersuchten immunhistologischen Parameter zeigte, dass der einzige bedeutende Parameter für den LVEF-Verlauf der Nachweis von Perforin in der EMB ist, während initiale LVEF, LVEDD oder andere immunhistologische Parameter (CD3, Mac-1, CD45R0, LFA-1, HLA-1, CD54, CD106) nur gering oder nicht-signifikant auf den LVEF-Verlauf wirken.

In dieser Studie konnten wir daher bei CMi-Patienten zum ersten Mal im Langzeitverlauf Perforin als einen Prognoseparameter für den häodynamischen Verlauf identifizieren.

<http://dx.doi.org/10.1002/ejhf.148>.















## **2.4. Neue echokardiographische Parameter in der Diagnostik der akuten Myokarditis und inflammatorischen Kardiomyopathie**

### **Originalarbeit:**

New echocardiographic findings correlate with intramyocardial inflammation in endomyocardial biopsies of patients with acute myocarditis and inflammatory cardiomyopathy. *Mediators of Inflammation* 2013;2013:875420.

Escher F, Kasner M, Kühl U, Heymer J, Wilkenshoff U, Tschöpe C, Schultheiss HP.

In dieser Studie wurde erstmals prospektiv die Speckle-Tracking Echokardiographie bei n=25 Patienten mit dem klinischen Verdacht einer akuten Myokarditis untersucht. Alle Patienten erhielten nach Ausschluss einer koronaren Makroangiopathie eine initiale EMB und eine Folge-EMB nach einem Zeitraum von im Mittel 6,2 Monaten. Die Speckle-Tracking Echokardiographie mit Bestimmung von globalem systolischem longitudinalem strain (LS) und strain rate (LSR) erfolgte initial und zum Follow-up-Zeitpunkt. In der akuten Phase war die mittlere LVEF der Patienten deutlich eingeschränkt (Mittlere LVEF 40,4±10,3%). Bei 8 Patienten persistierte die intramyokardiale Inflammation in der Follow-up-EMB, korrelierend mit einer signifikanten Reduktion des Fractional Shortenings (FS) in der konventionellen Echokardiographie im Vergleich zu Patienten ohne Persistenz der Inflammation. In der Speckle-Tracking Echokardiographie zeigten alle Patienten initial einen deutlich reduzierten LS und reduzierte LSR. Im Follow-up waren LS und LSR signifikant bei den Patienten mit persistierender Inflammation vermindert im Vergleich zu den Patienten ohne fortwährende intramyokardiale Inflammation. LS und LSR korrelierten dabei signifikant mit dem intramyokardialen Nachweis lymphozytärer Infiltrate (CD3<sup>+</sup> T-Lymphozyten). Keine Korrelation gab es mit Viruspersistenz.

Somit stellt die Speckle-Tracking Echokardiographie ein neues Tool auch in der Diagnostik von AMC und CMi dar.

<http://dx.doi.org/10.1155/2013/875420>.



















## **2.5. Analyse von rechts- vs. linksventrikulärer Endomyokardbiopsie in Patienten Verdacht auf Myokarditis**

### **Originalarbeit:**

Analysis of endomyocardial biopsies in suspected myocarditis - Diagnostic value of left versus right ventricular biopsy.

F. Escher, D. Lassner, U. Kühl, U Gross, D. Westermann, W. Poller, C. Skurk, K. Weitmann, W. Hoffmann, C. Tschöpe, H.-P. Schultheiss.

Endomyokardbiopsien sind der Goldstandard zur ätiopathogenetischen Abklärung bei Verdacht auf Myokarditis und bei unklarer Kardiomyopathie, wenngleich eine standardisierte Untersuchungsmethode bislang nicht existiert.

In dieser Studie untersuchten wir prospektiv mögliche Unterschiede hinsichtlich der Detektion von intramyokardialem Virusgenom, intramyokardialer Entzündungsreaktion, morphologischer Veränderungen und letztlich der Diagnosestellung in der links- vs. rechtsventrikulären (RV) Biopsie.

In gleicher Sitzung wurden nach Ausschluss einer koronaren Herzerkrankung an 65 Patienten LV und RV Endomyokardbiopsien entnommen und histologisch, immunhistologisch sowie molekularbiologisch untersucht. Patienten mit einer histologisch aktiven Myokarditis wurden ausgeschlossen.

Hinsichtlich der Anzahl immunkompetenter infiltrierender Zellen (CD3<sup>+</sup>, LFA-1<sup>+</sup>, Mac-1<sup>+</sup>) und von Zelladhäsionsmolekülen (HLA-1, ICAM-1) zeigten sich keine signifikanten Unterschiede in der RV- vs. LV-EMB. Ebenso fand sich kein signifikanter Unterschied hinsichtlich des Virusgenomnachweises (Erythrovirus, HHV-6) zwischen RV- und LV-EMB. Dagegen zeigt sich im LV im Gegensatz zum RV ein deutlich erhöhter Fibrosenachweis (Bestimmung des Gesamtkollagens), wie auf mRNA-Ebene Kollagen Typ I und  $\alpha$ -smooth muscle Aktin.

Der Nachweis von Myozytenhypertrophie gelang im LV ebenfalls signifikant häufiger als im RV.

Basierend auf den Daten aus RV und LV wurde im „saturation model“ für den B19-Virusgenomnachweis errechnet, dass mindestens 4 EMB notwendig sind, um eine 100%-ige Viruspositivität nachzuweisen.

Zusammenfassend waren quantitativ intramyokardiale Inflammation und Virusgenom in beiden Ventrikeln gleichermaßen nachweisbar, morphologische Veränderungen mit Matrixremodeling aber sind signifikant häufiger im LV als im RV nachweisbar.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijcard.2014.09.071>.







### **3. Diskussion**

Myokarditis und inflammatorische Kardiomyopathie stellen eine wesentliche Ursache für die Entwicklung einer Herzinsuffizienz dar. Bereits im frühen Stadium der Krankheit können sowohl der infektiöse Auslöser als auch die folgende Immunantwort irreversible Schäden des Herzmuskelgewebes hervorrufen, die den akuten und langfristigen Krankheitsverlauf bedingen. Mit der Entwicklung einer Autoimmunreaktion persistiert die Inflammation trotz Viruselimination und hieraus resultiert letztlich der Myozytenverlust, der dann wiederum die Autoimmunität perpetuiert.

In der vorgelegten kumulativen Habilitationsschrift werden anhand von fünf ausgewählten Publikationen neue Aspekte zur Pathogenese und Diagnostik der Myokarditis und inflammatorischen Kardiomyopathie dargestellt. Die Arbeiten basieren dabei alle auf Ergebnissen von Endomyokardbiopsien in Patienten.

#### **3.1. Verlauf**

Wenn antivirale Immunabwehr und auch die anschließenden zellulären Prozesse schnell und effizient abgeschlossen sind, können die verbleibenden Schäden des Herzmuskels gering sein und das übrige Herzmuskelgewebe die Aufgaben des verlorenen kontraktiven Gewebes in ausreichendem Maße übernehmen <sup>72</sup>. Insofern genesen 60% bis 70% der Patienten innerhalb von 2 bis 12 Monaten vollständig ganz ohne oder mit nur geringen verbleibenden klinischen Anzeichen von Herzschäden. Häufig liefern zu diesem Zeitpunkt durchgeführte EMBs das Bild einer ausgeheilten Myokarditis. In der vorgelegten Arbeit (2.1. Entwicklung einer diastolischen Herzinsuffizienz in Patienten nach stattgehabter akuter Myokarditis im Langzeitverlauf) konnte gezeigt werden, dass selbst eine komplette Genesung der LV-Funktion und unauffällige Histologie in der EMB noch keinen optimalen langfristigen Verlauf garantieren. Von 50 Patienten mit stattgehabter akuter Myokarditis entwickelten im

Langzeitverlauf 49% HFNEF mit pathologisch erhöhtem Füllungsindex als Zeichen einer diastolischen Funktionsstörung.

Je nach Schwere der entstandenen kardialen Schäden kann die Herzfähigkeit bei anderen Patienten von vornherein eingeschränkt bleiben. 25% bis 30% der Patienten sind von einem Verlust von kontraktilem Gewebe mit ausgeprägtem kardialem Remodeling betroffen<sup>73</sup>. Das Krankheitsbild entspricht einer oft irreversiblen DCM, die die betreffenden Patienten entwickeln.

### **3.2. Neue Erkenntnisse zur Pathophysiologie der viralen Myokarditis**

Die Inzidenz einer myokardialen Beteiligung bei Virusinfektionen wird auf 3-6% geschätzt<sup>6</sup>. Die konkrete Inzidenz von virusbedingter Myokarditis oder Kardiomyopathie ist weniger gut nachgewiesen. Die Mehrheit der Virusinfektionen ist asymptomatisch oder oligosymptomatisch. Da im Rahmen der entsprechenden Diagnosen nur selten eine EMB vorgenommen wird, werden solche Infektionen oft nicht frühzeitig als mögliche Ursache eines akuten oder verzögerten Auftretens von Herzerkrankungen erkannt. Die der menschlichen viralen Myokarditis oder entzündlichen Kardiomyopathie zugrundeliegenden pathogenen Mechanismen waren bislang unzureichend bekannt. Eine begrenzte Vorstellung gibt es für Enteroviren.

Eine neu erworbene virale Myokarditis entwickelt sich phasenweise. Die frühe Phase einer viralen Myokarditis wird von einer Infektion der kardialen Muskelfasern, Fibroblasten oder Endothelzellen durch rezeptorvermittelte Endocytose eingeleitet<sup>74-76</sup>. Die hieraus resultierende Art und das Ausmaß der myokardialen Beeinträchtigung und somit die Prognose für den Krankheitsverlauf hängen vom Wesen des angreifenden Infektionserregers, der betroffenen kardialen Gewebestrukturen und dem Grad der durch zytolytische Viren verursachten irreversiblen myokardialen Schädigungen ab.

Die folgende Phase, die eigentlich der Virusbeseitigung dient, wird durch die Aktivierung einer antigenspezifischen zellulären Immunantwort eingeleitet<sup>77-78</sup>. Da virusinfizierte Zellen von den Immuneffektorzellen der einsetzenden zellulären Immunantwort gegen das Virus zerstört werden, geschieht die Beseitigung der Viren auf Kosten des Verlusts von weiteren infizierten Muskelzellen. Die daraus folgenden myokardialen Schäden hängen vom Ausmaß der zellulären Virusinfektion ab und nehmen mit wachsender Virusausbreitung zu, was neben den frühen virus- und immunvermittelten Schädigungen der ersten Phase zu weiterem Gewebsumbau und zum Fortschreiten der Erkrankung beiträgt. So geschieht die Elimination des Virus auf Kosten einer teilweisen Zerstörung von destruiertem Myokardgewebe unter anderem unter dem Einfluss proinflammatorischer Zytokine und Chemokine<sup>61</sup>.

In der vorgelegten Arbeit (2.2. Fraktalkine bei inflammatorischer Kardiomyopathie) wurde die Rolle des Chemokins Fraktalkin (CX3CL1) in der Aufrechterhaltung von Inflammation bei Patienten mit EV<sup>+</sup> CMi untersucht. Die myokardiale Expression von CX3CL1 und MCP-1 in EMBs war signifikant bei EV<sup>+</sup> Patienten im Vergleich zu virusnegativen Kontrollen erhöht. Die MCP-1 Sekretion der PBMCs virusinfizierter Patienten *in vitro* war 3,1-fach höher als in den Kontrollpatienten und diese wurde nochmals durch die Zugabe von CX3CL1 verstärkt. Dieser Effekt konnte nicht in den Kontrollpatienten beobachtet werden. Darüber hinaus hemmt CX3CL1 konzentrationsabhängig Effekte einer  $\beta$ -adrenergen Stimulation der Kardiomyozyten mit Isoproterenol auf die systolische Zellverkürzung an Rattenherzen. Hiermit beschreiben wir erstmals einen *circulus vitiosus* einer chronischen Immunstimulation von CX3CL1 bei chronisch viraler Myokarditis.

### **3.3. Neue Erkenntnisse zur Autoimmunmyokarditis**

Chronische Immunstimulation entsteht durch eine unvollständig bereinigte Virusinfektion bzw. infolge der entstandenen virus- oder immunvermittelten chronischen Gewebsschäden. Auch die Freisetzung von intrazellulären Proteinen aus nekrotischen oder apoptotischen Herzmuskelzellen kann eine chronische Entzündung hervorrufen, die anfangs einige wenige

Zellen schädigt, letztendlich aber den gesamten Herzmuskel betreffen kann<sup>2,4,48</sup>. Mit der Entwicklung einer Autoimmunreaktion persistiert die Inflammation trotz Viruselimination und hieraus resultiert letztlich der Myozytenverlust, der dann wiederum die Autoimmunität perpetuiert. In der Phase des resultierenden Matrixremodeling ist das Virus komplett eliminiert und die antiviralen Immunabwehrreaktionen sind abgeschlossen. Der weitere Krankheitsverlauf hängt jedoch vom Ausmaß der ursprünglich entstandenen Gewebsschäden ab.

Eine zu diesem späten Zeitpunkt durchgeführte Diagnose auf Grundlage einer Biopsie kann die eigentliche Erkrankungsursache nicht mehr ermitteln und wird auf eine „idiopathische“ Erkrankung schließen lassen. In diesen Fällen kann eine postinfektiöse oder postmyokardiale Erkrankung bestenfalls vermutet werden, lässt sich jedoch durch keinerlei diagnostische Verfahren mehr nachweisen.

Dass der Nachweis einer intramyokardialen Entzündungsreaktion selbst mit einer schlechten Prognose einhergeht, wurde kürzlich in der Literatur in einer Langzeituntersuchung bei 181 Patienten mit Verdacht auf eine entzündliche Herzmuskelerkrankung gezeigt<sup>79</sup>. Die immunhistologisch nachgewiesene intramyokardiale Entzündung war hier unabhängiger Prädiktor bezogen auf Morbidität und Mortalität.

Zytotoxische Zellen scheinen für autoimmunologische Prozesse und insbesondere für die Autoimmunmyokarditis von besonderer Bedeutung<sup>80-82</sup>. Die Generierung zytotoxischer Zellen und die Umsetzung des zytotoxischen Angriffs auf die das Zielepitop tragende Zelle ist dabei ein komplexer Prozess.

In der vorgelegten Arbeit (2.3. Der Nachweis von Perforin in Endomyokardbiopsien bei Patienten mit inflammatorischer Kardiomyopathie ist prädiktiver Marker für schlechtes Outcome) konnte EMB-basiert an 495 virusnegativen Patienten nachgewiesen werden, dass das zytotoxisch wirkende Perforin multivariat als stärkster Prädiktor für eine hämodynamische Verschlechterung im Langzeitverlauf war. Der berechnete optimale Cut-off-Wert für Perforin-positive Zellen in der EMB/mm<sup>2</sup> betrug dabei 2,95 (mit einer 94,2 %igen Sensitivität und einer 80,4%-igen Spezifität) für ein hohes Risiko einer LV-

Funktionsverschlechterung. Wir konnten mit dieser Studie erstmals Perforin als einen einzelnen Prognosemarker bei CMi Patienten detektieren. Zukünftig sollten randomisierte Studien folgen, die den Nutzen einer Perforinwert-basierten immunsuppressiven Therapie evaluieren.

### **3.4. Neue Erkenntnisse zur Diagnostik**

In der vorgelegten Arbeit (2.4. Neue Echokardiographische Parameter in der Diagnostik der akuten Myokarditis und inflammatorischen Kardiomyopathie) wurde gezeigt, dass mittels Speckle-Tracking Echokardiographie eine Korrelation zwischen Entzündungszellnachweis und longitudinalem strain/bzw. strain rate bei akutem und chronischem intramyokardialen Entzündungsnachweis besteht. Somit stellt die Speckle-Tracking Echokardiographie ein neues Tool auch in der Diagnostik von AMC und CMi dar.

Die Endomyokardbiopsie stellt weiterhin den Goldstandard zur Diagnosefindung bei Myokarditis und inflammatorischer Kardiomyopathie mit einer sehr geringen periprozeduralen Komplikationsrate dar <sup>80-82</sup>. Dennoch wurde in der Vergangenheit die Endomyokardbiopsieentnahme wegen fehlender Standardisierung und möglicher Unterschiede in Links- vs. Rechtsherzbiopsie kritisch diskutiert. In der vorgelegten Arbeit (2.5. Analyse von rechts vs. linksventrikulärer Endomyokardbiopsie in Patienten mit Kardiomyopathien) wurden prospektiv in gleicher Sitzung an 65 Patienten links- wie auch rechtsventrikulär Endomyokardbiopsien entnommen und histologisch, immunhistologisch sowie molekularbiologisch untersucht. Bezogen auf Virus- und Entzündungsnachweis war hinsichtlich der Diagnosestellung weder eine rechts- noch eine linksventrikuläre Biopsieentnahme der anderen überlegen. Matrixremodeling und LV-Hypertrophie hingegen ließen sich signifikant häufiger im LV als im RV nachweisen.

#### 4. Zusammenfassung

Im Mittelpunkt dieser kumulativen Habilitationsschrift stehen Arbeiten, die die Pathogenese und Diagnostik der Myokarditis und inflammatorischen Kardiomyopathie an endomyokardialen Biopsien von Patienten untersuchen.

Myokarditis und inflammatorische Kardiomyopathie sind oligosymptomatische entzündliche Erkrankungen des Myokards, die durch Infiltrationen immunkompetenter Zellen in das myokardiale Gewebe gekennzeichnet sind. In den vorliegenden Arbeiten wurden zum einen neue immunologische Mechanismen, die in Abhängigkeit von viralen und wirtsspezifischen Pathogenitätsmechanismen über den Verlauf der Myokarditis und inflammatorischen Kardiomyopathie mit möglicher Entwicklung und Unterhaltung von chronischen autoimmunologischen Prozessen betragen können, aufgezeigt. Während der Anstieg von proinflammatorischen Zytokinen bei enteroviraler Myokarditis vorbeschrieben ist, konnten hier erstmals Mechanismen zur Aufrechterhaltung der Inflammation durch myokardiale Expression von CX3Cl1 und MCP-1 in EMBs nachgewiesen werden.

Eine Schlüsselrolle bei virusnegativer inflammatorischer Kardiomyopathie nehmen zytotoxische Zellen ein, die eine direkte Prognoserelevanz haben. Basierend auf der EMB ist intramyokardiales Perforin stärkster Prädiktor für eine hämodynamische Verschlechterung im Langzeitverlauf bei CMi-Patienten, wobei bereits eine geringe Zellzahl (berechneter Cut-off-Wert von 2,95 Zellen/mm<sup>2</sup> in der EMB) ein hohes Risiko einer LV-Funktionsverschlechterung darstellt. Zum anderen wurden in den vorliegenden Arbeiten der klinische Verlauf nach stattgehabter EMB-gesicherter akuter Myokarditis untersucht und erstmals gezeigt, dass knapp die Hälfte der Patienten im Langzeitverlauf eine symptomatische Herzinsuffizienz trotz guter LV-Funktion entwickeln.

Letztlich konnte hinsichtlich der Diagnostik gezeigt werden, dass eine RV- und LV-Biopsieentnahme sich bezüglich Virus- und Entzündungsnachweis in der Diagnosestellung nicht signifikant voneinander unterscheiden. Die Speckle-Tracking Echokardiographie stellt

aufgrund einer direkten Korrelation von longitudinalem strain/strain rate und intramyokardialer Entzündung ein neues diagnostisches Tool bei Myokarditis und inflammatorischer Kardiomyopathie dar.

Im Ausblick sollten aus den hier gewonnenen Ergebnissen zukünftig neue, ursachenspezifische klinische Therapien entstehen, mit denen sich sowohl eine Linderung der Symptome als auch eine Verbesserung der Prognose akut und chronisch erkrankter Patienten erreichen lässt, die im Rahmen von kontrollierten Studien evaluiert werden müssen.

## 5. Literaturangaben

1. Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J, Olsen E, Thiene G, Goodwin J, Gyarfás I, Martin I, Nordet P. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation*. 1996;93:841-2.
2. Cooper LT, Jr. Myocarditis. *N Engl J Med*. 2009;360:1526-1538.
3. Elliott P, Andersson B, Arbustini E, Bilinska Z, Cecchi F, Charron P, Dubourg O, Kühl U, Maisch B, McKenna WJ, Monserrat L, Pankuweit S, Rapezzi C, Seferovic P, Tavazzi L, Keren A. Classification of the cardiomyopathies: a position statement from the European Society Of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J*. 2008;29:270–6.
4. Liu PP, Mason JW. Advances in the understanding of myocarditis. *Circulation*. 2001;104:1076-82.
5. Feldman AM, McNamara D. Myocarditis. *N Engl J Med* 2000; 343:1388-1398.
6. Schultheiss HP, Kühl U, Cooper LT. The management of myocarditis. *Eur Heart J*. 2011;32(21):2616-25.
7. Dec GW Jr, Palacios IF, Fallon JT, Aretz HT, Mills J, Lee DC, Johnson RA. Active myocarditis in the spectrum of acute dilated cardiomyopathies. Clinical features, histologic correlates, and clinical outcome. *N Engl J Med*. 1985;312:885–90.
8. Cihakova D, Rose NR. Pathogenesis of myocarditis and dilated cardiomyopathy. Cihakova D, Rose NR. *Adv Immunol*. 2008;99:95-114.
9. Jhamnani S, Fuisz A, Lindsay J. The spectrum of electrocardiographic manifestations of acute myocarditis: an expanded understanding. *J Electrocardiol*. 2014 Nov-Dec;47(6):941-7.
10. Blauwet LA, Cooper LT. Myocarditis. *Prog Cardiovasc Dis*. 2010;52:274–88.  
9 Liu PP, Schultheiss HP. Myocarditis. In: Baunwald ed, *Heart Disease*. 8 ed. Philadelphia: W B Saunders co. 2008:1775–92.
11. D'Ambrosio A, Patti G, Manzoli A, Sinagra G, Di Lenarda A, Silvestri F, Di Sciascio G. The fate of acute myocarditis between spontaneous improvement and evolution to dilated cardiomyopathy: a review. *Heart*. 2001;85:499–504.
12. Towbin JA, Lowe AM, Colan SD, Sleeper LA, Orav EJ, Clunie S, Messere J, Cox GF, Lurie PR, Hsu D, Canter C, Wilkinson JD, Lipshultz SE. Incidence, causes, and outcomes of dilated cardiomyopathy in children. *JAMA*. 2006;296:1867–76.
13. Bowles NE, Towbin JA. Molecular aspects of myocarditis. *Curr Opin Cardiol*. 1998 May;13(3):179-84.



14. Sagar S, Liu PP, Cooper LT. Myocarditis. *Lancet* 2013; 379:738–747.
15. Felker GM, Thompson RE, Hare JM, Hruban RH, Clemetson DE, Howard DL, Baughman KL, Kasper EK. Underlying causes and longterm survival in patients with initially unexplained cardiomyopathy. *N Engl J Med* 2000; 342: 1077–1084.
16. Magnani JW, Danik HJ, Dec GW Jr, DiSalvo TG. Survival in biopsy-proven myocarditis: a long-term retrospective analysis of the histopathologic, clinical, and hemodynamic predictors. *Am Heart J.* 2006 Feb;151(2):463-70.
17. Mason JW. Myocarditis and dilated cardiomyopathy: an inflammatory link. *Cardiovasc Res.* 2003;60:5–10.
18. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, Dickstein K, Falk V, Filippatos G, Fonseca C, Gomez-Sanchez MA, Jaarsma T, Køber L, Lip GY, Maggioni AP, Parkhomenko A, Pieske BM, Popescu BA, Rønnevik PK, Rutten FH, Schwitter J, Seferovic P, Stepinska J, Trindade PT, Voors AA, Zannad F, Zeiher A; Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology, Bax JJ, Baumgartner H, Ceconi C, Dean V, Deaton C, Fagard R, Funck-Brentano C, Hasdai D, Hoes A, Kirchhof P, Knuuti J, Kolh P, McDonagh T, Moulin C, Popescu BA, Reiner Z, Sechtem U, Sirnes PA, Tendera M, Torbicki A, Vahanian A, Windecker S, McDonagh T, Sechtem U, Bonet LA, Avraamides P, Ben Lamin HA, Brignole M, Coca A, Cowburn P, Dargie H, Elliott P, Flachskampf FA, Guida GF, Hardman S, Iung B, Merkely B, Mueller C, Nanas JN, Nielsen OW, Orn S, Parissis JT, Ponikowski P; ESC Committee for Practice Guidelines. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail.*2012;14:803–869.
19. Pocock SJ, Ariti CA, McMurray JJ, Maggioni A, Køber L, Squire IB, Swedberg K, Dobson J, Poppe KK, Whalley GA, Doughty RN; Meta-Analysis Global Group in Chronic Heart Failure. Predicting survival in heart failure: a risk score based on 39 372 patients from 30 studies. *Eur Heart J.* 2013 May;34(19):1404-13.
19. Kühl U, Pauschinger M, Noutsias M, Seeberg B, Bock T, Lassner D, Poller W, Kandolf R, Schultheiss HP. High prevalence of viral genomes and multiple viral infections in the myocardium of adults with “idiopathic” left ventricular dysfunction. *Circulation.* 2005;111:887–93.
20. Kandolf R. Virus etiology of inflammatory cardiomyopathy. *Dtsch Med Wochenschr* 2004;129:2187–92.
21. Bowles NE, Ni J, Kearney DL, Pauschinger M, Schultheiss HP, McCarthy R, Hare J, Bricker JT, Bowles KR, Towbin JA. 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.* 2003;42:466–72.
22. Kuehl U, Schultheiss HP. Myocarditis in children. *Heart Fail Clin.* 2011;6:483–96.
23. Fujioka S, Kitaura Y, Ukimura A, Deguchi H, Kawamura K, Isomura T, Suma H, Shimizu A. Evaluation of viral infection in the myocardium of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2000;36:1920–6.

24. Cihakova D, Rose NR. Pathogenesis of myocarditis and dilated cardiomyopathy. *Adv Immunol.* 2008;99:95-114.
25. Why HJ, Meany BT, Richardson PJ, Olsen EG, Bowles NE, Cunningham L, Freeke CA, Archard LC. Clinical and prognostic significance of detection of enteroviral RNA in the myocardium of patients with myocarditis or dilated cardiomyopathy. *Circulation.* 1994;89:2582–9.
26. Pauschinger M, Phan MD, Doerner A, Kuehl U, Schwimmbeck PL, Poller W, Kandolf R, Schultheiss HP. Enteroviral RNA replication in the myocardium of patients with left ventricular dysfunction and clinically suspected myocarditis. *Circulation* 1999; 99: 889–895.
27. Noutsias M, Fechner H, de Jonge H, Wang X, Dekkers D, Houtsmuller AB, Pauschinger M, Bergelson J, Warraich R, Yacoub M, Hetzer R, Lamers J, Schultheiss HP, Poller W. Human coxsackie-adenovirus receptor is colocalized with integrins alpha(v)beta(3) and alpha(v)beta(5) on the cardiomyocyte sarcolemma and upregulated in dilated cardiomyopathy: implications for cardiotropic viral infections. *Circulation.* 2001;104:275–80.
28. Pauschinger M, Bowles NE, Fuentes-Garcia FJ, Pham V, Kühl U, Schwimmbeck PL, Schultheiss HP, Towbin JA. Detection of adenoviral genome in the myocardium of adult patients with idiopathic left ventricular dysfunction. *Circulation.* 1999;99:1348–54.
29. Breinholt JP, Moulik M, Dreyer WJ, Denfield SW, Kim JJ, Jefferies JL, Rossano JW, Gates CM, Clunie SK, Bowles KR, Kearney DL, Bowles NE, Towbin JA. Viral epidemiologic shift in inflammatory heart disease: the increasing involvement of parvovirus B19 in the myocardium of pediatric cardiac transplant patients. *J Heart Lung Transplant.* 2010;29:739–46.
30. Norja P, Hokynar K, Aaltonen LM, Chen R, Ranki A, Partio EK, Kiviluoto O, Davidkin I, Leivo T, Eis-Hübinger AM, Schneider B, Fischer HP, Tolba R, Vapalahti O, Vaheri A, Söderlund-Venermo M, Hedman K. Bioportfolio: Lifelong persistence of variant and prototypic erythrovirus DNA genomes in human tissue. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2006;103:7450–53.
31. Kühl U, Lassner D, Pauschinger M, Gross UM, Seeberg B, Noutsias M, Poller W, Schultheiss HP. Prevalence of erythrovirus genotypes in the myocardium of patients with dilated cardiomyopathy. *J Med Virol.* 2008 Jul;80(7):1243-51.
32. Kuhl U, Lassner D, Dorner A, Rohde M, Escher F, Seeberg B, Hertel E, Tschöpe C, Skurk C, Gross UM, Schultheiss HP, Poller W. A distinct subgroup of cardiomyopathy patients characterized by transcriptionally active cardiotropic erythrovirus and altered cardiac gene expression. *Basic Res Cardiol.* 2013 Sep;108(5):372.
33. Bültmann BD, Klingel K, Sotlar K, Bock CT, Baba HA, Sauter M, Kandolf R. Fatal parvovirus B19-associated myocarditis clinically mimicking ischemic heart disease: an endothelial cell-mediated disease. *Hum Pathol.* 2003;34:92–5.
34. Tschöpe C, Bock CT, Kasner M, Noutsias M, Westermann D, Schwimmbeck PL, Pauschinger M, Poller WC, Kühl U, Kandolf R, Schultheiss HP. High prevalence of cardiac parvovirus B19 infection in patients with isolated left ventricular diastolic dysfunction. *Circulation.* 2005 Feb 22;111(7):879-86. Epub 2005 Feb 14.

35. Kühl U, Rohde M, Lassner D, Gross UM, Escher F, Schultheiss HP. miRNA as activity markers in Parvo B19 associated heart disease. *Herz*. 2012 Sep;37(6):637-43.
36. Escher F, Modrow S, Sabi T, Kühl U, Lassner D, Schultheiss HP, Noutsias M. Parvovirus B19 profiles in patients presenting with acute myocarditis and chronic dilated cardiomyopathy. *Med Sci Monit*. 2008 Dec;14(12):CR589-97.
37. Escher F, Kuhl U, Sabi T, Suckau L, Lassner D, Poller W, Schultheiss HP, Noutsias M. Immunohistological detection of Parvovirus B19 capsid proteins in endomyocardial biopsies from dilated cardiomyopathy patients. *Med Sci Monit*. 2008 Jun;14(6):CR333-338.
38. Bock CT, Klingel K, Kandolf R. Human parvovirus B19-associated myocarditis. *N Engl J Med*. 2010 Apr 1;362(13):1248-1249.
39. Schmidt-Lucke C, Zobel T, Schrepfer S, Kühl U, Wang D, Klingel K, Becher PM, Fechner H, Pozzuto T, Van Linthout S, Lassner D, Spillmann F, Escher F, Holinski S, Volk HD, Schultheiss HP, Tschöpe C. *J Infect Dis*. 2015 Mar 24.
40. Di Luca D, Mirandola P, Ravaioli T, Bigoni B, Cassai E. Distribution of HHV-6 variants in human tissues. *Infect Agents Dis*. 1996;5:203–14.
41. F. Escher, U. Kühl, U. Gross, D. Westermann, W. Poller, C. Tschöpe, D. Lassner, H.-P. Schultheiss Aggravation of left ventricular dysfunction in patients with biopsy-proven cardiac human herpesvirus A and B infection. *Clin Virol*. 2015 Feb;63:1-5.
42. Caruso A, Rotola A, Comar M, Favilli F, Galvan M, Tosetti M, Campello C, Caselli E, Alessandri G, Grassi M, Garrafa E, Cassai E, Di Luca D. HHV-6 infects human aortic and heart microvascular endothelial cells, increasing their ability to secrete proinflammatory chemokines. *J Med Virol*. 2002;67:528–33.
43. Kühl U, Lassner D, Wallaschek N, Gross UM, Krueger GR, Seeberg B, Kaufer BB, Escher F, Poller W, Schultheiss HP. Chromosomally integrated human herpesvirus 6 in heart failure: prevalence and treatment. *Eur J Heart Fail*. 2015 Jan;17(1):9-19.
44. Fotheringham J, Akhyani N, Vortmeyer A, Donati D, Williams E, Oh U, Bishop M, Barrett J, Gea-Banacloche J, Jacobson S. Detection of active human herpesvirus-6 infection in the brain: correlation with polymerase chain reaction detection in cerebrospinal fluid. *J Infect Dis*. 2007;195:450–4.
45. Krueger GRF, Rojo J-, Buja LM, Lassner D, Kuehl U. Human herpesvirus-6 (HHV-6) is a possible cardiac pathogen: An immunohistological and ultrastructural study. *Hospital General*. 2008;71:187–91.
46. Biopsy-proven autoimmune myocarditis in HIV-associated dilated cardiomyopathy. Frustaci A, Petrosillo N, Francone M, Verardo R, Ippolito G, Chimenti C. *BMC Infect Dis*. 2014 Dec 31;14(1):3855.
47. Kühl U, Lassner D, von Schlippenbach J, Poller W, Schultheiss HP. Interferon-beta-Improves Survival in Enterovirus-Associated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2012;60:1295–6.

48. Caforio AL, Calabrese F, Angelini A, Tona F, Vinci A, Bottaro S, Ramondo A, Carturan E, Iliceto S, Thiene G, Daliento L. A prospective study of biopsy-proven myocarditis: prognostic relevance of clinical and aetiopathogenetic features at diagnosis. *Eur Heart J* 2007; 28: 1326–33.
49. Youn JC, Shim HS, Lee JS, Ji AY, Oh J, Hong N, Lee HS, Park S, Lee SH, Choi D, Chung N, Kang SM. Detailed pathologic evaluation on endomyocardial biopsy provides long-term prognostic information in patients with acute myocarditis. *Cardiovasc Pathol*. 2014 May-Jun;23(3):139-44.
50. Zhao R, Zhou H, Su SB. A critical role for interleukin-1 $\beta$  in the progression of autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol*. 2013 Nov;17(3):658-69.
51. Nishii M, Inomata T, Izumi T. Fulminant myocarditis: Cytokines and assisted circulation. *Nihon Naika Gakkai Zasshi*. 2007 Oct 10;96(10):2296-304.
52. McCarthy RE 3rd, Boehmer JP, Hruban RH, Hutchins GM, Kasper EK, Hare JM, Baughman KL. Long-term outcome of fulminant myocarditis as compared with acute (nonfulminant) myocarditis. *N Engl J Med*. 2000 Mar 9;342(10):690-5.
53. Kania G, Blyszczuk P, Müller-Edenborn B, Eriksson U. Novel therapeutic options in inflammatory cardiomyopathy. *Swiss Med Wkly*. 2013 Aug 27;143:w13841.
54. Liu CC, Walsh CM, Young JD. Perforin: structure and function. *Immunol Today* 1995; 16 (4):194-201.
55. Seko Y, Shinkai Y, Kawasaki A, Yagita H, Okumura K, Yazaki Y. Evidence of perforin-mediated cardiac myocyte injury in acute murine myocarditis caused by Coxsackie virus B3. *J Pathol*. 1993 May;170(1):53-8.
56. Gebhard JR, Perry CM, Harkins S, Lane T, Mena I, Asensio VC, Campbell IL, Whitton JL. Coxsackievirus B3-induced myocarditis: perforin exacerbates disease, but plays no detectable role in virus clearance. *Am J Pathol*. 1998 Aug;153(2):417-28.
57. Henke A, Huber S, Stelzner A, Whitton JL. The role of CD8+ T lymphocytes in coxsackievirus B3-induced myocarditis. *J Virol*. 1995 Nov;69(11):6720-8.
58. Noutsias M, Pauschinger M, Schultheiss HP, Kühl U. Cytotoxic perforin-positive and TIA-1+ infiltrates are associated with cell adhesion molecule expression in dilated cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail*. 2003 Aug;5(4):469-79.
59. Badorff C, Noutsias M, Kühl U, Schultheiss HP. Cell-mediated cytotoxicity in hearts with dilated cardiomyopathy: correlation with interstitial fibrosis and foci of activated T lymphocytes. *J Am Coll Cardiol*. 1997 Feb;29(2):429-34.
60. Yoshida T, Hanawa H, Toba K, Watanabe H, Watanabe R, Yoshida K, Abe S, Kato K, Kodama M, Aizawa Y. Expression of immunological molecules by cardiomyocytes and inflammatory and interstitial cells in rat autoimmune myocarditis. *Cardiovasc Res*. 2005 Nov 1;68(2):278-88. Epub 2005 Jul 12.

61. Westermann D, Savvatis K, Lindner D, Zietsch C, Becher PM, Hammer E, Heimesaat MM, Bereswill S, Völker U, Escher F, Riad A, Plendl J, Klingel K, Poller W, Schultheiss HP, Tschöpe C. Reduced degradation of the chemokine MCP-3 by matrix metalloproteinase-2 exacerbates myocardial inflammation in experimental viral cardiomyopathy. *Circulation*. 2011 Nov 8;124(19):2082-93.
62. Westermann D, Lindner D, Kasner M, Zietsch C, Savvatis K, Escher F, von Schlippenbach J, Skurk C, Steendijk P, Riad A, Poller W, Schultheiss HP, Tschöpe C. Cardiac inflammation contributes to changes in the extracellular matrix in patients with heart failure and normal ejection fraction. *Circ Heart Fail*. 2011 Jan;4(1):44-52.
63. Pinamonti B, Alberti E, Cigalotto A, Dreas L, Salvi A, Silvestri F, Camerini F. Echocardiographic findings in myocarditis. *American Journal of Cardiology*. 1988 Aug 1;62(4):285-91.
64. M. Dandel and R. Hetzer, Echocardiographic strain and strain rate imaging—clinical applications,” *International Journal of Cardiology*, 2009;132 (1):11–24.
65. Vartdal T, Pettersen E, Helle-Valle T, Lyseggen E, Andersen K, Smith HJ, Aaberge L, Smiseth OA, Edvardsen T. Identification of viable myocardium in acute anterior infarction using duration of systolic lengthening by tissue Doppler strain: a preliminary study. *J Am Soc Echocardiogr*. 2012 Jul;25(7):718-25.
66. L. Afonso, P. Hari, V. Pidlaon, A. Kondur, S. Jacob, V. Khetarpal. Acute myocarditis: Can novel echocardiographic techniques assist with diagnosis? *Eur J Echocardiogr*. 2010 Apr;11(3):E5.
67. Kasner M, Sinning D, Escher F, Lassner D, Kühl U, Schultheiss HP, Tschöpe C. The utility of speckle tracking imaging in the diagnostic of acute myocarditis, as proven by endomyocardial biopsy. *Int J Cardiol*. 2013 Oct 3;168(3):3023-4.
68. Thiene G, Bruneval P, Veinot J, Leone O. Diagnostic use of the endomyocardial biopsy: a consensus statement. *Virchows Arch*. 2013 Jul;463(1):1-5.
69. Chimenti C, Frustaci A. Contribution and risks of left ventricular endomyocardial biopsy in patients with cardiomyopathies: retrospective study over a 28-year period. *Circulation*. 2013;128:1531–41.
70. Cooper LT, Baughman KL, Feldman AM, Frustaci A, Jessup M, Kuhl U, Levine GN, Narula J, Starling RC, Towbin J, Virmani R; American Heart Association; American College of Cardiology; European Society of Cardiology. The role of endomyocardial biopsy in the management of cardiovascular disease: a scientific statement from the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology. *Circulation* 2007;116:2216–33.

71. Caforio AL, Pankuweit S, Arbustini E, Basso C, Gimeno-Blanes J, Felix SB, Fu M, Heliö T, Heymans S, Jahns R, Klingel K, Linhart A, Maisch B, McKenna W, Mogensen J, Pinto YM, Ristic A, Schultheiss HP, Seggewiss H, Tavazzi L, Thiene G, Yilmaz A, Charron P, Elliott PM; European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J.* 2013 Sep;34(33):2636-48, 2648a-2648d.
72. Pankuweit S, Portig I, Maisch B. Pathophysiology of cardiac inflammation: molecular mechanisms. *Herz.* 2002;27(7):669-76.
73. Lindner D, Li J, Savvatis K, Klingel K, Blankenberg S, Tschöpe C, Westermann D. Cardiac fibroblasts aggravate viral myocarditis: cell specific coxsackievirus B3 replication. *Mediators Inflamm.* 2014;2014:519528.
74. Kereiakes DJ, Parmley WW. Myocarditis and cardiomyopathy. *Am Heart J.* 1984;108:1318–26.
75. Liu PP, Opavsky MA. Viral myocarditis: receptors that bridge the cardiovascular with the immune system? *Circ Res.* 2000;86:253–4.
76. MJ Sole, P Liu. Viral myocarditis: a paradigm for understanding the pathogenesis and treatment of dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 1993;22:99A–105A.
77. Fechner H, Noutsias M, Tschöpe C, Hinze K, Wang X, Escher F, Pauschinger M, Dekkers D, Vetter R, Paul M, Lamers J, Schultheiss HP, Poller W. Induction of coxsackievirus-adenovirus-receptor expression during myocardial tissue formation and remodeling: identification of a cell-to-cell contact-dependent regulatory mechanism. *Circulation.* 2003 Feb 18;107(6):876-82.
78. Fairweather D, Frisancho-Kiss S, Rose NR. Viruses as adjuvants for autoimmunity: evidence from Coxsackievirus-induced myocarditis. *Rev Med Virol.* 2005;15:17–27.
79. Kindermann I, Kindermann M, Kandolf R, Klingel K, Bultmann B, Muller T, Lindinger A, Böhm M. Predictors of outcome in patients with suspected myocarditis. *Circulation.* 2008;118:639-648.
80. Young LH, Joag SV, Zheng LM, Lee CP, Lee YS, Young JD. Perforin-mediated myocardial damage in acute myocarditis. *Lancet.* 1990 Oct 27;336(8722):1019-21.
81. Y Seko, Y Shinkai, A Kawasaki, H Yagita, K Okumura, F Takaku, Y Yazaki. Expression of perforin in infiltrating cells in murine hearts with acute myocarditis caused by coxsackievirus B3. *Circulation,* 84 (1991), pp. 788–795.
82. JF Woodruff, JJ Woodruff. Involvement of T lymphocytes in the pathogenesis of coxsackie virus B3 heart disease. *J Immunol.* 1974;113:1726–1734.
83. Holzmann M, Nicko A, Kühl U, Noutsias M, Poller W, Hoffmann W, Morguet A, Witzenbichler B, Tschöpe C, Schultheiss HP, Pauschinger M. Complication rate in right ventricular endomyocardial biopsy – A retro- and prospective study over a 11 year period analyzing 3048 diagnostic procedures. *Circulation.* 2008 Oct 21;118(17):1722-8.

## **Danksagung**

Mein besonderer Dank gilt meinem ehemaligem Klinikdirektor Prof. Heinz-Peter Schultheiss, in dessen Klinik ich - vor allem im Rahmen des Sonderforschungsbereiches (SFB TR19) - meine wissenschaftliche Arbeit durchführen durfte. Er unterstützte mich dabei stets uneingeschränkt nicht nur bei der Entwicklung meiner wissenschaftlichen, sondern auch meiner klinischen Laufbahn. Ich fand in seiner Klinik immer die besten Voraussetzungen während dieser Zeit und bin dankbar für die fortwährende Förderung.

Mein besonderer Dank gilt ebenfalls Herr Prof. Carsten Tschöpe, in dessen Arbeitsgruppe mein wissenschaftlicher Werdegang begann. Unsere über die Jahre stets anregende Diskussion befähigte mich, meine wissenschaftliche Arbeit erfolgreich durchzuführen. Mein Dank gilt zudem den Mitgliedern der Arbeitsgruppe.

Ich danke Herrn Prof. Burkert Pieske für seine aktuelle Unterstützung und insbesondere für die Möglichkeit, die wissenschaftliche Arbeit an seiner Klinik zukünftig fortführen zu dürfen.

Mein großer Dank gilt dem Institut für kardiale Diagnostik und Therapie (IKDT), hier namentlich Herrn Dr. D. Lassner, Herrn Prof. U. Gross und Herrn Dr. U. Kühl für die nun schon viele Jahre bestehende ausgezeichnete gemeinsame Arbeit und den Erfahrungsaustausch. Insbesondere den „Damen“ des Institutes, namentlich Frau Dr. M. Rohde, Frau Dr. C. Siegismund, Frau S. Ochmann, Frau C. Seifert, Frau K. Winter und Frau Erami sei dabei für ihre hervorragende Arbeit gedankt.

Zudem bedanke ich mich bei allen weiteren Wissenschaftlerinnen und Wissenschaftlern, mit denen ich kooperieren durfte.

Persönlich bedanken möchte ich mich bei meinem guten Freund Martin, der mich während meiner wissenschaftlichen und klinischen Arbeit zu jeder Zeit so unterstützt und motiviert hat.

Zuletzt bedanke ich mich bei unseren Patienten für Ihre Bereitschaft zur Teilnahme an den Untersuchungen und Studien zur weiteren Erforschung dieses Krankheitsbildes.



**Eidesstattliche Erklärung**

§ 4 Abs. 3 (k) der HabOMed der Charité

Hiermit erkläre ich, dass

- weder früher noch gleichzeitig ein Habilitationsverfahren durchgeführt oder angemeldet wird bzw. wurde,
- die vorgelegte Habilitationsschrift ohne fremde Hilfe verfasst, die beschriebenen Ergebnisse selbst gewonnen sowie die verwendeten Hilfsmittel, die Zusammenarbeit mit anderen Wissenschaftlern/Wissenschaftlerinnen und mit technischen Hilfskräften sowie die verwendete Literatur vollständig in der Habilitationsschrift angegeben wurden,
- mir die geltende Habilitationsordnung bekannt ist.

Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charite – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

.....  
Datum

.....  
Unterschrift