

Aus der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Kardiologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Kaskadenscreening bei pädiatrischen Patienten mit primärer
Kardiomyopathie mittels Tissue Tagging

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Lisa-Marie Mielenz (geb. Enger)

aus Frankfurt (Oder)

Datum der Promotion: 13.12. 2019

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	4
Abstract	5
Abstrakt	6
1. Einleitung	8
1.1. Definition und Klassifikation der Kardiomyopathien	8
1.1.1. Primäre Kardiomyopathien	9
1.1.1.1. Dilatative Kardiomyopathie	10
1.1.1.2. Hypertrophe Kardiomyopathie	11
1.1.1.3. Linksventrikuläre Noncompaction-Kardiomyopathie	12
1.1.1.4. Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie	13
1.1.1.5. Restriktive Kardiomyopathie	13
1.1.2. Sekundäre Kardiomyopathien	14
1.2. Diagnostische Möglichkeiten zur Evaluation der Kardiomyopathien	15
1.2.1. Spiroergometrie	15
1.2.2. Laborparameter: Pro-BNP	15
1.2.3. Genetische Analyse durch Next Generation Sequencing	16
1.2.4. Das kardiovaskuläre Tagging	17
1.3. Zielsetzung der Arbeit	19
2. Methodik	20
2.1. Patientenkollektiv	20
2.2. Einschlusskriterien	20
2.3. Klinische Untersuchungen	20
2.4. Spiroergometrie	22
2.5. Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie	22
2.5.1. Akquisitionsprotokoll	22
2.5.2. Tagging Auswertung	24
2.6. Genetische Analyse	28
2.7. Statistische Analyse	28

3. Ergebnisse	29
3.1. Basischarakteristika	29
3.1.1. Indexpatienten	29
3.1.2. Familienangehörige	30
3.2. Laborergebnisse	32
3.3. Daten Spiroergometrie	34
3.4. MRT-Daten	36
3.4.1. MRT Basisdaten	37
3.4.2. Tagging im Vierkammerblick (4CH) und Zweikammerblick (2CH)	38
3.4.3. Tagging in der kurzen Herzachse (SAX)	40
3.5. Genetische Untersuchung der Indexpatienten	43
3.6. Genetische Untersuchung der Familienangehörigen	44
3.7. Late Gadolinium Enhancement	46
3.7.1. Indexpatienten	46
3.7.2. Familienangehörige	46
4. Diskussion	48
4.1. Interpretation der MRT-Daten	48
4.2. Interpretation der spiroergometrischen Daten	50
4.3. Genotyp-Phänotyp-Korrelation	51
5. Zusammenfassung	52
6. Limitationen	53
7. Literaturverzeichnis	54
8. Tabellenverzeichnis	59
9. Abbildungsverzeichnis	60
10. Eidesstattliche Erklärung	63
11. Lebenslauf	64
12. Danksagung	65

Abkürzungsverzeichnis

ARVC	Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie
CS	Circumferentieller Strain
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
HCM	Hypertrophe Kardiomyopathie
HNCM	Hypertrophe nicht obstruktive Kardiomyopathie
HOCM	Hypertrophe obstruktive Kardiomyopathie
KFO	Körperoberfläche
KMP	Kardiomyopathie
LGE	Late gadolinum enhancement
LS	Longitudinaler Strain
LVEDV	Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen
LVEF	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVESV	Linksventrikuläres endsystolisches Volumen
LVNC	Linksventrikuläre Noncompaction Kardiomyopathie
LVOT	Linksventrikulärer Ausflusstrakt
NYHA	New York Heart Association
PCM	Primäre Kardiomyopathien
RCM	Restriktive Kardiomyopathie
RS	Radialer Strain
RVEDV	Rechtsventrikuläres enddiastolisches Volumen
RVEF	Rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion
RVESV	Rechtsventrikuläres endsystolisches Volumen
RVOT	Rechtsventrikulärer Ausflusstrakt
SAX	Kurze Herzachse
4CH	Vierkammerblick
2CH	Zweikammerblick

Abstract

Cascade screening in pediatric patients with primary cardiomyopathy using tissue tagging

Introduction:

Cardiomyopathies (CMP) are heterogeneous, rare heart muscle diseases and a common cause of heart failure. Of particular importance is therefore an early detection and regular examinations. In patients with CMP cardiovascular magnetic resonance (CMR) tissue tagging facilitates the evaluation of regional myocardial function. This study aimed to perform a cascade screening in pediatric CMP patients and their family members by using tissue tagging and comparing it to genetic and diagnostic data.

Methods:

CMP patients and their relatives underwent CMR with tagging sequences to generate longitudinal (LS), circumferential (CS), radial (RS) and global longitudinal strain (GLS) values, as well as cardiopulmonary exercise testing, determination of brain natriuretic peptide (BNP) and genetic testing.

Results:

Nineteen CMP patients (median age 12.5 years) and 65 family members (FM) (52 adults, 41.0 years; 13 siblings, 16.5 years) were analyzed. Patients diagnoses were: 26.3% dilated, 31.6% hypertrophic, 26.3% left ventricular noncompaction, 5.3% restrictive and 10.5% arrhythmogenic right ventricular CMP. In between CMP groups the median midventricular CS revealed a significantly difference with lowest values in DCM patients ($p= 0.033$). The GLS (-11.4 % vs. -13.2 %, $p= 0.025$) and midventricular CS (-16.4 vs. -18.6, $p= 0,015$) differed significantly between patients and FM without pheno- or genotypical signs of CMP. There was a negative correlation between maximal oxygen uptake and midventricular CS ($p= 0.024$; $r_s= -0.562$), RS ($p= 0.009$; $r_s= -0.713$) and apical CS ($p= 0.003$; $r_s= -0.685$). Furthermore BNP was positively correlated with GLS ($p= 0.009$; $r_s= -0,292$). In phenotype positive family members apical CS ($p= 0.032$) and 4-chamber LS ($p= 0.037$) were significantly reduced compared to phenotype negative relatives.

Conclusions:

The reduction of strain values in pediatric CMP patients and affected FM in contrast to non-affected FM can be an indication of early dysfunction and supports tissue tagging as a method for risk stratification.

Abstrakt

Kaskadenscreening bei pädiatrischen Patienten mit primärer Kardiomyopathie mittels Tissue Tagging

Hintergrund:

Kardiomyopathien (CMP) sind heterogene, seltene Herzmuskelerkrankungen und eine häufige Ursache für Herzinsuffizienz. Von besonderer Bedeutung sind eine frühzeitige Diagnosestellung und regelmäßige Untersuchungen. Die kardiovaskuläre MRT erlaubt bei Patienten mit CMP die Beurteilung regionaler Myokardfunktion mittels Tissue Tagging. Ziel dieser Studie war es ein Kaskadenscreening bei pädiatrischen Patienten mit CMP und ihren Familienangehörigen durchzuführen, indem Tissue Tagging verwendet und mit genetischen und diagnostischen Daten verglichen wird.

Methoden:

Patienten mit CMP und ihre Angehörigen unterzogen sich einer kardiovaskulären MRT zur Bestimmung des longitudinalen (LS), circumferentiellen (CS), radialen (RS) und globalen longitudinalen Strains (GLS), sowie einer spiroergometrischen Untersuchung, Bestimmung des B-Typ natriuretischen Peptids (BNP) und einer genetischen Diagnostik.

Ergebnisse:

Es wurden die Daten von 19 Indexpatienten (medianes Alter 12.5 Jahre) und 65 Familienangehörige (FA) (52 Eltern, 41.0 Jahre; 13 Geschwister, 16.5 Jahre) ausgewertet. Die Diagnosen der CMP-Patienten waren: 26.3% dilatative, 31.6% hypertrophe, 26.3% linksventrikuläre non-compaction, 5.3% restriktive und 10.5% arrhythmogene rechtsventrikuläre CMP. Zwischen den CMP-Gruppen zeigte sich ein signifikanter Unterschied im mittventrikulären CS ($p=0.033$), mit den niedrigsten Werten bei Patienten mit DCM (-6.8%). Der GLS (-11.4 % vs. -13.2 %, $p=0.025$) sowie der mittventrikuläre CS (-16.4% vs. -18.6%, $p=0.015$) unterschieden sich signifikant zwischen den Patienten und Familienangehörigen ohne phäno- oder genotypische Zeichen einer CMP. Es ergab sich eine negative Korrelation zwischen der maximalen Sauerstoffaufnahme und dem mittventrikulären CS ($p=0.024$; $r_s=-0.562$) sowie RS ($p=0.009$; $r_s=-0.713$) und apikalen CS ($p=0.003$; $r_s=-0.685$). Des Weiteren korrelierte BNP mit dem GLS ($p=0.009$; $r_s=-0,292$) positiv. Bei phänotypisch positiven Familienangehörigen waren der apikale CS ($p=0.032$) und der 4-Kammer-LS ($p=0.037$) im Vergleich zu phänotypisch negativen Angehörigen signifikant reduziert.

Schlussfolgerungen:

Die Reduzierung der Strainwerte bei pädiatrischen CMP Patienten und betroffenen Angehörigen im Gegensatz zu nicht betroffenen Angehörigen kann ein Hinweis auf eine frühe myokardiale Funktionsstörung sein. Folglich kann das Tissue Tagging als Methode zur Risikostratifizierung hinzu gezogen werden.

1. Einleitung

1.1. Definition und Klassifikation der Kardiomyopathien

Kardiomyopathien (KMP) sind Herzmuskelerkrankungen, deren Ätiologie und phänotypische Ausprägung sehr heterogen sind. Die Weltgesundheitsorganisation (WHO) definiert KMP als Erkrankung des Myokards, die mit einer kardialen Dysfunktion einhergeht [1]. Maron definierte sie 2006 als: „heterogene Gruppe von Erkrankungen des Myokards, die mit mechanischen und/oder elektrischen Funktionsstörungen einhergehen und üblicherweise (aber nicht zwingend) eine Hypertrophie oder Dilatation der Herzkammern verursachen mit vielfältigen Ursachen und oft genetisch bedingt sind“ [2]. Sie werden in primäre (genetisch, gemischt, erworben) und sekundäre Formen unterteilt. KMP können neben der Herzbeteiligung auch Teil einer Systemerkrankung sein, die zu kardiovaskulären Todesfällen oder einer fortschreitenden Herzinsuffizienz führen können [2]. Eine weitere Definition erfolgte durch die „European Society of Cardiology“ im Jahr 2014. Demnach werden Kardiomyopathien durch strukturelle und funktionelle Anomalitäten des ventrikulären Myokards definiert, die durch eine strömungsbegrenzende Koronararterienerkrankung oder Belastungszustände nicht erklärbar sind [3]. Bei Patienten mit Verdacht auf eine KMP erfolgt eine ausführliche Diagnostik mit Anamneseerhebung, Spiroergometrie, Elektrokardiogramm, Echokardiographie, Myokardbiopsie, laborchemische und genetische Analyse sowie weitere bildgebende Verfahren wie kardiovaskuläre MRT und Koronarangiographie. Dieses Kaskadenscreening ist zur Detektion bisher phänotypisch gesunder Familienangehöriger von besonderer Bedeutung [4].

Beim Auftreten von Herzinsuffizienz kommt es zum Unvermögen des Herzens die Körperperipherie ausreichend mit Blut und Sauerstoff zu versorgen, um den Gewebestoffwechsel in Ruhe oder Belastung sicherzustellen. Sie ist gekennzeichnet durch charakteristische Symptome wie beispielsweise Dyspnoe, Leistungsminderung und Kongestion [5]. Die Einteilung erfolgt gemäß der Klassifikation der New York Heart Association (NYHA) (Tabelle 1).

Tabelle 1: NYHA Klassifikation bei Herzinsuffizienz [6]

NYHA-Stadium	Symptome
I	Keine körperliche Einschränkung. Alltägliche körperliche Belastung verursacht keine inadäquate Erschöpfung, HRST, Dyspnoe oder AP.
II	Leichter Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Keine Beschwerden in Ruhe. Alltägliche Belastung verursacht Erschöpfung, HRST, Dyspnoe oder AP.
III	Höhergradige Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit bei leichter Alltagsbelastung. Keine Beschwerden in Ruhe. Geringe körperliche Belastung verursacht Erschöpfung, HRST, Dyspnoe oder AP.
IV	Beschwerden bei allen körperlichen Aktivitäten und in Ruhe.

AP = Angina Pectoris; HRST= Herzrhythmusstörungen.

1.1.1. Primäre Kardiomyopathien

Die Inzidenz der primären Kardiomyopathie (PCM) liegt bei 1,1-1,5/100.000 Kindern unter 18 Jahren [7]. Sie werden in fünf Kategorien unterteilt: dilatative Kardiomyopathie (DCM), hypertrophe Kardiomyopathie (HCM), restriktive Kardiomyopathie (RCM), arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie (ARVC) sowie der non-compaction Kardiomyopathie (LVNC).

Zusätzlich werden die PCM nochmals in angeboren (genetisch), gemischt (angeboren und genetisch) sowie erworben unterteilt [2] (Abbildung 1).

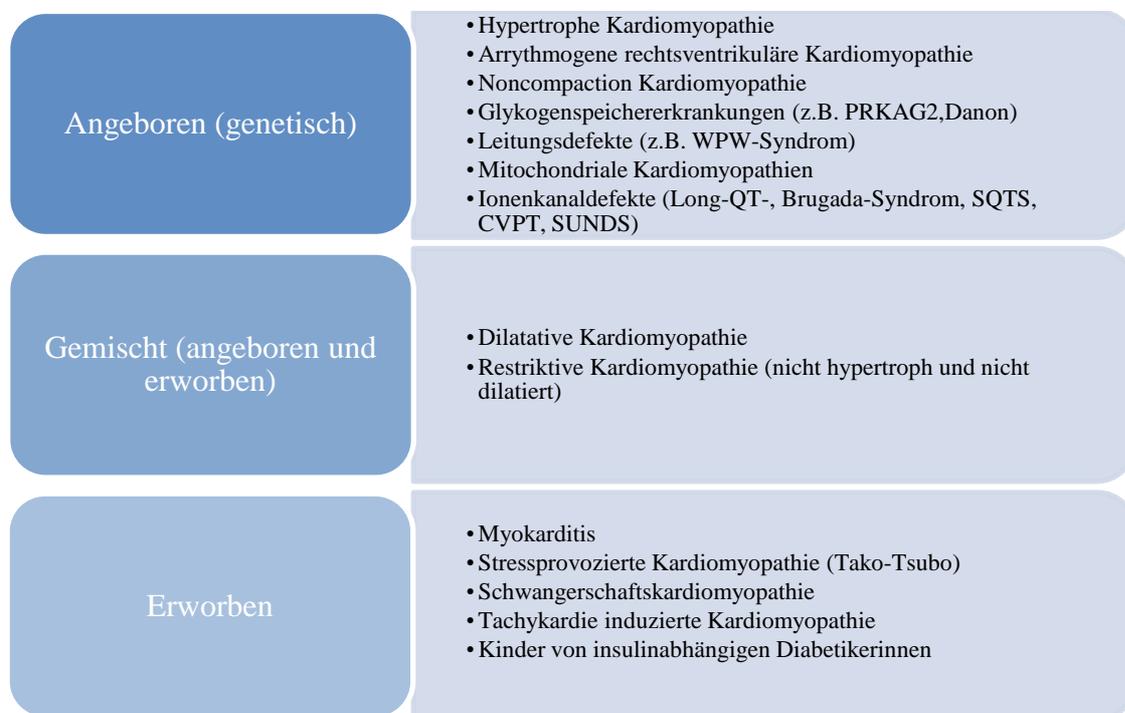


Abbildung 1: Einteilung der primären Kardiomyopathien [2]

1.1.1.1. Dilatative Kardiomyopathie

Die DCM stellt die häufigste Form der primären Kardiomyopathien dar. Bei Kindern liegt die Prävalenz der DCM bei 0,57/100.000 [8]. Phänotypisch kommt es zur Vergrößerung des linken Ventrikels einhergehend mit einer systolischen Funktionsstörung. Die DCM kann primär (genetisch oder erworben) oder sekundär durch autoimmune Prozesse ausgelöst werden. Sie ist die häufigste Indikationsstellung zur Herztransplantation im Kindesalter [9].

Klinisch findet man bei diesen Patienten Zeichen der Herzinsuffizienz wie Abgeschlagenheit, rezidivierende Infekte, Ödeme, Palpitationen und Belastungsdyspnoe [4].

Die pathologischen Manifestationen sind oft sehr unspezifisch. Die Ventrikel dilatieren und die Herzmuskelmasse nimmt zu (Abbildung 2). Jedoch findet sich keine abnormale Histopathologie der Herzmuskelzellen [12].

Mehr als 40 verschiedene Gene konnten bisher mit der DCM assoziiert werden. Diese Gene codieren für das Sarkomer und das Zytoskelett. Häufige Mutationen findet man in den Genen Myosin binding protein C (MYBPC3), Lamin A/C (LMNA) und schwere Myosinkette (MYH7) [10].

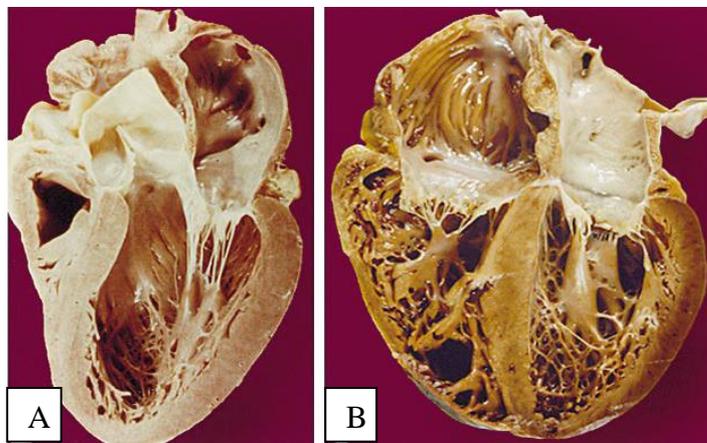


Abbildung 2: A= Gesundes Herz; B= Dilatative Kardiomyopathie [12]

1.1.1.2. Hypertrophe Kardiomyopathie

Die HCM ist charakterisiert durch eine asymmetrische Hypertrophie des linken Ventrikels. Die Prävalenz einer LV-Muskelzunahme liegt weltweit bei 0,02-0,23 %. Dabei wurde eine altersbedingte Prävalenz mit niedrigeren Raten bei Patienten unter dem 25. Lebensjahr festgestellt. In pädiatrischen Registern liegt die Inzidenz jährlich bei 0,3-0,5/100.000 Kindern, die Prävalenz ist unbekannt [3]. Abhängig vom Vorliegen einer Obstruktion der linksventrikulären Ausflussbahn lässt sich die obstruktive (HOCM) (ca. 70%) von der nicht-obstruktiven Form (HNCM) unterscheiden [11]. Bei einer höhergradigen Obstruktion des linksventrikulären Ausflusstrakts erfolgt eine chirurgische Erweiterung durch Myotomie bzw. Myektomie [4].

Histologisch findet man neben der Hypertrophie eine ungeordnete Aneinanderlagerung der Myozyten („Myocyte disarray“) (Abbildung 3). Des Weiteren weist das Myokard eine erhöhte interstitielle Fibrosierung auf [12]. Aufgrund des hypertrophierten linken Ventrikels kommt es zunächst meist nur zu einer Störung der diastolischen Herzfunktion.

Die Erkrankung manifestiert sich häufig schon im Kindesalter, allerdings ist die Mehrzahl der Patienten beschwerdefrei. Erste Symptome können Palpitationen, Synkopen, Leistungsminderung sowie Belastungsdyspnoe sein. Gründe die zum plötzlichen Herztod (SCD) führen (1-6 %/ Jahr) sind meist auftretende Herzrhythmusstörungen [4].

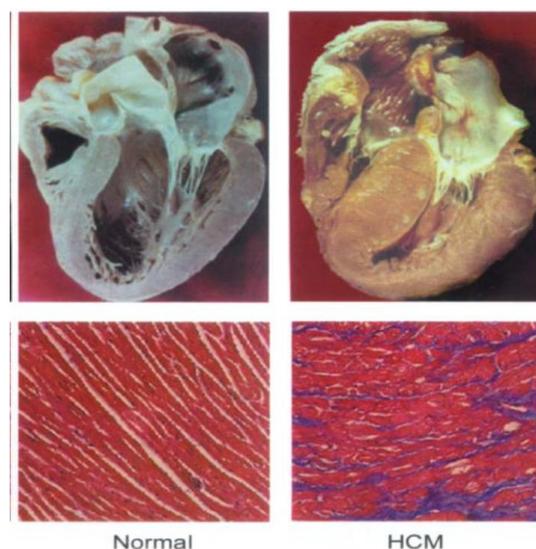


Abbildung 3: Links physiologische Herzarchitektur mit geordneten Myozyten; Rechts Darstellung einer massiven asymmetrischen linksventrikulären Hypertrophie sowie eine ungeordnete Aneinanderlagerung der Myozyten [13]

Die Pathophysiologie der HCM ist ein multifaktorielles Geschehen und resultiert aus genetischen Faktoren sowie morphologischen und elektrophysiologischen Veränderungen. Meist liegt ein autosomal-dominanter Vererbungsmechanismus vor, bei dem es zu Mutationen der Gene des kontraktilen Apparates kommt. Folgende Mutationen sind häufig: schwere Myosinkette 7 (MYH7), kardiales Troponin T sowie Myosin binding protein C 3 (MYBPC3) [14].

1.1.1.3. Linksventrikuläre Noncompaction-Kardiomyopathie

Die LVNC ist eine angeborene Herzmuskelerkrankung, welche charakterisiert ist durch ein zweischichtiges Myokard mit tiefen Recessus und vermehrter Trabekularisierung [15]. Die Inzidenz liegt bei 9,2 % aller Fälle mit PCM und stellt somit die dritthäufigste Kardiomyopathie dar [16].

Die LVNC zeigt ein ausgeprägtes trabekuläres Maschenwerk mit zahlreichen intratrabekulären Recessus des ventrikulären Myokards (Abbildung 4). Das Myokard des linken Ventrikels unterteilt sich in eine kompaktierte und nicht-kompaktierte Schicht und kann mit einer linksventrikulären Dilatation einher gehen [16]. Klinisch präsentieren sich die Patienten mit LVNC durch Herzinsuffizienz, ventrikuläre Arrhythmien oder systemischen Thrombembolien [8].

In der genetischen Diagnostik finden sich Mutationen in den Genen für schwere Myosinkette (MYH7), kardiales alpha-Aktin (ACTC) und kardiales Troponin T (TNNT2) [15].

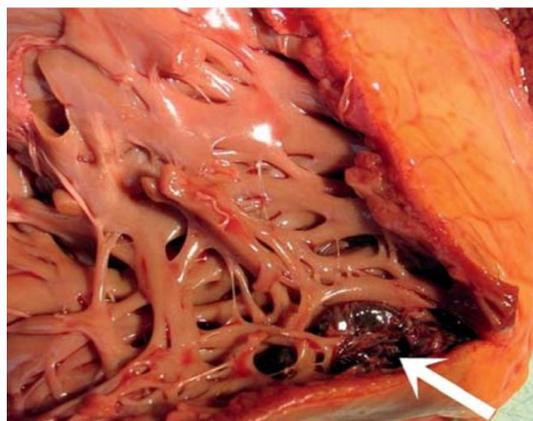


Abbildung 4: Präparat einer linksventrikulären Noncompaction-Kardiomyopathie mit ausgeprägter Trabekularisierung im linken Ventrikel, Pfeil =Thrombus [16]

1.1.1.4. Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie

Die ARVC ist eine sehr seltene Form (1:5000) der vererbten Herzmuskelerkrankungen [2]. Sie ist charakterisiert durch nicht-ischämische rechtsventrikuläre Arrhythmien. Es kommt zum Remodelling des rechten Ventrikels (RV), bei dem die Muskulatur durch Fettgewebe und Fibrose ersetzt wird (Abbildung 5). Daraus resultiert eine Dilatation des RV mit Aneurysmen und Reduktion der rechtsventrikulären Funktion. Das Leitsymptom der ARVC stellen plötzlich auftretende ventrikuläre Arrhythmien dar mit Synkopen oder Palpitationen, meist unter körperlicher Aktivität [4].

Die ARVC wird autosomal-dominant vererbt und häufig besteht eine Mutation der Gene, die für desmosomale Proteine (Desmoplakin, Plakophilin-2) codieren [2].



Abbildung 5: Kurzschnitt eines explantierten Herzens zeigt den fettgewebigen Umbau und eine ausgeprägte Trabekularisierung des rechten Ventrikels [18]

1.1.1.5. Restriktive Kardiomyopathie

Die RCM ist eine seltene angeborene Herzerkrankung im Kindesalter und macht 2-5% aller pädiatrischer Kardiomyopathien aus [19]. Pathophysiologisch kommt es zu einer herabgesetzten Compliance des Myokards eines oder beider Ventrikel. Daraus resultiert eine erschwerte Füllung der Ventrikel mit reduziertem diastolischem Ventrikelvolumen. Durch die verminderte Ventrikelfüllung kommt es zum Anstieg des Füllungsvolumens im vorgeschalteten Atrium und in der Folge zu einer Dilatation der Vorhöfe mit Rückstau des Blutes in den pulmonal- oder systemvenösen Kreislauf (Abbildung 6). Histologisch finden sich eine Myokardfibrose und eine Endokardfibroelastose [20].

Die klinische Symptomatik ist unspezifisch und richtet sich nach dem Grad der Herzinsuffizienz. Insbesondere die pulmonale Stauung führt zur Dyspnoe bei pulmonaler Hypertonie, die rechtsventrikuläre Dysfunktion zu Hepatomegalie und Perikardergüssen. Zusätzlich können HRST und Synkopen auftreten [4].

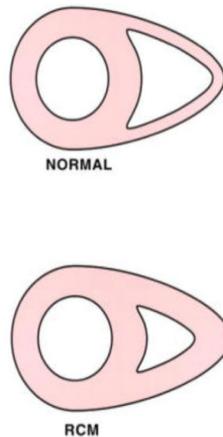


Abbildung 6: Modifizierte Darstellung der Morphologie eines gesunden Herzens sowie bei Restriktiver Kardiomyopathie [21]

1.1.2. Sekundäre Kardiomyopathien

Sekundäre KMP sind erworbene Erkrankungen, die aus systemischen Erkrankungen resultieren. Diese werden wie folgt unterteilt:

Tabelle 2: Einteilung der sekundären Kardiomyopathien [2]

Unterteilung	Erkrankungsbeispiele
Infiltrativ	Amyloidose
Speichererkrankungen	Hämochromatose
Toxisch	Drogen
Endomyokardial	Endomyokardiale Fibrose
Entzündlich	Sarkoidose
Endokrin	Diabetes mellitus
Kardiofazial	Noonan-Syndrom
Neurologisch	Neurofibromatose
Mangelernährung	Beriberi
Autoimmun	Systemischer Lupus erythematodes
Elektrolytentgleisungen	
Nach Tumorbehandlungen	Therapie mit Anthrazyclinen

1.2. Diagnostische Möglichkeiten zur Evaluation der Kardiomyopathien

1.2.1. Spiroergometrie

In der kardialen Diagnostik spielt die Spiroergometrie eine wichtige Rolle. Sie ermöglicht eine Beurteilung des Herz-Kreislauf-Systems, der Atmung und des Stoffwechsels während körperlicher Belastung. Während der Untersuchung werden Sauerstoff und Kohlendioxid sowie Lungenfunktionsparameter gemessen. Anhand dieser Variablen und der gemessenen Herzfrequenz können weitere Parameter ermittelt werden. Eine Standardmessgröße ist die Sauerstoffaufnahme bei Maximalbelastung (VO_{2max}). Sie gilt als wichtigster Parameter zur Bestimmung der aeroben Leistungsfähigkeit und der kardiorespiratorischen Funktion und setzt sich zusammen aus dem Produkt von Herzminutenvolumen (HMV) und arteriovenöser Sauerstoffdifferenz (a-v- DO_2) [22].

1.2.2. Laborparameter: Pro-BNP

Das B-natriuretische Peptid (BNP) ist ein Peptidhormon, welches als wichtiger Marker der Herzinsuffizienz zur Verfügung steht. Die Ventrikeldehnung ist ein Stimulus, der zur Ausschüttung dieser Hormone führt. Die Synthese des BNP erfolgt über die Vorstufe des proBNP. Durch Proteolyse entsteht aus proBNP das aktive BNP und das aminoterminal NT-proBNP wird freigesetzt. Die Spaltung erfolgt durch die Serinprotease Corin [23].

Für die diagnostische Verwendung dieser Laborparameter ist besonders der negativ prädiktive Wert entscheidend, d.h. die Wahrscheinlichkeit einer schwerwiegenden kardialen Erkrankung ist bei BNP-Werten im Normbereich gering [24]. NT-proBNP zeigte eine bessere Probenstabilität gegenüber BNP [25].

Bei Patienten mit gesicherter Herzinsuffizienz dient der kardiale Marker zur Risikostratifizierung und Verlaufskontrolle [26].

1.2.3. Genetische Analyse durch Next Generation Sequencing

In der molekulargenetischen Diagnostik nimmt die Sequenzierung der DNA einen großen Stellenwert ein. Die am häufigsten verwendete Dideoxymethode wurde im Jahr 1977 erstmalig durch Sanger beschrieben [27].

In großen Projekten wie das Humane Genom Projekt war es besonders wichtig, innerhalb kurzer Zeit und geringeren Kosten möglichst viel DNA zu sequenzieren. Daraufhin wurde das „next generation sequencing“ (NGS) durch das National Human Genome Research Institute entwickelt [28] (Abbildung 7).

Dies ist ein innovatives Verfahren zur Hochdurchsatz-Sequenzierung, bei dem viele parallele Sequenzierungen von Millionen DNA-Fragmenten in einem Sequenzierdurchlauf hergestellt werden.

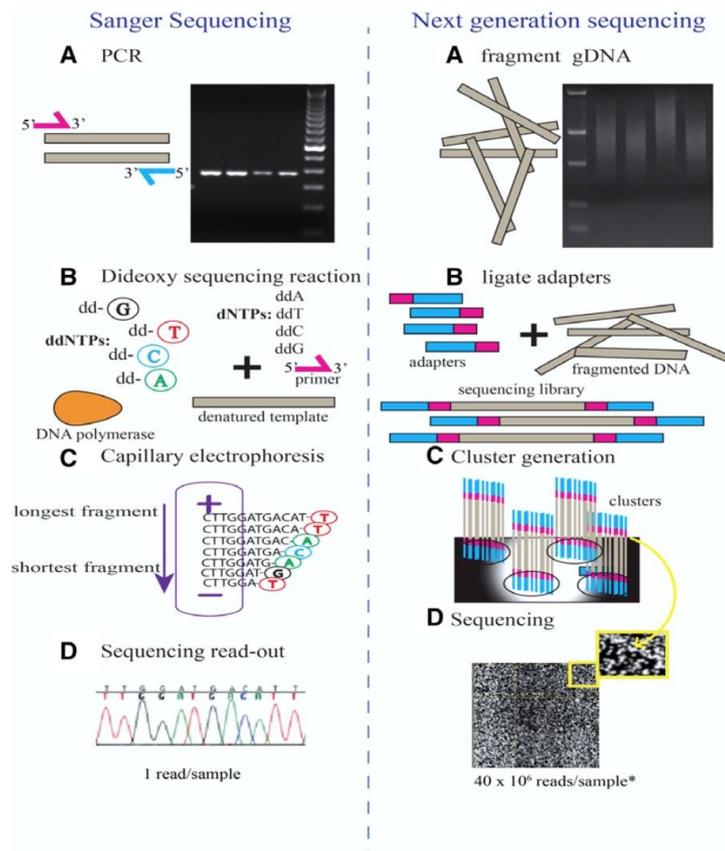


Abbildung 7: Vergleichende Darstellung der Sanger Sequenzierung und Next Generation Sequencing [29]

Die schnelle und kostengünstige Methode des NGS erfüllt die Voraussetzungen für den Nachweis genomischer Varianten in den Genen, die am häufigsten bei Kardiomyopathien vorkommen [30]. Dieses Verfahren hat sich etabliert im Kardiomyopathie-Screening sowie zur Risikostratifizierung bei Familienangehörigen [31].

1.2.4. Das kardiovaskuläre Tagging

Die kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie (MRT) dient unter anderem der quantitativen Bestimmung der globalen und regionalen myokardialen Funktion. Im Jahr 1988 wurde das myokardiale Tagging als eine nicht-invasive Methode zur Bestimmung der intramyokardialen Bewegung und Deformation des Herzens zum ersten Mal durch Zerhouni beschrieben [32].

Das linksventrikuläre Myokard bewegt sich aufgrund seiner Schichtung in eine radiale, circumferentielle und longitudinale Richtung während der Herzaktion [33] (Abbildung 8). Dabei vollführt der linke Ventrikel (LV) während der Kontraktion eine Auswringbewegung, die bei lokalen Dysfunktionen gestört ist. Diese Wringbewegungen werden mittels sogenannter Tags, die senkrecht zur Bildebene stehen, erfasst. Durch die Anordnung der Tags entsteht ein Gittermuster, das sich durch die Kontraktion des Kammermyokards verformt und in Strainwerte umgerechnet werden kann. Das MRT wird EKG-getriggert aufgenommen, somit folgen die Tags der myokardialen Bewegung während der Herzaktion [33]. Der Strain bezieht sich auf die Veränderung der Form des Herzmuskels, die sich aus der Kontraktion ergibt und wird als die Änderung der Länge eines Myokardsegments in Prozent angegeben. Es werden Cine-Bilder in der kurzen Herzachsen (SAX) basal, mittventrikulär und apikal sowie in der langen Herzachse, im Vierkammerblick (4CH) und Zweikammerblick (2CH), aufgenommen. In der kurzen Herzachse werden der circumferentielle und der radiale Strain, in der langen Herzachse der longitudinale und radiale Strain berechnet. Der longitudinale und circumferentielle Strain im Vierkammerblick ist physiologisch zwischen -15 und -20 % während der Systole [36]. Bisher gibt es nur wenig publizierte Referenzwerte zum Tissue Tagging bei CMP. Bei pädiatrischen Patienten finden sich keine Referenzwerte.

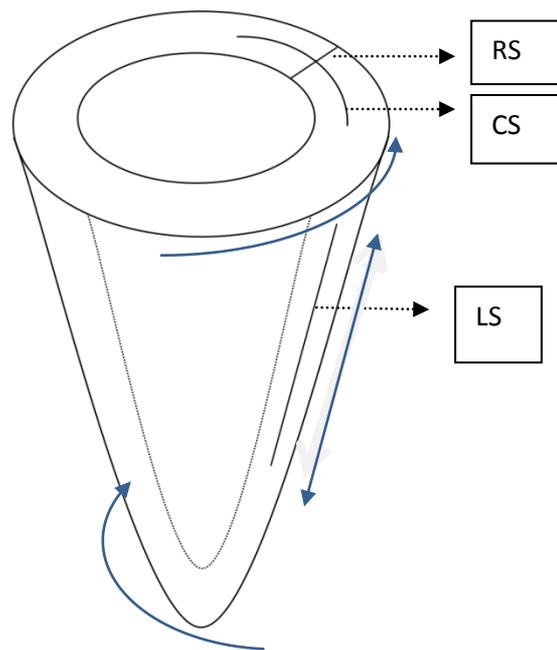


Abbildung 8: Darstellung des myokardialen Strains (CS: circumferentieller Strain; RS: radialer Strain; LS: longitudinaler Strain; blaue Pfeile: Bewegungen des Myokards während der Kontraktion)

1.3. Zielsetzung der Arbeit

In der vorliegenden Arbeit soll untersucht werden, ob das kardiovaskuläre Tagging eine geeignete Untersuchungsmethode im Kaskadenscreening bei pädiatrischen Patienten mit PCM darstellt.

Dabei wird analysiert, ob schon frühe morphologische Veränderungen im Tissue Tagging erste Hinweise auf die Entwicklungen einer Kardiomyopathie bzw. Einschränkungen der systolischen Funktion zulassen. Zudem sollen die Unterschiede der Tagging-Werte zwischen den einzelnen KMP untersucht werden.

Anhand der Tagging-Ergebnisse und der genetischen Varianten soll untersucht werden, ob bisher phänotypisch gesunde Familienangehörige, die jedoch pathogene genetische Varianten aufweisen, bereits Veränderungen der Myokardkontraktilität im Tagging aufweisen.

2. Methodik

2.1. Patientenkollektiv

Im Rahmen der RIKADA-Studie, einer prospektiven Studie zur Risikoeinschätzung bei Kindern und Jugendlichen mit primären Kardiomyopathien, wurden von Februar 2014 bis Oktober 2017 Indexpatienten mit primärer Kardiomyopathie und deren Familienangehörige eingeschlossen. Die Rekrutierung erfolgte über die Klinik für Angeborene Herzfehler der Kinderkardiologie des Deutschen Herzzentrums Berlin und der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Kardiologie der Charité- Universitätsmedizin Berlin.

2.2. Einschlusskriterien

Einschlusskriterien für Patienten:

Diagnostizierte primäre Kardiomyopathie

- Alter \leq 18 Jahre
- Einverständniserklärung der Eltern / Erziehungsberechtigten

Einschlusskriterien für Eltern und Geschwister:

- Erstgradige biologische Verwandtschaft mit dem Kind, bei dem eine primäre Kardiomyopathie vorliegt
- Alter \geq 3 Jahre
- Einverständniserklärung der Eltern und Geschwister bzw. der Eltern/ Erziehungsberechtigten

2.3. Klinische Untersuchungen

Im Rahmen der Studie wurden zunächst eine körperliche Untersuchung sowie eine Anamneseerhebung durchgeführt. Weitere klinische Untersuchungen waren:

1. Blutentnahme mit Bestimmung: kleines Blutbild, Pro-BNP [pg/ml], Kreatinin [mg/dl].
2. Next Generation Sequencing Kardiopanel (Luminex® sofern möglich).
3. 12-Kanal-EKG und Langzeit-EKG.

4. Kardiale Magnetresonanztomographie (MRT) (sofern altersentsprechend ohne Sedierung möglich).
5. Echokardiographie
6. Spiroergometrische Untersuchung (sofern altersentsprechend möglich).

Die Zeitpunkte der einzelnen Untersuchungen erfolgten abhängig vom Alter und der Gruppenzugehörigkeit (Indexpatienten, Eltern und Geschwister). Geplant sind Follow-up Untersuchungen der Indexpatienten alle 3 Jahre, wobei eine Verlaufs-MRT-Untersuchung alle 6 Jahre geplant ist. Die Follow up Untersuchungen der Geschwister sollen alle 6 Jahre erfolgen, bis zum vollendeten 21. Lebensjahr (Tabelle 3).

Tabelle 3: Untersuchungszeitpunkte

		Alter (Jahre)						
		3	6	9	12	15	18	<21
Basisuntersuchung	Patienten	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Eltern und Geschwister	✓				✓		✓
Spiroergometrie	Patienten		✓	✓	✓	✓	✓	✓
	Eltern und Geschwister			✓		✓		✓
MRT und Blutentnahme	Patienten			✓		✓		✓
	Eltern und Geschwister					✓		✓
	Geschwister							

2.4. Spiroergometrie

Bei geeigneten Patienten erfolgte eine Spiroergometrie auf dem Laufband, wobei eintretende Symptome limitierend waren. Hierbei wurde das Protokoll der Deutschen Gesellschaft für Kinderkardiologie verwendet [34]. Die Daten wurden entsprechend mit den Referenzdaten für Kinder und Erwachsene verglichen.

2.5. Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie

Die kardiovaskuläre MRT erfolgte an einem 1.5 Tesla Ganzkörperscanner (Achieva, Philips Healthcare, Best, The Netherlands). Die Patienten wurden in Rückenlage mit einer „5 element coil“ untersucht, wobei der Scan ca. 40-50 Minuten dauerte. Die MRT-Untersuchung fand nach einem standardisierten Protokoll im Deutschen Herzzentrum Berlin statt. Die allgemeinen Funktionsparameter des linken und rechten Ventrikels wurden an der Workstation der Firma Philips (EWS) ausgewertet.

2.5.1 Akquisitionsprotokoll

Für die quantitative Analyse von Funktion und Morphologie der Ventrikel erfolgte der MRT-Scan mit EKG-Triggerung und Atemanhalte-technik.

Folgende Sequenzen wurden akquiriert:

- Cine-Sequenzen (Zweikammerblick (2CV), Vierkammerblick (4CV), Kurze Herzsachse (SAX), Transversal, Linksventrikulärer Ausflusstrakt (LVOT), Rechtsventrikulärer Ausflusstrakt (RVOT), Aorta, Mitralklappenring)
- „Modified Look-Locker inversion recovery,, (MOLLI) (SAX mid, basal)
- QFlow (Aorta, MPA, Mitralklappenring)
- Tissue Tagging (2CV, 4CV, SAX basal, mid, apikal)
- 8 Minuten nach Kontrastmittelgabe: Late-Gadolinium-Enhancement (LGE)
- 15 Minuten nach Kontrastmittelgabe: Molli (SAX mid, basal)

Die Cineaufnahmen der kurzen Herzachse wurden zur Bestimmung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) und Volumina des linken Ventrikels, die transversalen Cineaufnahmen zur Bestimmung der Volumina des rechten Ventrikels aufgenommen. Es erfolgte die Bestimmung des enddiastolischen (EDV [ml]) und endsystolischen (ESV [ml]) Volumen des rechten Ventrikels in transversalen Cine-Aufnahmen und die des linken Ventrikels in der kurzen Achse (SAX). Das Schlagvolumen, als wichtiger Parameter des linken Ventrikels, berechnet sich aus der Differenz zwischen dem linksventrikulären enddiastolischen (LVEDV [ml]) und dem linksventrikulären endsystolischen Volumen (LVESV [ml]). ($SV [ml] = LVEDV - LVESV$). Die Ejektionsfraktion beider Ventrikel wurde mithilfe der ermittelten Werte errechnet ($EF [\%] = (EDV - ESV) / EDV \times 100$). Des Weiteren wurde die Muskelmasse des linken Ventrikels, durch manuelle Umrandung des Epikards und Endokards in der SAX, berechnet.

Die Beurteilung des Myokards und die Kontraktilität erfolgte durch Cine-Aufnahmen im Zwei-, Drei- und Vierkammerblick (2CH, 3CH, 4CH) sowie anhand der kurzen Achse (SAX).

Mit Hilfe der „Modified Look-Locker inversion recovery“, (MOLLI) Sequenzen erfolgte das T1-Mapping und die Bestimmung des extrazellulären Volumens (ECV). Diese Aufnahmen erfolgten vor und 15 Minuten nach intravenöser Gabe eines gadoliniumhaltigen Kontrastmittels (Dotarem 0,2 mmol/kg).

In den Spätaufnahmen 8 Minuten nach Kontrastmittelgabe, konnten eventuelle myokardiale Läsionen, durch das late gadolinium enhancement, detektiert werden.

Das Tissue Tagging erfolgte in basaler, mittventrikulärer und apikaler Schnittführung in der kurzen Herzachse (SAX), sowie in der langen Achse (2CV und 4CV).

2.5.2. Tagging Auswertung

Die Bildauswertung der Tissue-Tagging Sequenzen erfolgte mithilfe des InTag-Computerprogramms Horos[®] 2011 (P.Croisille, P.Clarysse. CREATIS; Université de Lyon). Dabei werden die Tagging- Sequenzen manuell durch Umrandungen des Epikards und Endokards in der Endsystole und Enddiastole bearbeitet. Dies erfolgt in der kurzen Achse (SAX) für den circumferentiellen und radialen Strain, jeweils für die basale, mittventrikuläre und apikale Schicht des LV (Abbildung 12, 13). Des Weiteren wird im 2CV und 4CV gleichermaßen der LS und RS vermessen (Abbildung 14, 15). Zur weiteren Definition der Ventrikelsegmente wird der Ansatzpunkt des rechten am linken Ventrikel markiert. Daraufhin erfolgte die Segmentierung der SAX- und langen Sequenzen des LV automatisiert in jeweils 8 Segmenten. Anhand dessen wurden die Strainwerte durch die Software berechnet. Während des weiteren Bearbeitungsprozesses, wie auch echokardiographisch üblich, wurden die 8 Segmente in 6 Segmente aufgeteilt (Abbildung 9) nach der Leitlinie der „American Society of Echocardiology“ [35]. Um ein exaktes Ergebnis zu ermitteln, wurden die Epikard- und Endokardgrenzen manuell in allen Aufnahmen korrigiert. Im nächsten Schritt wurden die globalen Strainwerte aus dem Mittelwert der Segmente 1-6 errechnet. Dies erfolgte für den circumferentiellen, longitudinalen und radialen Strain aller Tagging-Sequenzen. Zur Kontrolle des Taggings erhält man eine grafische Darstellung der Strainwerte aller Segmente sowie eine Darstellung des markierten Myokards (Abbildung 10, 11). Zudem berechnet die Software individuelle Strainwerte für die innere und äußere Schicht des Myokards (Abbildung 9). Der globale longitudinale Strain wurde als Mittelwert aus den Strainwerten der 2CH- und 4CH-Aufnahmen ermittelt.

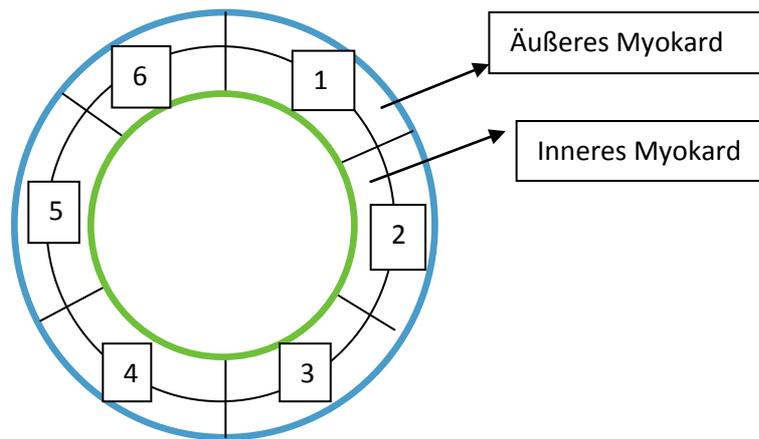


Abbildung 9: Segmentierung des basalen linken Ventrikels (1: Antero-lateral; 2: Infero-lateral; 3: Inferior; 4: Infero-septum; 5: Antero-septum; 6: Anterior), grün= Endokard, blau= Epikard

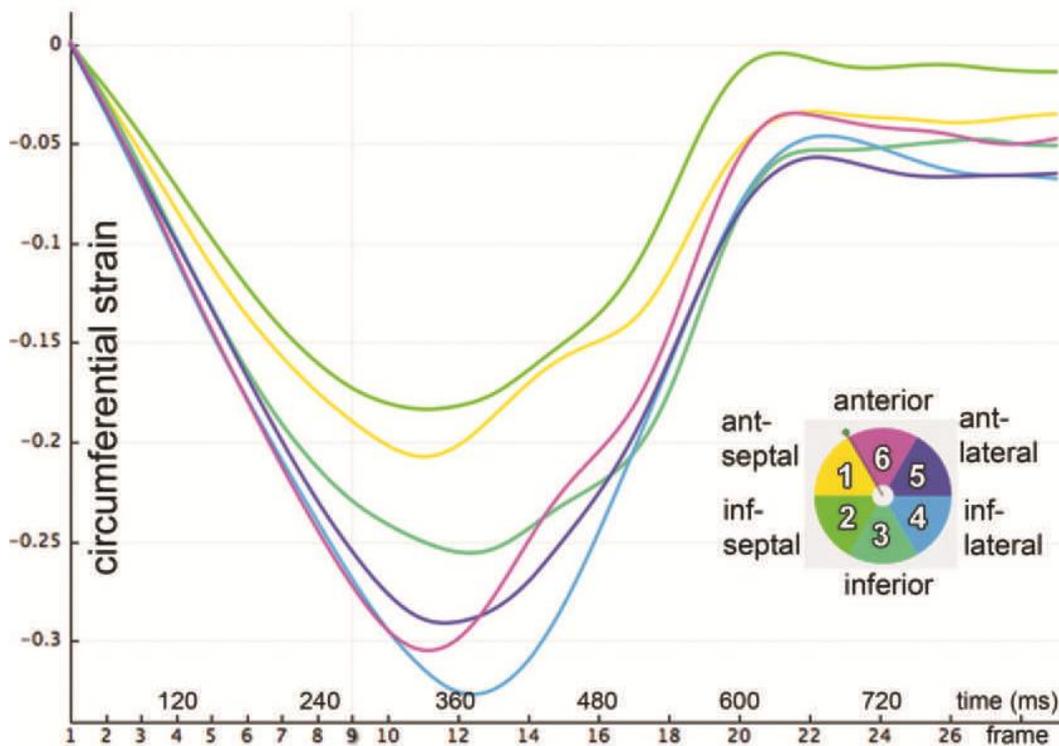


Abbildung 10: Darstellung zeigt den circumferentiellen Strain in einer Kurve für jedes Segment des Myokards [36]

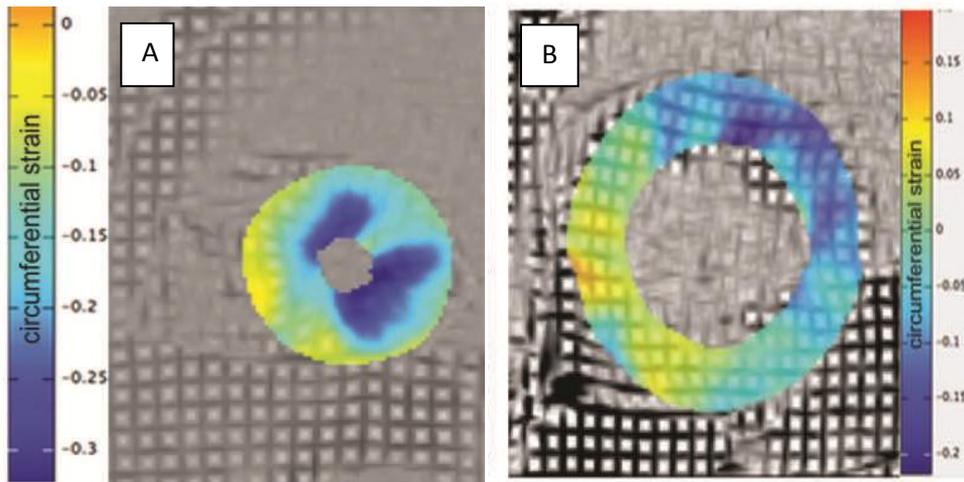


Abbildung 11: Farbliche Darstellung der regionalen Strainunterschiede im Myokard (gelb=reduzierter Strain; blau= hoher Strain); A: physiologisch; B: Patient mit Dilatativer Kardiomyopathie [36]

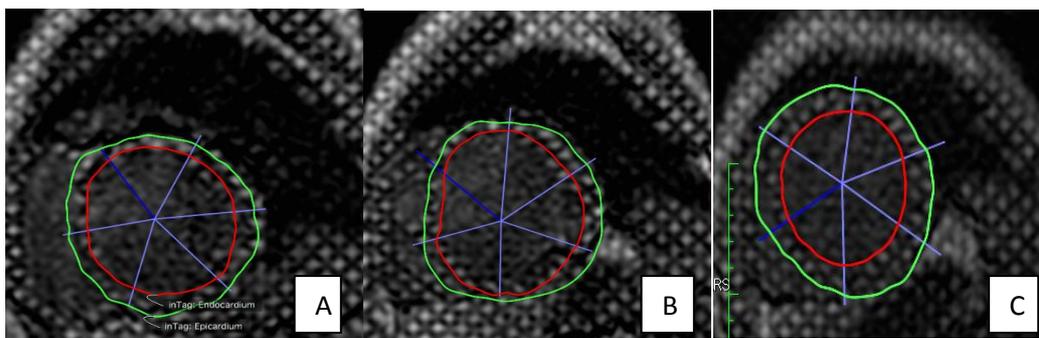


Abbildung 12: Tagging der kurzen Herzachse bei einem Patienten mit Dilatativer Kardiomyopathie (A:basal; B:mittventrikulär; C:apikal; rot: Endokard; grün: Epikard; blau: Segmente)

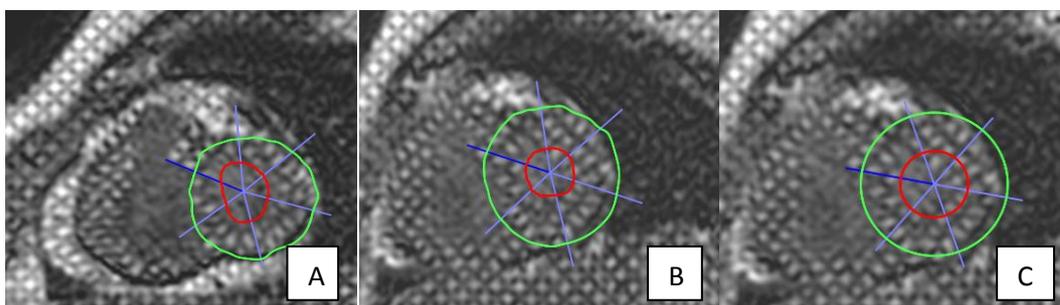


Abbildung 13: Tagging der kurzen Herzachse bei einem Patienten mit Restriktiver Kardiomyopathie (A: basal; B: mittventrikulär; C: apikal; rot: Endokard; grün: Epikard; blau: Segmente)

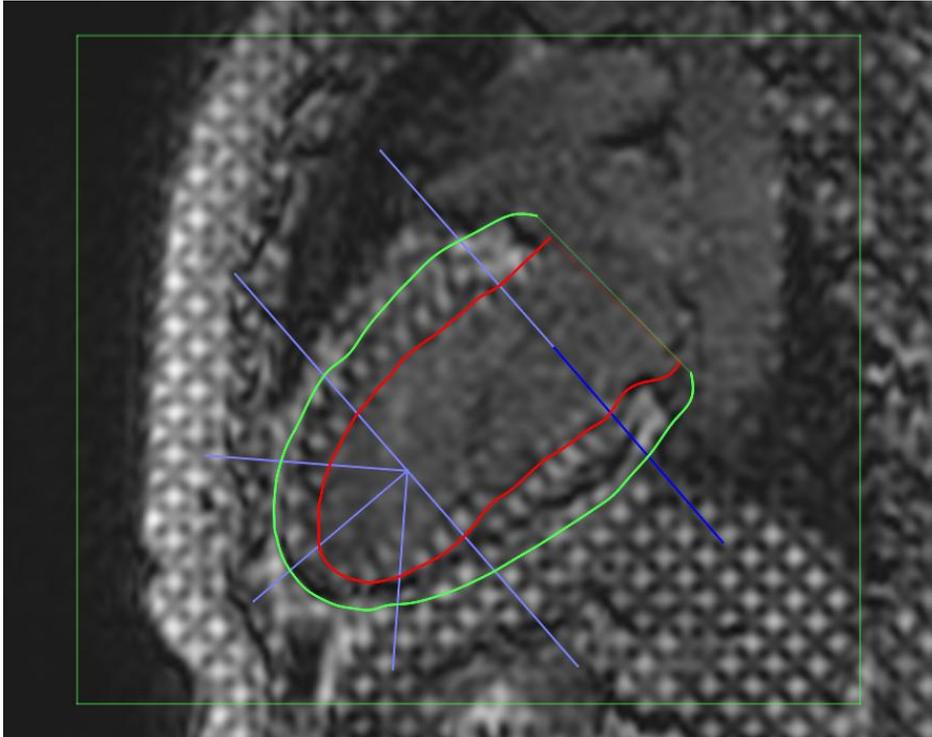


Abbildung 14: Tagging im Zweikammerblick eines Familienangehörigen (rot: Endokard; grün: Epikard; blau: Segmente)

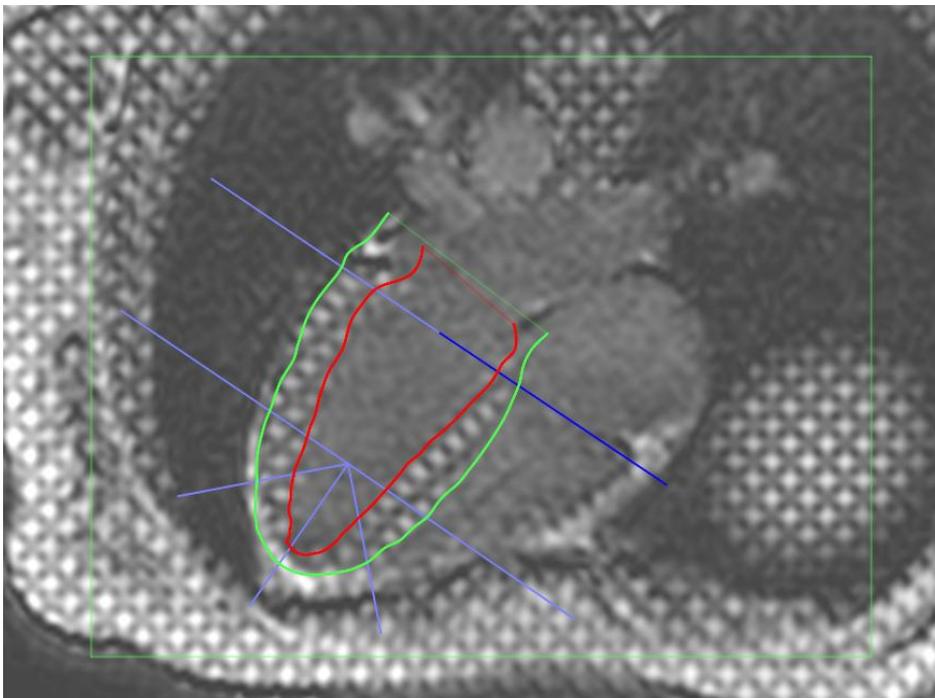


Abbildung 15: Tagging im Vierkammerblick eines Familienangehörigen (rot: Endokard; grün: Epikard; blau: Segmente)

2.6. Genetische Analyse

Das genetische Screening wurde mithilfe des Next Generation Sequencing (NGS) für genetische Varianten in 174 Target Genen (Illumina TruSight Cardio Sequencing Panel) durchgeführt. Von 79 Genen wurden die Varianten bioinformatisch ausgewertet, nachdem sie mit einer Allelfrequenz von $< 0,001$ gefiltert wurden. Diese Allelfrequenzen wurden mit der gnomAD Referenzdatenbank validiert und nach den Richtlinien des American College of Medical Genetics und Genomics klassifiziert [37].

Die Ergebnisse der genetischen Untersuchung wurden nach Grad der Pathogenität (VUS: Variante unbekannter Signifikanz; wahrscheinlich pathogen und pathogen) und nach Anzahl der genetischen Varianten (eine Variante und mehr als eine Variante) unterteilt.

2.7. Statistische Analyse

Alle gemessenen und errechneten Werte wurden mittels des Kolmogorov-Smirnov-Tests auf Normalverteilung untersucht. Kategoriale Variablen wurden mit Häufigkeiten und Prozentzahl angegeben, kontinuierliche Werte als Median und Interquartilsrange. Pearson's chi-square Test and Fisher's exact Test wurden zum Vergleich dichotomer Variablen benutzt. Für unabhängige Gruppen wurden der Mann-Whitney-U und Kruskal-Wallis Test angewendet. Korrelationen wurden unter Verwendung des Pearson-Korrelationskoeffizienten dargestellt. Das Signifikanzlevel von $< 0,05$ wurde als statistisch signifikant betrachtet. Die Daten wurden mit IBM Corp. SPSS Version 24.0 (Armonk, NY) analysiert.

3. Ergebnisse

3.1. Basischarakteristika

3.1.1. Indexpatienten

In die Studie wurden 60 Indexpatienten und 124 Familienangehörige eingeschlossen. Davon erhielten 19 Indexpatienten, 52 Eltern, 5 Geschwister > 18 Jahre und 8 Geschwister ≤ 18 Jahre ein kardiovaskuläres MRT mit Tissue Tagging und wurden in diese Analyse einbezogen.

Das Alter (Interquartilsabstand) der Indexpatienten bei Einschluss lag bei 12,5 (9,5-17,1) Jahren, 63,2% (12/19) männlich, BSA 1,3 m² (1,1-1,9). Die Diagnosen waren folgende: 26,3% (5/19) DCM; 31,6% (6/19) HCM; 26,3% (5/19) LVNC; 5,3% (n=1/19) RCM und 10,5% (2/19) ARVC (Abbildung 16). 89,5% (17/19) waren in der funktionellen NYHA-Klasse I und 10,5% (2/19) NYHA-Klasse III. Die häufigsten Symptome waren Schwindel (26,3%), Synkopen (10,5%), Palpitationen (10,5%), Infektneigung (5,3%) und Herzrasen (5,3%). Die Charakteristika der Indexpatienten sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

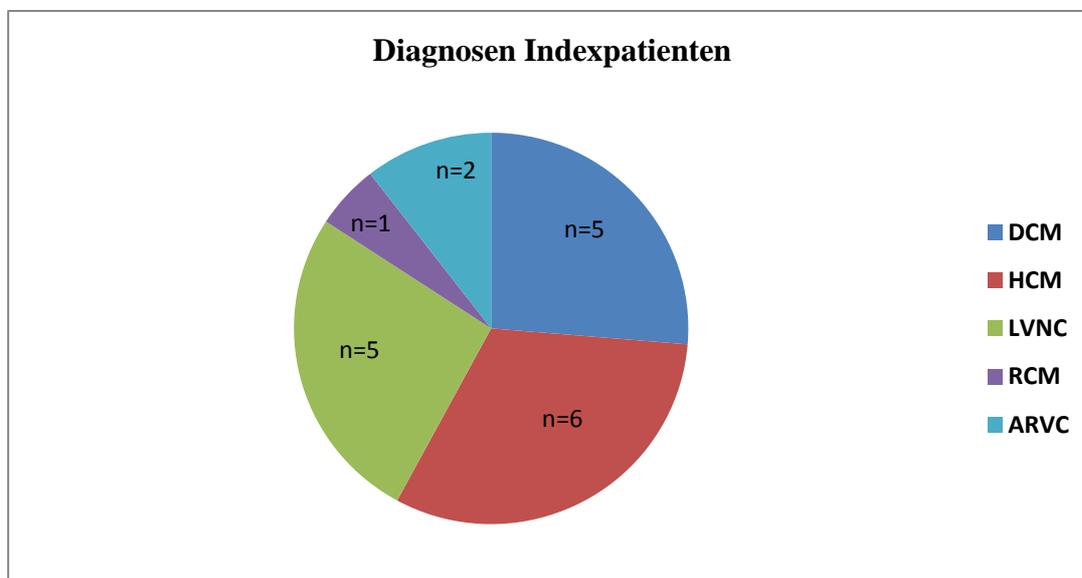


Abbildung 16: Diagnosen der Indexpatienten (n=19) (DCM: Dilatative Kardiomyopathie; HCM: Hypertrophe Kardiomyopathie; LVNC: Linksventrikuläre Noncompaction Kardiomyopathie; ARVC: Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie; RCM: Restriktive Kardiomyopathie)

Tabelle 4: Basiswerte der Indexpatienten

	Indexpatienten (n=19)
Alter (Jahre)	12,5 [9,5-17,1]
Geschlecht, männlich	12 [63,2]
KFO (kg/m ²)	1,3 [1,1-1,9]
LVEDVi (ml/qm)	91,4 [79,5-104,2]
LVESVi (ml/qm)	31,6 [25,8-44,2]
LVEF (%)	62,0 [53,0-71,0]
RVEDVi (ml/qm)	87,8 [78,1-103,5]
RVESVi (ml/qm)	37,1 [29,6-44,5]
RVEF (%)	58,0 [54,5-64,2]
NT- Pro- BNP (pq/ml)	59,6 [23,4-342,9], n=18

Angaben in Median und Interquartilsabstand oder Anzahl (n) und Prozent

KFO= Körperoberfläche; LVEDVi= induziertes linksventrikuläres enddiastolisches Volumen; LVESVi= induziertes linksventrikuläres endsystolisches Volumen; LVEF= linksventrikuläre Ejektionsfraktion; RVEDVi = induziertes rechtsventrikuläres enddiastolisches Volumen; RVESVi= induziertes rechtsventrikuläres endsystolisches Volumen; RVEF= rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion; NT-pro-BNP= natriuretisches Peptid

3.1.2. Familienangehörige

Insgesamt wurden 65 Familienangehörige analysiert. Davon waren 52 Eltern mit einem medianen Alter von 41,0 Jahren (35,3-47,4), 46,2% männlich; 8 Geschwister \leq 18 Jahre mit einem medianen Alter von 14,2 Jahren (10,1-15,2); 50% männlich, 5 Geschwister $>$ 18 Jahren mit einem medianen Alter von 18,7 Jahren (18,5-20,5); 40,0% männlich. In 3,1% (n=2) wurde eine primäre Kardiomyopathie vor Studieneinschluss diagnostiziert (DCM n=1, LVNC n=1). Des Weiteren wurde während der Studie bei weiteren 4,6% (n=3) der Familienangehörigen (HCM n=1, LVNC n=2) eine CMP festgestellt. Weitere Charakteristika der Familienangehörigen sind in Tabelle 5 dargestellt.

Tabelle 5: Basiswerte der Familienangehörigen

	Geschwister		Eltern (n=52)
	≤ 18 Jahre (n=8)	> 18 Jahre (n=5)	
Alter in Jahre	14,2 [10,1-15,2]	18,7 [18,5-20,5]	41,0 [35,3-47,3]
KFO (kg/m ²)	1,5 [1,1-1,8]	1,8 [1,6-2,0]	1,9 [1,8-2,0]
Geschlecht, männlich	4 [50,0]	2 [40,0]	24 [46,2]
LVEDVi (ml/qm)	85,6 [72,4-94,5]	78,1 [74,3-85,9]	78,9 [70,8-88,9]
LVESVi (ml/qm)	32,3 [27,0-34,9]	28,4 [26,3-31,1]	29,6 [25,6-34,2]
LVEF (%)	63,0 [57,8-65,5]	64,0 [61,5-66,0]	62,0 [59,3-65,0]
RVEDVi (ml/qm)	86,9 [71,3-97,9]	84,9 [72,7-91,6]	83,1 [72,8-96,4]
RVESVi (ml/qm)	36,1 [28,8-40,5]	33,6 [27,4-39,9]	34,7 [29,8-41,2]
RVEF (%)	59,3 [55,2-62,0]	59,6 [56,4-63,1]	57,1 [55,3-61,1]
NT-Pro-BNP (pg/ml)	21,6 [8,8-85,7]	59,4 [20,9-99,7]	40,3 [19,5-83,3]

Angaben in Median und Interquartilsabstand oder Anzahl (n) und Prozent

KFO= Körperoberfläche; LVEDVi= induziertes linksventrikuläres enddiastolisches Volumen; LVESVi= induziertes linksventrikuläres endsystolisches Volumen; LVEF= linksventrikuläre Ejektionsfraktion; RVEDVi= induziertes rechtsventrikuläres enddiastolisches Volumen; RVESVi= induziertes rechtsventrikuläres endsystolisches Volumen; RVEF= rechtsventrikuläre Ejektionsfraktion; NT-pro-BNP= natriuretisches Peptid

3.2. Laborergebnisse

Pro-BNP wurde bei 18 Indexpatienten bestimmt. Hier zeigten Patienten mit HCM die höchsten Werte mit 90,7 pg/ml [41,7-1563,7] (5/19); DCM 59,3 pg/ml [30,2-1996,1] (5/19); LVNC 50,4 pg/ml [30,8-96,9] (5/19); ARVC 12,2 pg/ml (2/19). Jedoch fand sich keine statistische Signifikanz im Vergleich der einzelnen CMP-Gruppen. ($p=0,171$; Abbildung 17).

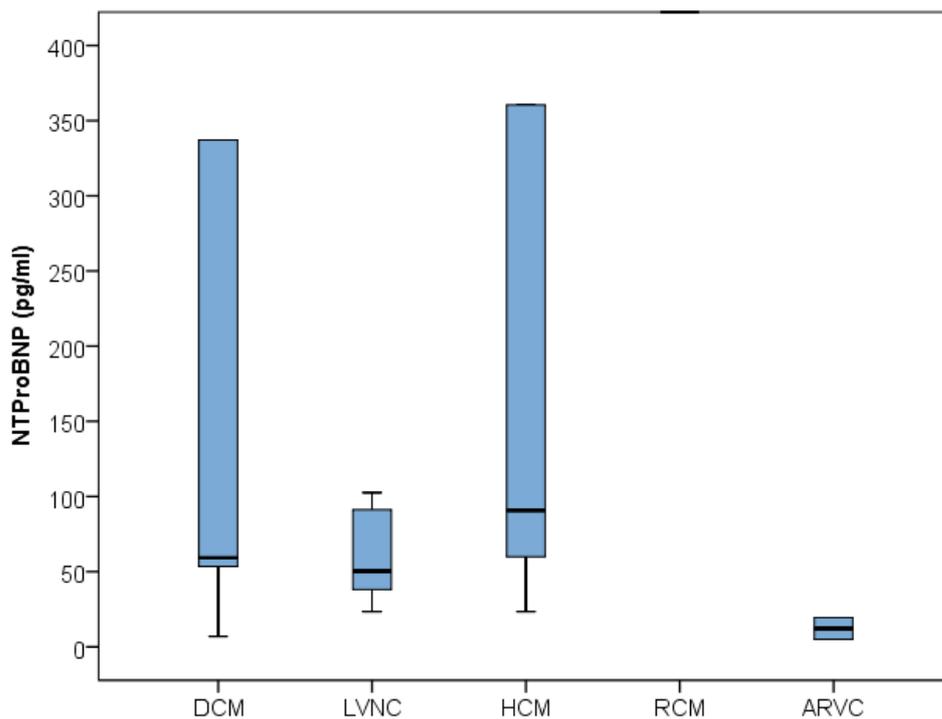


Abbildung 17: Boxplot-Diagramm der Pro-BNP Werte (pg/ml) zwischen den CMP-Gruppen der Indexpatienten ($p=0,171$). (DCM: Dilatative Kardiomyopathie; LVNC: Linksventrikuläre Noncompaction Kardiomyopathie; HCM: Hypertrophe Kardiomyopathie; RCM: Restriktive Kardiomyopathie; ARVC: Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie)

Innerhalb der Studienpopulation zeigte sich eine signifikante negative Korrelation ($r_s = -0,292$, $p = 0,009$) zwischen NTproBNP und dem GLS (Abbildung 18). Des Weiteren zeigte sich eine positive Korrelation ($r_s = 0,022$, $p = 0,022$) zwischen NTproBNP und der RVEF (Abbildung 19).

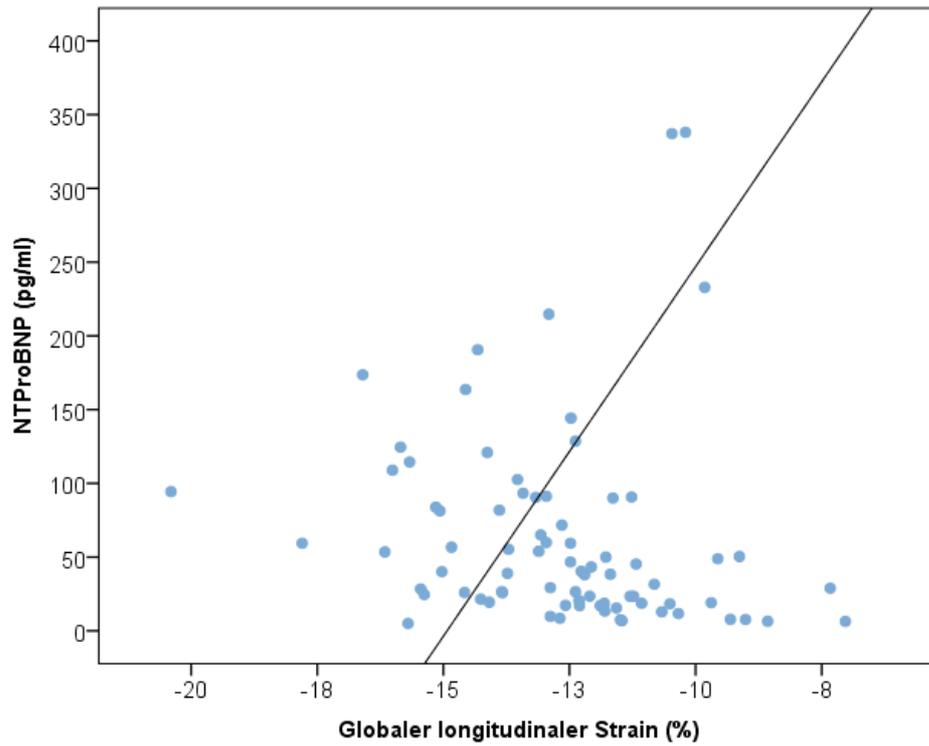


Abbildung 18: Positive Korrelation zwischen NTproBNP (pg/ml) und dem Globalen longitudinalen Strain (%) ($r_s = -0,292$, $p = 0,009$)

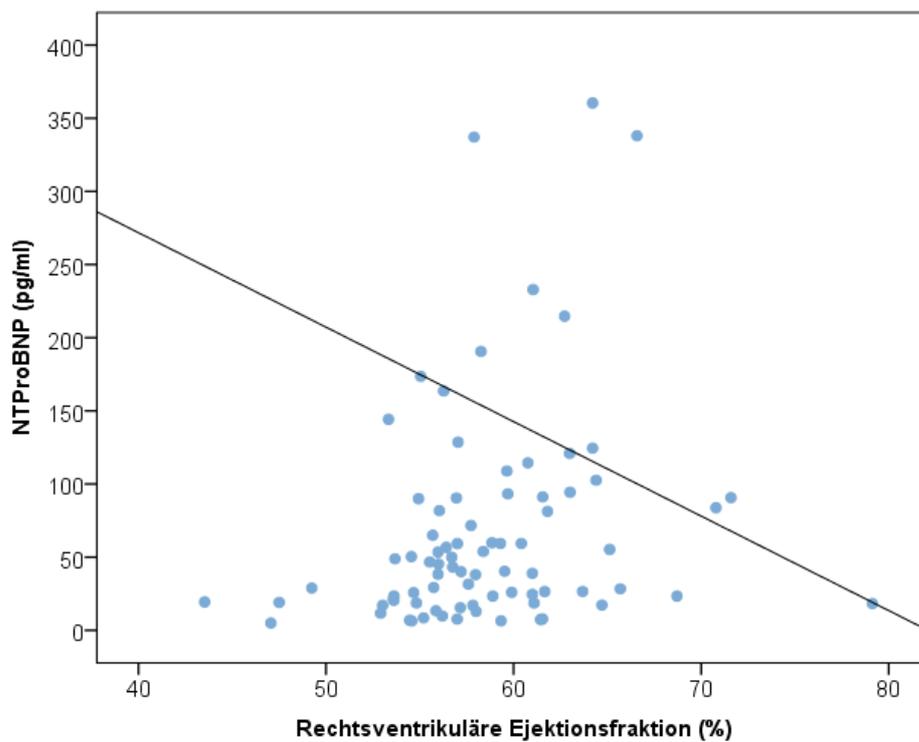


Abbildung 19: Negative Korrelation zwischen NTproBNP (pg/ml) und der rechtsventrikulären Ejektionsfraktion (%) ($r_s = 0,022$, $p = 0,022$)

3.3. Daten Spiroergometrie

Eine spiroergometrische Untersuchung fand bei 84,2% (16/19) der Indexpatienten und 88,5 % (46/52) der Eltern und allen Geschwistern statt (Tabelle 6).

Tabelle 6: Werte der Spiroergometrie von Indexpatienten, Eltern, Geschwister ≤ 18 Jahre und > 18 Jahre

	Indexpatienten (n=16)	Eltern (n=46)	Geschwister ≤ 18 Jahre (n=8)	Geschwister > 18 Jahre (n=5)
VO ₂ max (ml/min*kg)	33,2 [25,8-40,9]	28,3 [23,6-32,2]	34,7 [29,7-41,3]	32,3 [25,3-38,6]
RERmax	1,1 [1,0-1,1]	1,1 [1,0-1,2]	1,1 [1,0-1,1]	1,1 [1,1-1,3]
O ₂ Puls (ml/beat)	9,1 [6,0-14,4]	12,7 [9,9-14,7]	8,4 [6,4-14,1]	12,1 [9,8-13,1]
O ₂ Puls Soll (%)	88,5 [69,0-103,3]	86,5 [73,0-102,0]	80,0 [65,3-101,5]	87,0 [61,5-96,0]

Angaben in Median und Interquartilsabstand oder Anzahl (n) und Prozent
VO₂max= maximale Sauerstoffaufnahme; RERmax= Respiratory exchange ratio; O₂ Puls= Sauerstoffpuls

Innerhalb der Indexpatienten zeigte sich kein signifikanter Unterschied der VO₂max zwischen den CMP-Gruppen ($p= 0,438$, $n= 16$).

Es zeigte sich eine negative Korrelation ($r_s= -0,562$, $p= 0,024$, $n= 16$) der VO₂max mit dem mittventrikulären CS sowie des RS ($r_s= -0,713$, $p= 0,009$, $n= 12$) der Indexpatienten (Abbildung 20 und 21).

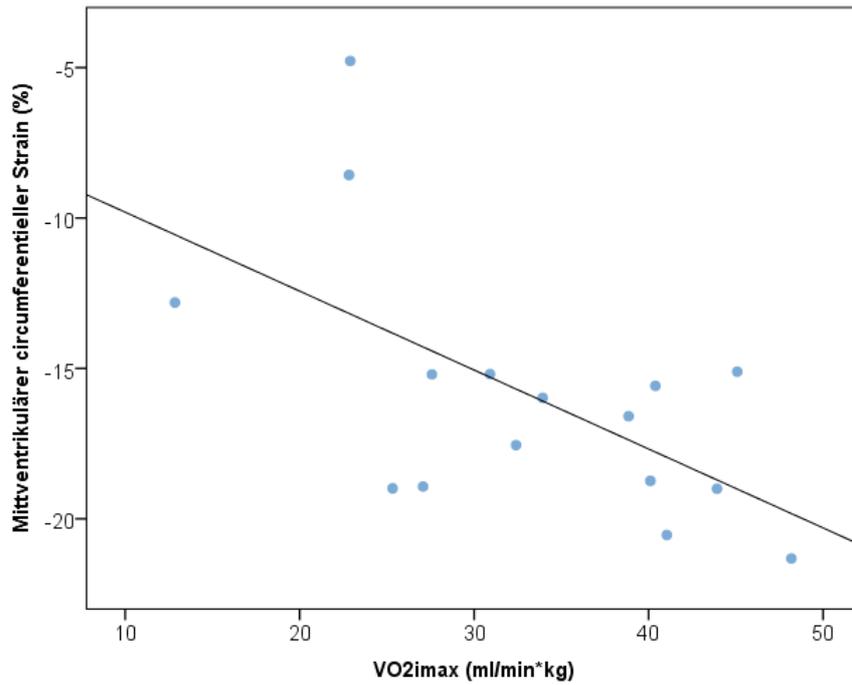


Abbildung 20: Negative Korrelation zwischen mittventrikulärem circumferentiellen Strain und maximaler Sauerstoffaufnahme (ml/min*kg) der Indexpatienten ($r_s = -0,562$, $p = 0,024$, $n = 16$)

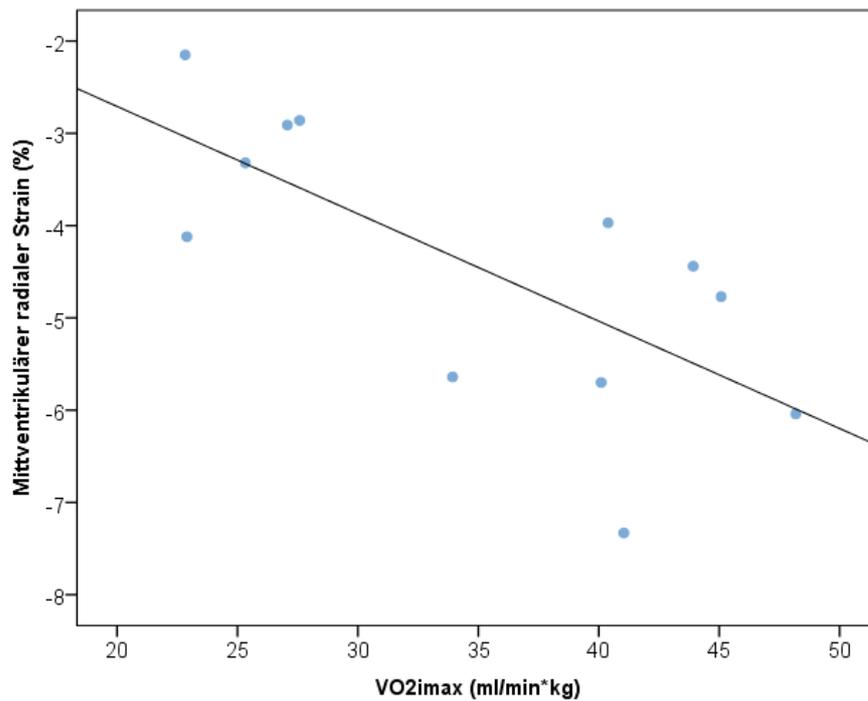


Abbildung 21: Negative Korrelation zwischen mittventrikulärem radialen Strain und maximaler Sauerstoffaufnahme (ml/min*kg) ($r_s = -0.713$, $p = 0.009$, $n = 12$)

3.4. MRT-Daten

Zum Zeitpunkt der Datenanalyse wurden insgesamt 19 Indexpatienten, 52 Eltern und 13 Geschwister durch ein kardiovaskuläres MRT untersucht (Abbildung 22).

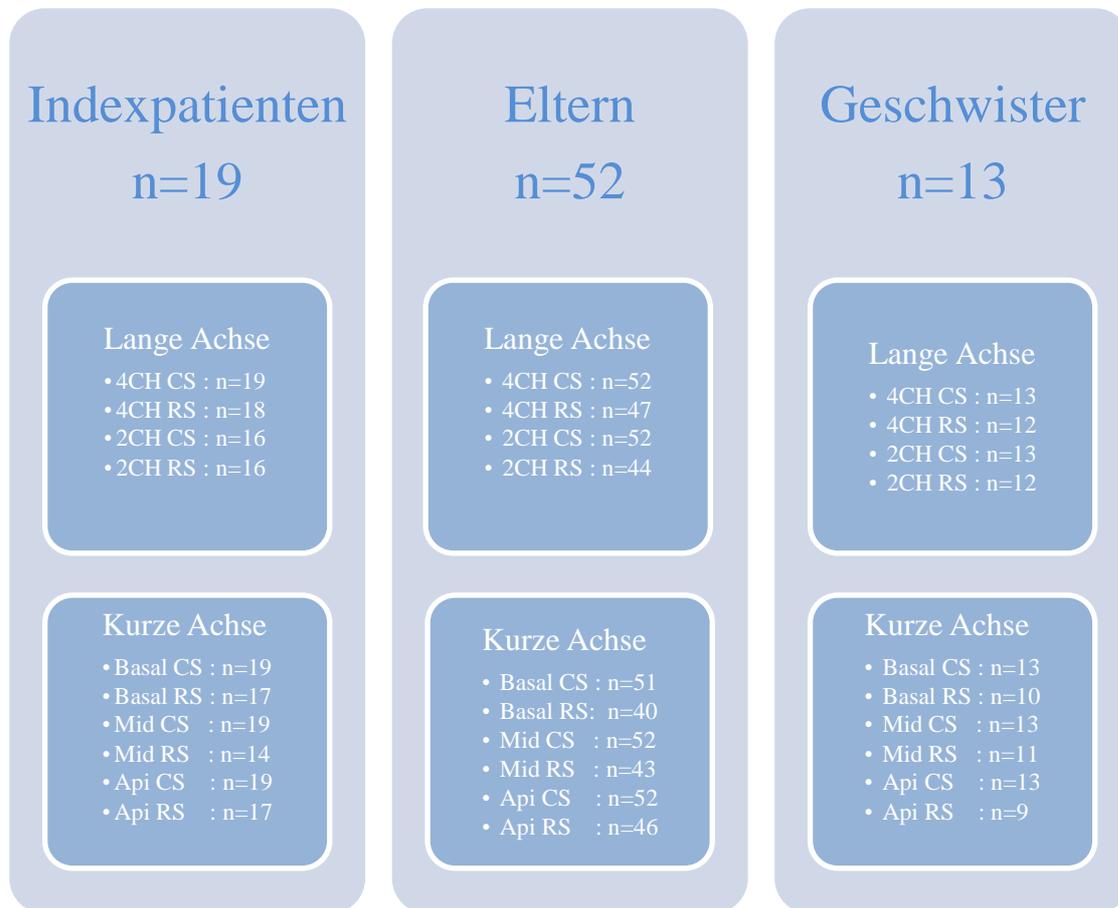


Abbildung 22: Arbeitsdiagramm der MRT-Auswertung (4CH: Vierkammerblick; 2CH: Zweikammerblick; CS: circumferentieller Strain; RS: radialer Strain; mid: mittventrikulär; api: apikal)

3.4.1. MRT Basisdaten

Die LVEF zeigte signifikante Unterschiede innerhalb der CMP-Gruppen der Indexpatienten ($p=0,014$; Abbildung 23), sowie die RVEF zwischen Patienten mit ARVC (45,3*%) und HCM (63,4% [58,9-67,2]; $p=0,042$).

Innerhalb der Familienangehörigen zeigte sich kein signifikanter Unterschied der LVEF.

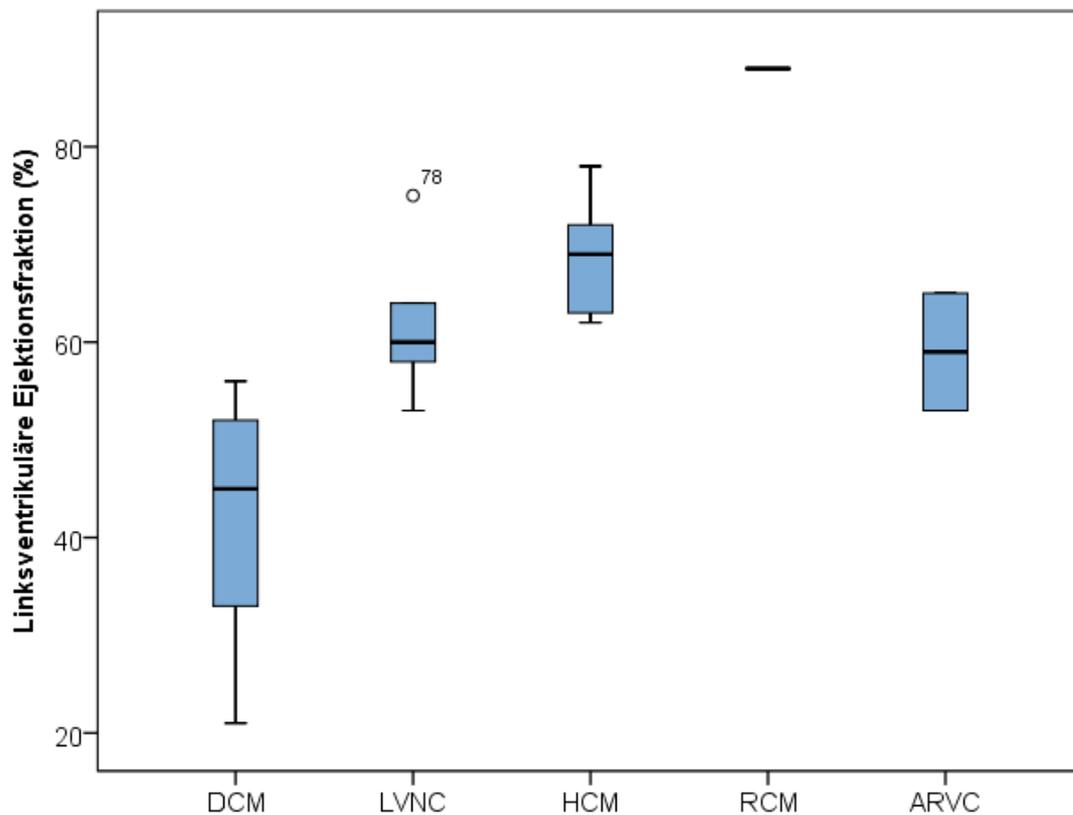


Abbildung 23: Linksventrikuläre Ejektionsfraktion der CMP ($p=0,014$)

3.4.2. Tagging im Vierkammerblick (4CH) und Zweikammerblick (2CH)

Die Betrachtung des LS, CS sowie des RS zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen den Indexpatienten in den 4CH und 2CH Sequenzen.

In der Gruppe phänotypisch positiven Familienangehörigen (n= 5) zeigte sich ein reduzierter LS im Vierkammerblick (p= 0,037) verglichen zu phänotypisch gesunden Angehörigen.

In der gesamten Studienkohorte korreliert der GLS (4CH/2CH) negativ mit der LVEF ($r_s = -0,239$, $p = 0,032$, $n = 81$) (Abbildung 24) sowie der RVEF ($r_s = -0,220$, $p = 0,049$, $n = 10$) (Abbildung 25).

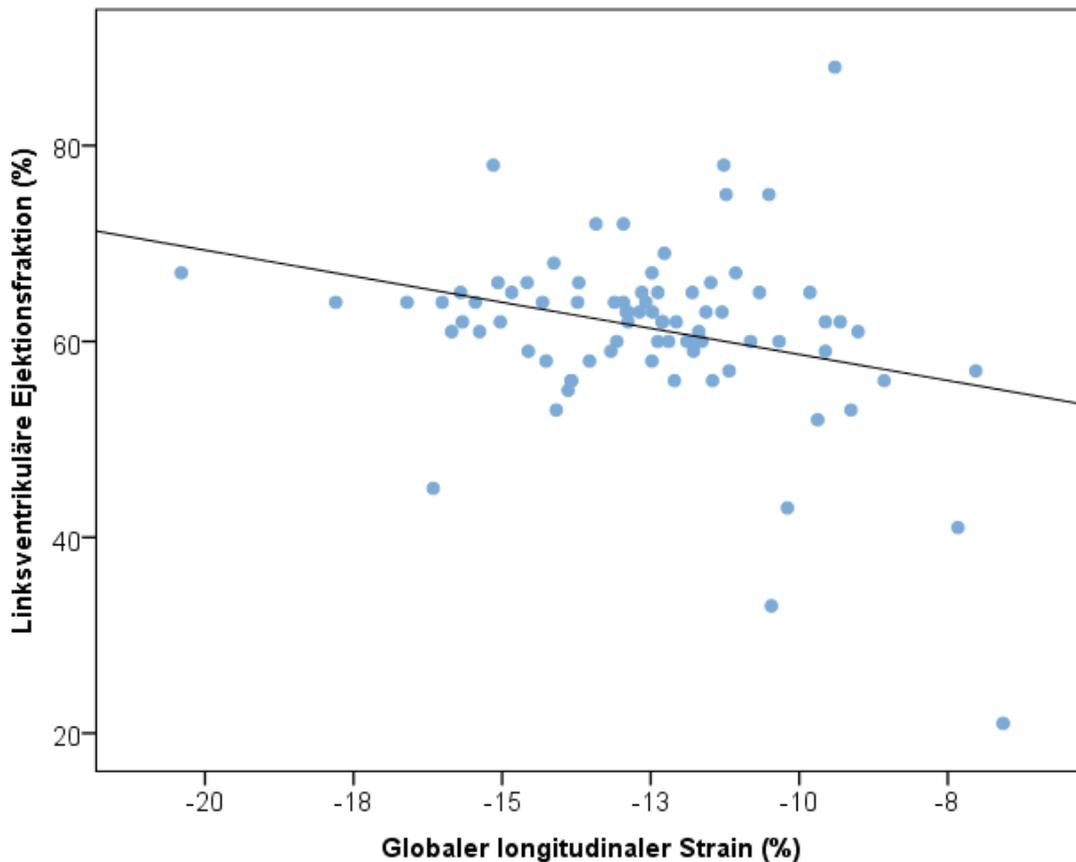


Abbildung 24: Negative Korrelation der linksventrikulären Ejektionsfraktion mit dem globalen longitudinalen Strain ($r_s = -0,239$, $p = 0,032$)

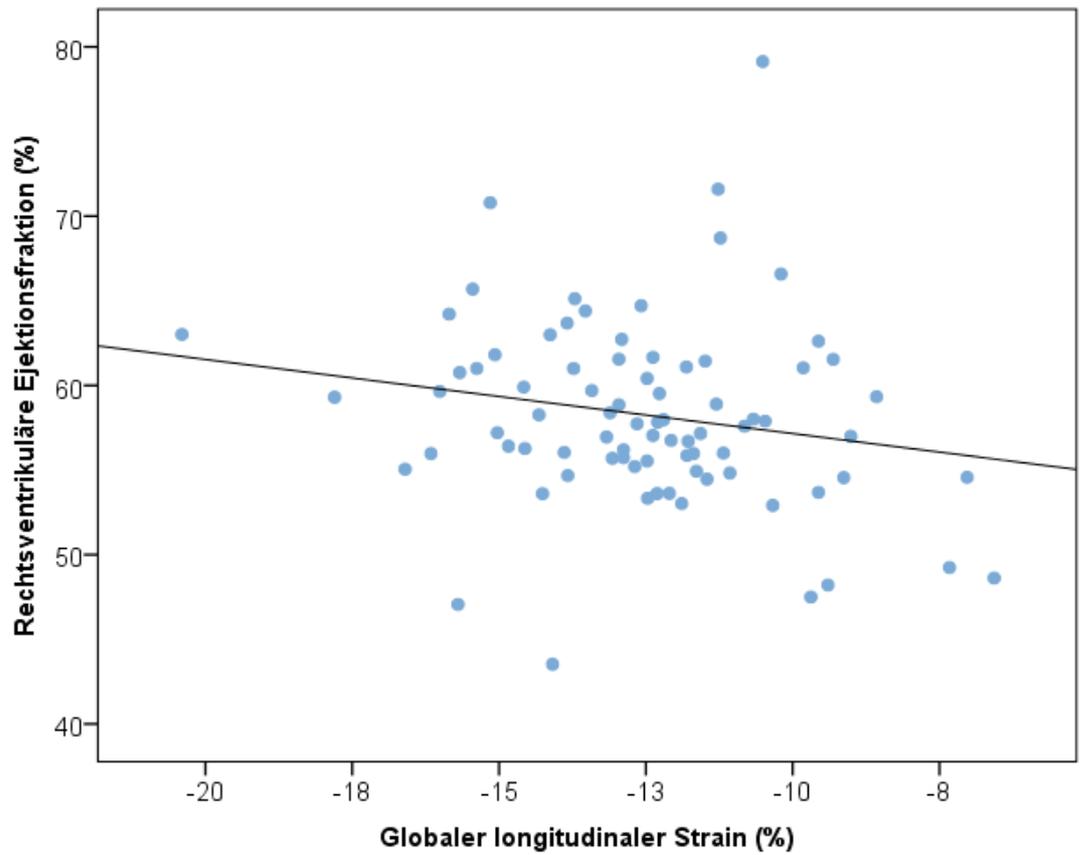


Abbildung 25: Negative Korrelation der rechtsventrikulären Ejektionsfraktion mit dem globalen longitudinalen Strain ($r_s = -0,220$, $p = 0,049$)

3.4.3. Tagging in der kurzen Herzachse (SAX)

Der basale CS war insbesondere bei Patienten mit DCM (-6,8% [-10,9-(-5,3)]) sowie bei Patienten mit ARVC (-8,9%, n= 2) reduziert im Gegensatz zur Gruppe der HCM (-11,4% [-12,8-(-8,6)]) und LVNC (-13,3% [-13,6-(-8,1)]) (Tabelle 7).

Diese Beobachtung setzte sich auch bei dem mittventrikulären CS fort (p= 0,033; Abbildung 26). Im apikalen CS und basalen, mittventrikulären sowie apikalen RS Werten und auch den Werten des SAX zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Strainwerte zwischen den Indexpatienten und Familienangehörigen (Tabelle 7, 8).

Phänotypisch positive Familienangehörige (n= 5) zeigten einen höheren mittventrikulären RS (p= 0,026) im Gegensatz zu Indexpatienten.

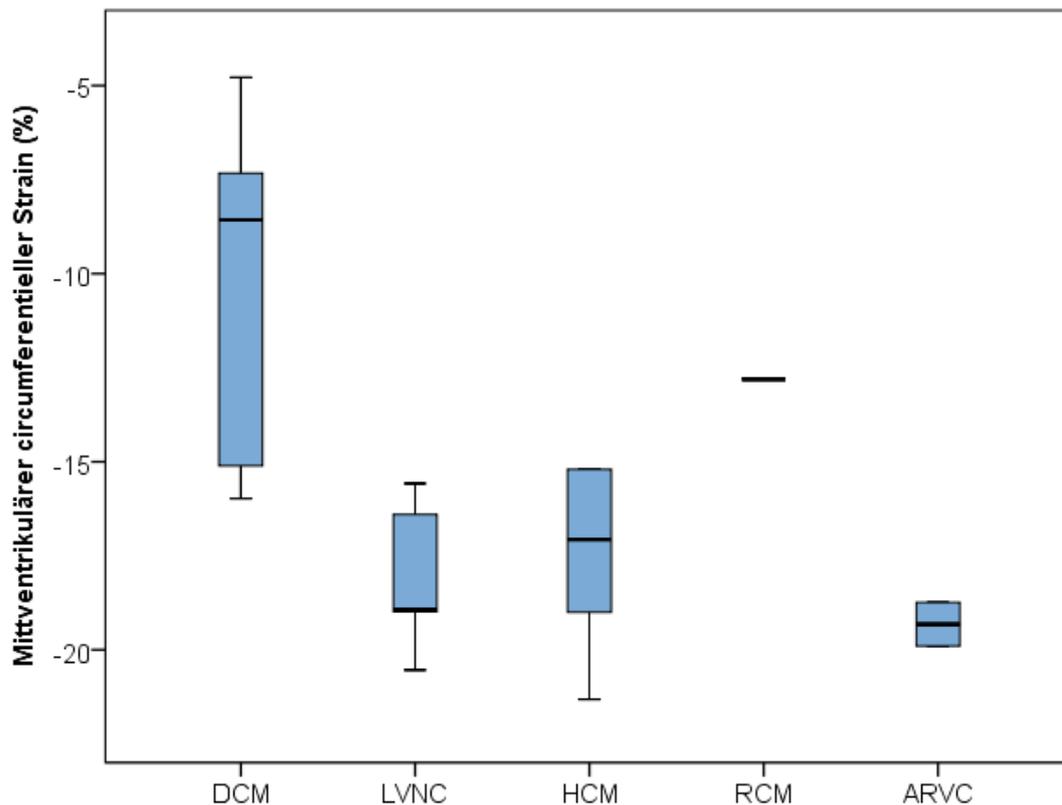


Abbildung 26: Boxplotdiagramm des mittventrikulären circumferentiellen Strain der Indexpatienten (p= 0,033)

Tabelle 7: Tagging-Werte der Indexpatienten

	HCM (n= 6)	DCM (n= 5)	LVNC (n= 5)	ARVC (n= 2)	RCM (n= 1)	p-Wert
Alter (Jahre)	16,1 [11,5-17,3]	11,2 [8,8-13,6]	11,7 [6,9-14,6]	11,7*	18,0	
KFO (m ²)	1,97 [1,3-2,0]	1,1 [1,0-1,4]	1,2 [0,8-1,4]	1,4*	1,8	n.s.
LVEDVi (ml/qm)	85,6 [78,7-90,2]	113,2 [90,3-163,3]	91,8 [70,8-100,0]	84,3*	123,1	n.s.
LVEF (%)	69,0 [62,7-73,5]	45,0 [27,0-54,0]	60,0 [55,5-69,5]	59,0*	88,0	0,014
GLS	-11,3 [-12,1-(-10,4)], n=4	-10,9 [-13,8-(-8,5)], n=4	-12,2 [-12,9-(-11,2)]	-14,9*	-9,4	n.s.
4CH LS	-11,6 [-13,5-(-10,4)]	-10,4 [-13,1-(-8,6)]	-13,3 [-15,6-(-9,5)]	-15,2*	-12,3	n.s.
2CH LS	-10,7 [-11,8-(-9,4)]	-11,1 [-14,5-(-7,1)]	-11,0 [-11,2-(-10,5)]	-14,6*	-6,5	n.s.
4CH RS	-3,6 [-6,4-(-3,4)]	-11,1 [-4,2-(-2,4)]	-5,2 [-4,1-(-3,5)]	-2,6*	-4,1	n.s.
2CH RS	-6,8 [-8,9-(-5,5)], n=4	-2,8 [-4,0-(-2,3)]	-4,7 [-6,9-(-4,5)]	-3,2*	-3,4	n.s.
Bas CS	-11,4 [-12,8-(-8,6)]	-6,8 [-10,9-(-5,3)]	-13,3 [-13,6-(-8,1)]	-8,9*	-13,1	n.s.
Bas RS	-4,2 [-4,5-(-3,9)], n=4	-5,7 [-8,8-(-2,9)]	-5,9 [-6,9-(-3,6)]	-8,4*	-	n.s.
Mid CS	-17,1 [-19,6-(-15,2)]	-8,6 [-15,5-(-6,1)]	-18,9 [-19,8-(-15,9)]	-19,3*	-12,8	0,033
Mid RS	-4,4 [-6,0], n=3	-4,8 [-5,2-(-3,1)]	-3,6 [-6,5-(-3,0)], n=4	-4,8*	-	n.s.
Api CS	-18,9 [-21,9-(-15,5)]	-16,1 [-19,9-(-8,3)]	-17,4 [-19,9-(-16,1)]	-18,2*	-14,9	n.s.
Api RS	-3,2 [-4,3-(-1,5)]	-4,3 [-6,9-(-1,2)], n=4	-6,6 [-10,6-(-4,3)], n=4	-	-3,5	n.s.

Angaben in Median und Interquartilsabstand

KFO= Körperoberfläche; LVEDVi= induziertes linksventrikuläres enddiastolisches Volumen; LVEF= linksventrikuläre Ejektionsfraktion; GLS= Globaler longitudinaler Strain; Bas= Basal; Mid = Mittventrikulär; Api= Apikal; CS= circumferentieller Strain; LS= longitudinaler Strain; RS= radialer Strain; n.s.: nicht signifikant

Tabelle 8: Tagging-Werte der Familienangehörigen

	Eltern (n= 52)	Geschwister ≤ 18 Jahre (n= 8)	Geschwister > 18 Jahre (n= 5)
Alter (Jahre)	41,0 [35,3-47,4]	14,2 [10,1-15,2]	18,7 [18,5-20,5]
KFO (m ²)	1,9 [1,8-2,0]	1,5 [1,1-1,8]	1,8 [1,6-2,0]
LVEDVi (ml/qm)	78,9 [70,8-88,9]	85,6 [72,4-94,5]	78,1 [74,3-85,9]
LVEF (%)	62,0 [59,3-65,0]	63,0 [57,8-65,5]	64,0 [61,5-66,0]
GLS	-12,5 [-13,9-(-11,3)]	-12,4 [-17,0-(-9,3)]	-13,2 [-15,3-(-12,1)]
4CH LS	-13,3 [-14,8-(-11,2)]	14,0 [-17,1-(-10,8)]	-13,2 [-15,9-(-12,9)]
2CH LS	-11,8 [13,9-(-9,8)]	-11,2 [-17,7-(-7,2)]	-13,6 [-15,6-(-11,2)]
4CH RS	-6,9 [-8,1-(-4,9)], n=47	-5,5 [-7,0-(-3,4)]	5,4 [-7,7-(-3,0)], n=4
2CH RS	-4,7 [-6,1-(-3,2)], n=44	-5,8 [-7,8-(-5,1)], n=7	-2,9 [-5,6-(-2,5)]
Bas CS	-12,6 [-15,8-(-9,7)], n=51	-13,6 [-15,0-(-9,3)]	-11,5 [-11,9-(-8,2)]
Bas RS	-4,6 [-6,4-(-2,6)], n=40	-5,2 [-9,8-(-2,7)], n=6	-4,0 [-6,4-(-1,8)], n=4
Mid CS	-18,3 [-19,4-(-16,6)]	-19,0 [-20,1-(-16,9)]	-18,4 [-20,0-(-16,1)]
Mid RS	-2,8 [-4,6-(-1,7)], n=43	-4,0 [-4,6-(-2,9)], n=6	-2,3 [-2,6-(-0,9)]
Api CS	-18,1 [-20,5-(-15,9)]	-19,0 [-20,7-(-13,2)]	-17,7 [-21,7-(-16,9)]
Api RS	-5,4 [-8,8-(-3,3)], n=46	-8,2 [-8,8-(-5,0)], n=4	-3,7 [-4,8-(-2,1)]
Angaben in Median und Interquartilsabstand			
KFO= Körperoberfläche; LVEDVi= induziertes linksventrikuläres enddiastolisches Volumen; LVEF= linksventrikuläre Ejektionsfraktion; GLS= Globaler longitudinaler Strain; Bas= Basal; Mid = Mittventrikulär; Api= Apikal; CS= circumferentieller Strain; LS= longitudinaler Strain; RS= radialer Strain; n.s.: nicht signifikant			

3.5. Genetische Untersuchung der Indexpatienten

Innerhalb der Indexpatienten hatten 73,7 % (14/19) ein positives genetisches Ergebnis mit insgesamt 21 Varianten. Darunter waren 71,4 % (n= 10) mit einer Variante und 21,1 % (n= 4) mit mehr als einer Variante. Es fand eine Klassifizierung der Varianten anhand ihrer Pathogenität statt. Hier zeigten 21,1 % (n= 4) eine VUS, 26,3 % (n= 5) hatten eine wahrscheinlich pathogene und 26,3 % (n= 5) eine pathogene Variante (Abbildung 27). Zu den pathogenen Varianten zählen Kardiales Troponin T2 (TNNT2), Plakophilin 2 (PKP2), Myosin-bindendes Protein 3 (MYBPC3), Myosin schwere Kette 7 (MYH7) und Desmocollin-2 (DSC2).

Die Anzahl der Varianten, der Pathogenitätsgrad sowie ein positiver Genotyp hatten keinen Einfluss auf die Tagging Parameter.

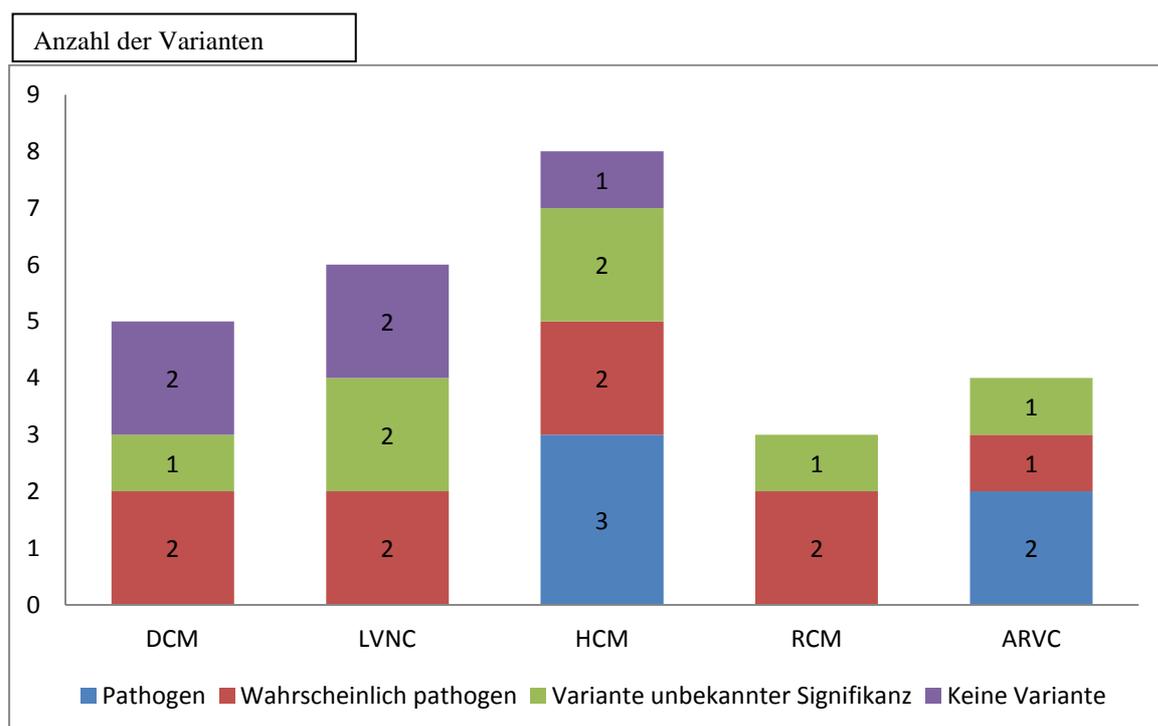


Abbildung 27: Anzahl der Genvarianten der Indexpatienten (HCM: Hypertrophe Kardiomyopathie; LVNC: Linksventrikuläre Noncompaction-Kardiomyopathie; DCM: Dilatative Kardiomyopathie; ARVC: Arrhythmogene Rechtsventrikuläre Kardiomyopathie; RCM: Restriktive Kardiomyopathie)

3.6. Genetische Untersuchung der Familienangehörigen

Innerhalb der Familienangehörigen hatten 75,4 % (49/52) eine genetische Analyse, darunter 61,2 % (30/52) mit einem positiven Genotyp und insgesamt 47 Varianten. Darunter waren 70,0 % (n= 21) mit einer Variante und 30,0 % (n= 9) mit mehr als einer Variante. Anhand der Pathogenität wurden die Varianten klassifiziert in VUS (59,6 %, n= 28), wahrscheinlich pathogene (27,7%, n= 13) und pathogene (12,8 %, n= 6) (Abbildung 28). Ein positiver Genotyp mit fehlenden Phänotyp wurde bei 55,1 % (n= 27) festgestellt, während in 4,1 % (n= 2) der Geno- und Phänotyp positiv waren. Weitere 4,1 % (n= 2) der Familienangehörigen zeigten ausschließlich einen positiven Phänotyp.

Der Grad der Pathogenität hat einen signifikanten Einfluss auf den GLS ($p= 0,044$; Abbildung 29). Die Anzahl der genetischen Varianten sowie ein positiver Genotyp zeigten keinen Einfluss auf das Tagging.

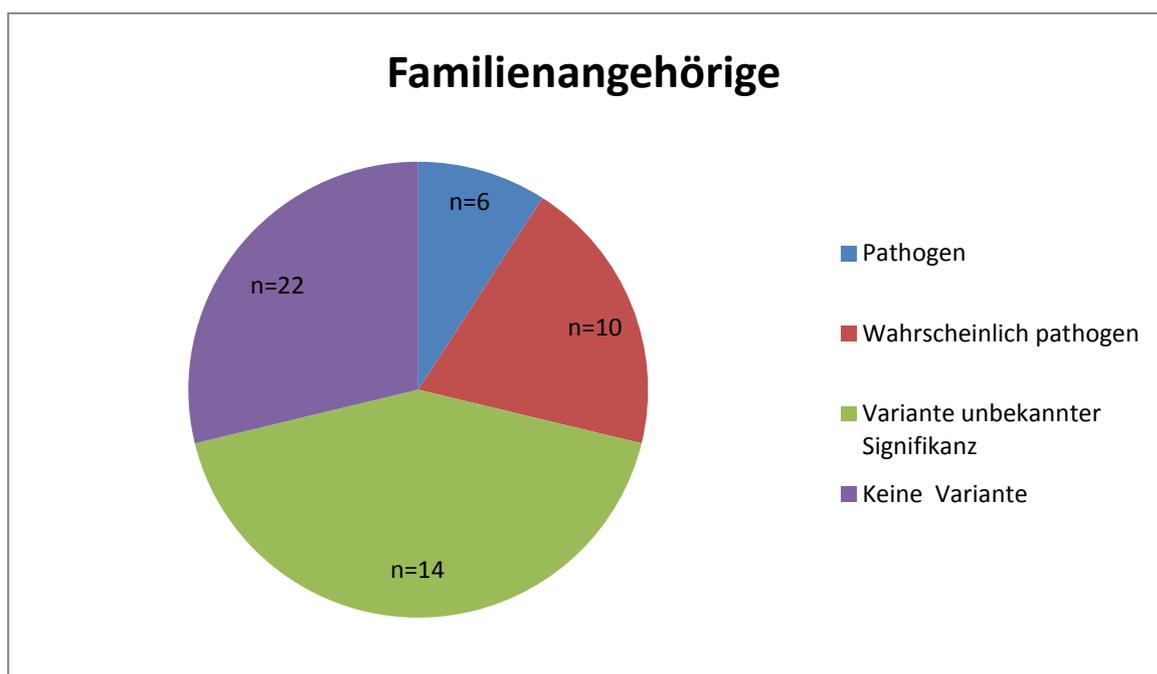


Abbildung 28: Genvarianten der Familienangehörigen (n= 47)

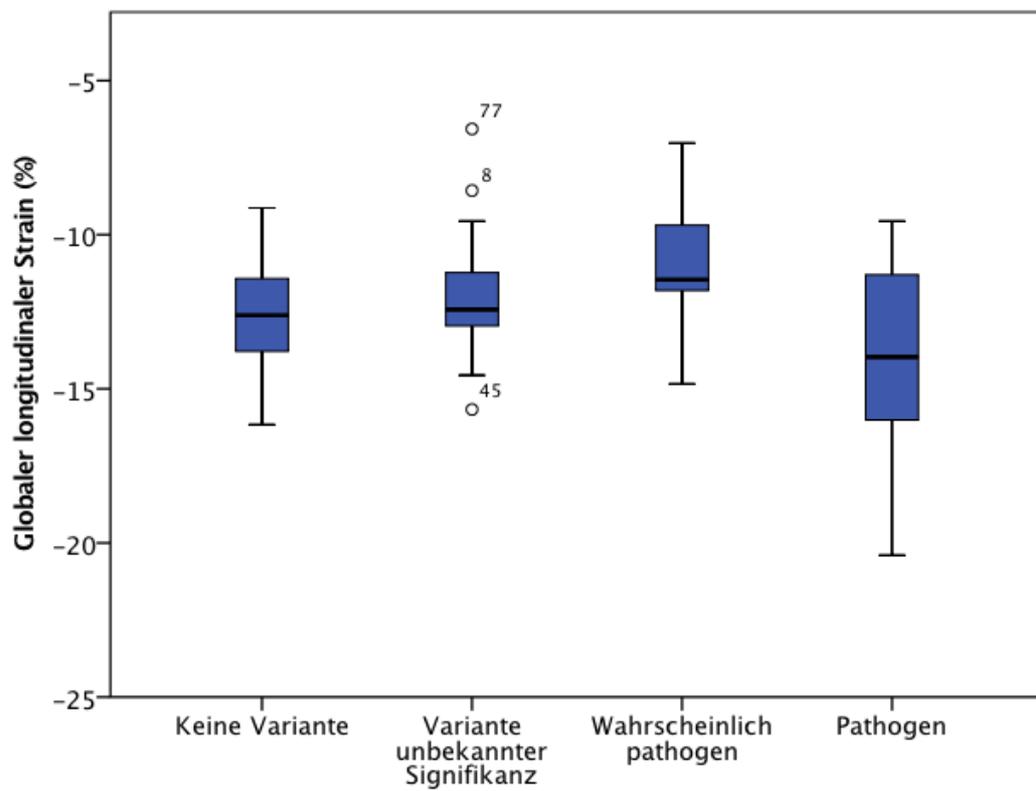


Abbildung 29: Darstellung des GLS und den genetischen Varianten unterschiedlicher Pathogenität der Familienangehörigen

3.7. Late Gadolinium Enhancement

3.7.1. Indexpatienten

Es wurde bei 18 Indexpatienten Kontrastmittel gegeben und die Bilder hinsichtlich LGE beurteilt (18/19). Es fand sich bei 33,3% (n= 6) der Patienten ein positives LGE. Zwischen den CMP-Gruppen zeigte sich kein signifikanter Unterschied ($p= 0,811$). Außerdem fanden sich keine signifikanten Korrelationen zwischen dem LGE und anderen Parametern wie GLS und VO₂max. Die Korrelation eines positiven Genotyps mit Nachweis von LGE zeigte bei den Indexpatienten ebenfalls keine statistische Signifikanz ($p= 0,114$), ebenso wenig hatten der Grad der Pathogenität sowie die Anzahl der Varianten einen Einfluss auf das LGE.

3.7.2. Familienangehörige

Innerhalb der Familienangehörigen hatten 3 ein positives LGE (3/65). Es ergab sich eine signifikante Korrelation der VO₂max-Werte mit dem LGE ($p= 0,005$). Die VO₂max lag im Median bei 18,6 ml/min*kg bei LGE-positiven Familienangehörigen (Abbildung 30).

Vorliegen eines positiven Genotyps, der Grad der Pathogenität sowie die Anzahl der Varianten zeigten keinen Einfluss auf das LGE.

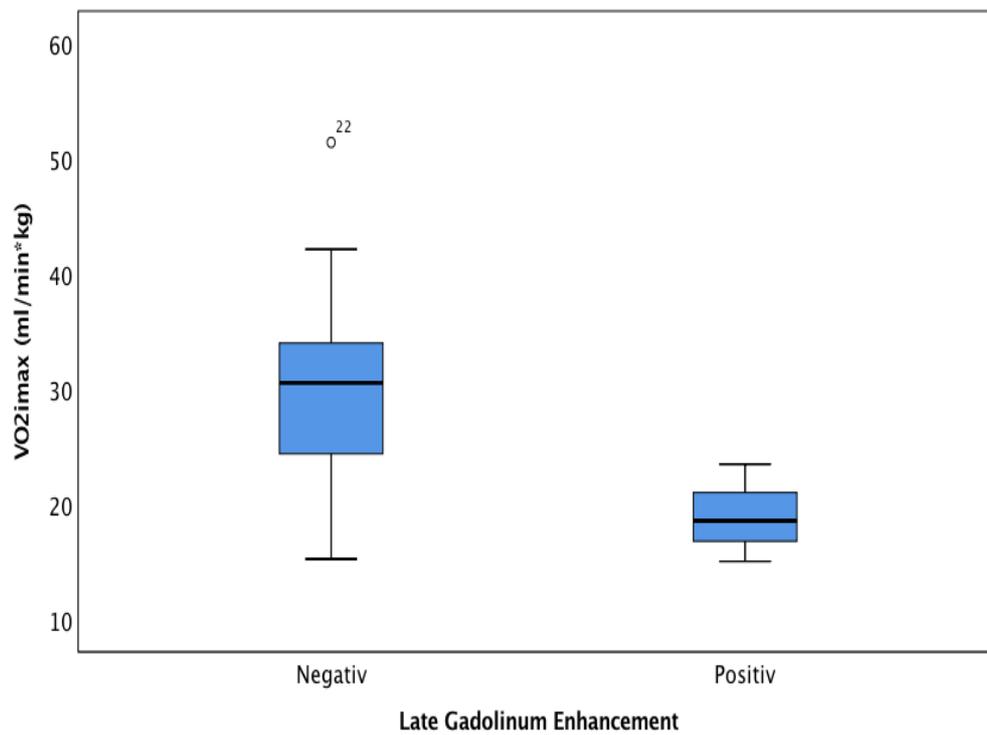


Abbildung 30: Vergleichende Darstellung positiver und negativer Late Gadolinums Enhancements mit der VO2max(ml/min*kg) der Familienangehörigen (p= 0,005)

4. Diskussion

Kardiomyopathien sind sehr schwerwiegende, seltene Erkrankungen des Herzmuskels und häufig Ursache für Herzinsuffizienzen im Kindesalter. Von besonderer Bedeutung sind daher die Identifikation von Risikofaktoren und Prädiktoren sowie eine frühzeitige Erkennung der Erkrankung [38].

In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob Tissue-Tagging in der kardiovaskulären Bildgebung eine geeignete Untersuchung im Kaskadenscreening bei pädiatrischen Patienten mit primären Kardiomyopathien sowie deren Familienangehörigen darstellt. Des Weiteren sollte herausgearbeitet werden, ob sich bisher klinisch unauffällige Familienangehörige genotypisch bzw. phänotypisch mit der Methode des Tissue-Tagging im MRT identifizieren lassen.

4.1. Interpretation der MRT-Daten

In den letzten Jahren hat sich die kardiale MRT zu einer zuverlässigen und exakten Methode zur Quantifizierung der globalen LV-Funktion etabliert. Insbesondere die hier verwendete Methode des Tissue Tagging besitzt eine hohe zeitliche und räumliche Auflösung, die exakter ist als die der Echokardiographie [39]. Das Tagging hat sich dadurch als ein wichtiges Instrument zur nichtinvasiven Quantifizierung der dreidimensionalen Verformung des linken Ventrikels während des Herzzyklus bei gesunden und kranken Probanden erwiesen [40].

Mit dieser Arbeit konnte nachgewiesen werden, dass sich zunächst Unterschiede in den Funktionswerten beider Ventrikel zwischen den einzelnen CMP-Gruppen gezeigt haben, wobei die Patienten mit einer DCM die größten Einschränkungen gegenüber Patienten mit HCM aufwiesen. Der longitudinale und circumferentielle Strain liegt physiologisch bei ca. -20%. Es stellte sich heraus, dass Patienten mit linksventrikulärer Hypertrophie, trotz normaler LVEF, einen reduzierten Strain haben. Diese Beobachtung wird auch in der Literatur beschrieben. Daraus lässt sich schließen, dass reduzierte Strainwerte mit dem Schweregrad einer Myokarderkrankung und erhöhten Füllungsdrücken korrelieren, trotz erhaltener LVEF [41].

Patienten mit DCM zeigten deutlich reduzierte LVEF-Werte, dies lässt sich mit den pathologischen Veränderungen des linken Ventrikels erklären. Die Erkrankung ist gekennzeichnet durch eine Vergrößerung des linken Ventrikels sowie Funktionseinschränkungen der myokardialen Kontraktilität. Daraus resultiert eine Beeinträchtigung der systolischen Funktion [39]. Reduzierte Wandbewegung und eine nicht synchrone Kontraktion sind Kennzeichen der DCM, außerdem zeigen die Dehnungsanomalien eine deutliche räumliche Heterogenität [36]. Dies wurde auch in der vorliegenden Studie beobachtet, vor allem der circumferentielle mittventrikuläre Strain war signifikant reduziert im Gegensatz zu Patienten mit LVNC. In der Literatur finden sich mittventrikulär deutlich reduzierte Strainwerte bei Patienten mit DCM im Gegensatz zu Gesunden [36]. In der vorliegenden Arbeit konnte auch gezeigt werden, dass Patienten mit DCM reduzierte circumferentielle Strainwerte zeigen, im Gegensatz zu Eltern, Angehörigen und Patienten mit LVNC und ARVC.

Die LVEF spiegelt die fraktionelle Veränderung des dreidimensionalen Volumens wieder, der Strain bezieht sich auf die Veränderung der Form, die sich aus der Kontraktion ergibt und damit die fraktionelle Änderung der Länge des Myokards zwischen Enddiastole und Endsystole. Somit sind die beiden Messungen als vergleichbar anzusehen und können miteinander korrelieren [39]. Insgesamt zeigt sich, dass Patienten mit reduzierter LVEF auch pathologische Werte des GLS aufweisen.

NTproBNP, als Marker der Herzinsuffizienz, korreliert darüber hinaus positiv mit dem GLS innerhalb der gesamten Studienkohorte ($p=0,009$). Patienten mit einem erhöhten NTproBNP haben demzufolge reduzierte Strainwerte. In der Literatur wird ein Zusammenhang zwischen NTproBNP und der linksventrikulären Kontraktionsfähigkeit beschrieben [42]. Das bedeutet, dass der Strain in Kombination mit dem Laborparameter eine Aussage zur Funktion des Myokards treffen kann.

Des Weiteren fand neben der Laboranalyse auch eine genetische Untersuchung statt. 73,7 % der Indexpatienten und 61,2 % der Familienangehörigen hatten einen positiven genetischen Befund. Es zeigten sich keine Korrelationen zwischen dem Strain und dem Genotyp der Indexpatienten. Jedoch zeigte sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen dem GLS und dem Grad der Pathogenität der Genmutationen bei den Familienangehörigen. Das bedeutet, je pathogener die Varianten, desto reduzierter war der Strainwert bei den Familienangehörigen als Hinweis auf ein positives Kaskadenscreening.

Das Late Gadolinium Enhancement ist eine effektive Methode zur Beurteilung der myokardialen Fibrose und dient zur Beurteilung der Prognose bei Patienten mit CMP. Es wurde festgestellt, dass ein positives LGE mit einem höheren Risiko für kardiale Ereignisse, wie dem plötzlicher Herztod und Arrhythmien, einhergeht [43]. In der vorliegenden Arbeit zeigte das LGE keine Korrelationen mit den Tissue-Tagging Parametern. Dies könnte daran liegen, dass die Fallzahl relativ gering ist. Im Gegensatz dazu wurde festgestellt, dass Familienangehörige mit einem positiven LGE eine reduzierte VO₂max aufweisen als Zeichen der Einschränkung der Belastbarkeit.

4.2. Interpretation der spiroergometrischen Daten

Die Spiroergometrie ist eine nicht-invasive Methode zur Beurteilung der kardiovaskulären, pulmonalen und muskulären Belastungsfähigkeit. Bei kardialen Erkrankungen wie beispielsweise Kardiomyopathien, angeborenen Herzfehlern oder pulmonaler Hypertonie dient sie zur Bewertung der systolischen und diastolischen Funktion des Herzens. Bei Patienten mit primären Kardiomyopathien stellt die Spiroergometrie eine gute Möglichkeit zur Einschätzung des Risikos für plötzlichen Herztod dar [44].

Insgesamt zeigten sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Patienten mit CMP im Vergleich zu den Familienangehörigen. Dies scheint darin begründet zu sein, dass der Großteil der Indexpatienten eine gut kompensierte kardiale Funktion zeigt und sich vorwiegend in NYHA-Klasse I befindet.

Der Vergleich der Tagging-Werte mit der Sauerstoffaufnahme in der Spiroergometrie erweist sich als sehr aussagekräftig. Hier zeigen sich signifikante Korrelationen zwischen der VO₂max mit dem mittventrikulären CS sowie mittventrikulärem RS der Indexpatienten. Somit dient das Tagging auch zur objektiven Beurteilung der Belastbarkeit.

4.3. Genotyp-Phänotyp-Korrelation

Die molekulargenetische Diagnostik ist mit dem Ziel einer möglichen Genotyp-Phänotyp-Korrelation von großer Bedeutung. Wäre es möglich, den Phänotyp basierend auf dem Genotyp vorherzusagen, so erwiesen sich genetische Analysen als nützliches Mittel zur Intervention und somit zur Modifizierung des Krankheitsverlaufs. In der vorliegenden Studie zeigte sich, dass insgesamt 73,7 % der Indexpatienten und 61,2 % der Familienangehörigen eine positive genetische Analyse aufwiesen. Jedoch sind von den Familienangehörigen nur 4,1 % genotypisch und phänotypisch betroffen. Daraus lässt sich schließen, dass sich die genetische Testung der Indexpatienten als sinnvoll erwiesen hat, jedoch die der Angehörigen eine große Diskrepanz zwischen Geno- und Phänotyp aufweist. Dies lässt sich damit begründen, dass die Mehrheit der Familienangehörigen (46,7 %) eine VUS hatte und somit noch nicht feststeht, wie relevant insbesondere diese Genveränderungen für die Entwicklung der Erkrankung sind.

In der Regel gibt es keine Indikation für ein routinemäßiges genetisches Screening zur Bestätigung einer klinischen Diagnose. Dennoch ist ein positives Ergebnis der Genotypisierung unterstützend. Bevor prädiktive Tests für Familienmitglieder stattfinden, sollte die Pathogenität der untersuchten Genvarianten nachgewiesen sein [45].

5. Zusammenfassung

Insgesamt zeigt sich, dass eine umfassende Untersuchung mittels nicht-invasiver MRT, genetischer Analyse, Bestimmung von NT-proBNP und Spiroergometrie zur Identifikation von Hochrisikopatienten sowie deren Angehörige sinnvoll ist. Eine frühe Diagnose könnte dazu beitragen, akute kardiale Ereignisse wie plötzlichen Herztod (SCD) zu verhindern. Es stellte sich heraus, dass der GLS und der mittventrikuläre circumferentielle Strain die größte Aussagekraft haben. Eine weitere Kernaussage ist, dass der positive Genotyp allein nicht ausreicht um eine Vorhersage zur Schwere der KMP zu stellen. Die genetische Analyse ist nur hilfreich, wenn sie in Kombination mit bildgebenden Maßnahmen durchgeführt wird und andere spezifische Parameter des klinischen Status erhoben werden.

Die kardiale MRT unterstützt bei der genauen Phänotypisierung durch die Bestimmung der globalen linksventrikulären Funktion und mittels Bestimmung der Flussvolumina, Strainmessung und Detektion fibrotischer Areale sowie der Möglichkeit der genauen Beurteilung des Myokards. Durch seinen hohen zeitlichen Aufwand lässt sich das Tagging derzeit jedoch nur bedingt in den klinischen Alltag integrieren. Gelänge es, das Umranden von Epi- und Endokard, sowie die Datenverarbeitung zu vereinfachen oder zu automatisieren, könnte das Tissue-Tagging einen zusätzlichen Stellenwert in der kardialen Diagnostik einnehmen.

Im Hinblick auf das Kaskadenscreening stellt das Tissue Tagging zur Identifizierung von Kontraktilitätsstörungen des Myokards, bei bisher phänotypisch unauffälligen Angehörigen eine wertvolle diagnostische Methode dar. Des Weiteren kann dadurch eine Aussage zum Erkrankungsausmaß bei Patienten mit primären Kardiomyopathien, in Zusammenschau mit weiteren Untersuchungen getroffen werden.

6. Limitationen

Die Gruppe der Indexpatienten ist sehr heterogen aufgrund der verschiedenen Diagnosen und damit verbunden auch die klinische Situation der Patienten.

Eine Auswertung der MRT-Daten durch einen weiteren Untersucher hätte die Interobserver-Variabilität erhöhen können.

7. Literaturverzeichnis

- [1] Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch 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. 1996;(Circulation):841–2.
- [2] Maron BJ. Contemporary Definitions and Classification of the Cardiomyopathies: An American Heart Association Scientific Statement From the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 11. April 2006;113(14):1807–16.
- [3] Elliott PM, Anastakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecci F, Charron P, Hagege AA, Lafont A, Limongelli G, Mahrholdt H, McKenna WJ, Mogensen J, Nihoyannopoulos P, Nistri S, Pieper PG, Pieske B, Rapezzi C, Rutten FH, Tillmanns C, Watkins H. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertrophic cardiomyopathy: The Task Force for the Diagnosis and Management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 14. Oktober 2014;35(39):2733–79.
- [4] Dittrich S, Klaassen S, Kandolf R, Doenst T, Sieverding L. S2k Leitlinie Pädiatrische Kardiologie: Primäre Kardiomyopathien im Kindes- und Jugendalter. *Dtsch Ges Für Pädiatr Kardiologie* [Internet]. 2013; Verfügbar unter: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/023-0291_S2k_Primäre_Kardiomyopathie_Kinder_Jugendliche_2014-06.pdf (letzter Zugriff: 14.06.2018, 12:08)
- [5] Bauriedel G, Skowasch D, Lüderitz B. Die chronische Herzinsuffizienz. *Dtsch Ärztebl. Online* [Internet]. 2005;12. Verfügbar unter: <https://www.aerzteblatt.de/pdf.asp?id=45685> (letzter Zugriff: 20.10.2018, 15:10)
- [6] Hoppe UC, Böhm M, Drexler H, Hasenfuß G, Lemke B, Osterspey A, Schmaltz AA, Erdmann E. Therapie der chronischen und akuten Herzinsuffizienz. *Dtsch Ges Für Kardiologie – Herz- Kreislaufforsch EV* [Internet]. 2009; Verfügbar unter: http://leitlinien.dgk.org/files/2005_Pocket-Leitlinien_Chronische_Herzinsuffizienz.pdf (letzter Zugriff: 13.06.2018, 16:20)
- [7] Lee TM, Hsu DT, Kantor P, Towbin JA, Ware SM, Colan SD, Chung WK, Jefferies JL, Rossano JW, Castleberry CD, Addonizio LJ, Lal AK, Lamour JM, Miller EM, Thrush PT, Czachor JD, Razoky H, Hill A, Lipshultz SE. Pediatric Cardiomyopathies. *Circ Res*. 15. September 2017;121(7):855–73.
- [8] Sisakian H. Cardiomyopathies: Evolution of pathogenesis concepts and potential for new therapies. *World J Cardiol*. 2014;6(6):478.

- [9] Daubeney PEF, Nugent AW, Chondros P, Carlin JB, Colan SD, Cheung M, Davis AM, Chow CW, Weintraub RG. Clinical Features and Outcomes of Childhood Dilated Cardiomyopathy: Results From a National Population-Based Study. *Circulation*. 12. Dezember 2006;114(24):2671–8.
- [10] Park H-Y. Hereditary Dilated Cardiomyopathy: Recent Advances in Genetic Diagnostics. *Korean Circ J*. 2017;47(3):291.
- [11] Prinz C, Farr M, Hering D, Horstkotte D, Faber L. The Diagnosis and Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Dtsch Aertzblatt Online [Internet]*. 1. April 2011; Verfügbar unter: <https://www.aerzteblatt.de/10.3238/arztebl.2011.0209> (letzter Zugriff: 13.06.2018, 11:35)
- [12] Seidman JG, Seidman C. The Genetic Basis for Cardiomyopathy: Review from Mutation Identification to Mechanistic Paradigms. *Cell Vol 104*. 23. Februar 2001;557–567.
- [13] Chung M-W, Tsoutsman T, Semsarian C. Hypertrophic cardiomyopathy: from gene defect to clinical disease. *Cell Res*. Februar 2003;13(1):9–20.
- [14] Vaidya K, Semsarian C, Chan KH. Atrial Fibrillation in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Heart Lung Circ*. September 2017;26(9):975–82.
- [15] Klaassen S, Probst S, Oechslin E, Gerull B, Krings G, Schuler P, Greutmann M, Hürlimann D, Yegitbasi M, Pons L, Gramlich M, Drenckhahn JD, Heuser A, Berger F, Jenni R, Thierfelder L. Mutations in Sarcomere Protein Genes in Left Ventricular Noncompaction. *Circulation*. 27. Mai 2008;117(22):2893–901.
- [16] Engberding R, Stöllberger C, Ong P, Yelbuz TM, Gerecke BJ, Breithardt G. Isolierte Noncompaction-Kardiomyopathie. *Dtsch Arztebl*. 2010;107(12): 206–13.
- [17] Maron BJ. Contemporary Definitions and Classification of the Cardiomyopathies: An American Heart Association Scientific Statement From the Council on Clinical Cardiology, Heart Failure and Transplantation Committee; Quality of Care and Outcomes Research and Functional Genomics and Translational Biology Interdisciplinary Working Groups; and Council on Epidemiology and Prevention. *Circulation*. 11. April 2006;113(14):1807–16.
- [18] Li KHC, Bazoukis G, Liu T, Li G, Wu WKK, Wong SH, Wong WT, Chan YS, Wong MCS, Wassilew K, Vassiliou VS, Tse G. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia (ARVC/D) in clinical practice. *J Arrhythmia*. Februar 2018;34(1):11–22.
- [19] Russo LM. Idiopathic restrictive cardiomyopathy in children. *Heart*. 1. September 2005;91(9):1199–202.
- [20] Knirsch W, Mehwald P, Dittrich S, Kececioglu D. Restriktive Kardiomyopathie: Ein seltenes Krankheitsbild im Kindesalter. *Z Für Kardiologie [Internet]*. Juli 2004;93(7). Verfügbar unter: <http://link.springer.com/10.1007/s00392-004-0098-9> (letzter Zugriff:

15.04.2018, 10:20)

- [21] Davies MJ. CARDIOMYOPATHY: The cardiomyopathies: an overview. *Heart*. 1. April 2000;83(4):469–74.
- [22] Wonisch M, Fruhwald FM, Hofmann P Hödl R, Klein W, Kraxner W Maier R, Pokan R, Scherr D Watzinger N. *Journal für Kardiologie - Austrian Journal of Cardiology* [Internet] 2003; 10(10), 440-446. Spiroergometrie in der Kardiologie - Klinische Anwendungsmöglichkeiten. Verfügbar unter : <https://www.kup.at/kup/pdf/3649.pdf> (letzter Zugriff: 15.04.2018, 11:45)
- [23] Yan W, Wu F, Morser J, Wu Q. Corin, a transmembrane cardiac serine protease, acts as a pro-atrial natriuretic peptide-converting enzyme. *Proc Natl Acad Sci*. 18. Juli 2000;97(15):8525–9.
- [24] Mair J, Hammerer-Lercher A, Puschendorf B. The Impact of Cardiac Natriuretic Peptide Determination on the Diagnosis and Management of Heart Failure. *Clin Chem Lab Med* [Internet]. 15. Januar 2001;39(7). Verfügbar unter: <https://www.degruyter.com/view/j/cclm.2001.39.issue-7/cclm.2001.093/cclm.2001.093.xml> (letzter Zugriff: 15.04.2018, 17:20)
- [25] DOWNIE PF, TALWAR S, SQUIRE IB, DAVIES JE, BARNETT DB, NG LL. Assessment of the stability of N-terminal pro-brain natriuretic peptide in vitro: implications for assessment of left ventricular dysfunction. 1999;4.
- [26] Luchner A, Holmer S, Schunkert H, Riegger GA. Bedeutung der Herzinsuffizienzmarker BNP und NT-proBNP für die Klinik. *Dtsch Arztebl*. 2003;A 3314–3321 [Heft 50].
- [27] Mardis ER. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends Genet*. März 2008;24(3):133–41.
- [28] van Dijk EL, Auger H, Jaszczyszyn Y, Thermes C. Ten years of next-generation sequencing technology. *Trends Genet*. September 2014;30(9):418–26.
- [29] Punetha J, Hoffman EP. Short Read (Next-Generation) Sequencing: A Tutorial With Cardiomyopathy Diagnostics as an Exemplar. *Circ Cardiovasc Genet*. 1. August 2013;6(4):427–34.
- [30] Millat G, Chanavat V, Rousson R. Evaluation of a new NGS method based on a custom AmpliSeq library and Ion Torrent PGM sequencing for the fast detection of genetic variations in cardiomyopathies. *Clin Chim Acta*. Juni 2014;433:266–71.
- [31] Glotov AS, Kazakov SV, Zhukova EA, Alexandrov AV, Glotov OS, Pakin VS, Danilova MM, Poliakova IV, Niyazova SS, Chakova NN, Komissarova SM, Kurnikova EA, Sarana AM, Sherbak SG, Sergushichev AA, Shalyto AA, Baranov VS. Targeted next-generation sequencing (NGS) of nine candidate genes with custom AmpliSeq in patients and a cardiomyopathy risk group. *Clin Chim Acta*. Juni 2015;446:132–40.

- [32] Götte MJW, Germans T, Rüssel IK, Zwanenburg JJM, Marcus JT, van Rossum AC, van Veldhuisen DJ. Myocardial Strain and Torsion Quantified by Cardiovascular Magnetic Resonance Tissue Tagging. *J Am Coll Cardiol*. November 2006;48(10):2002–11.
- [33] Taylor RJ, Umar F, Moody WE, Meyyappan C, Stegemann B, Townend JN, Hor KN, Miszalski-Jamka T, Mazur W, Steeds RP, Leyva F. Feature-tracking cardiovascular magnetic resonance as a novel technique for the assessment of mechanical dyssynchrony. *Int J Cardiol*. Juli 2014;175(1):120–5.
- [34] Dubowy K-O, Baden W, Bernitzki S, Peters B. A practical and transferable new protocol for treadmill testing of children and adults*. *Cardiol Young*. Dezember 2008;18(06):615.
- [35] Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ. Recommendations for Chamber Quantification: A Report from the American Society of Echocardiography’s Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, Developed in Conjunction with the European Association of Echocardiography, a Branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. Dezember 2005;18(12):1440–63.
- [36] Jeung M-Y, Germain P, Croisille P, ghannudi SE, Roy C, Gangi A. Myocardial Tagging with MR Imaging: Overview of Normal and Pathologic Findings. *RadioGraphics*. September 2012;32(5):1381–98.
- [37] Richards S, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, Grody WW, Hegde M, Lyon E, Spector E, Voelkerding K, Rehm HL. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. Mai 2015;17(5):405–23.
- [38] Wilkinson JD, Landy DC, Colan SD, Towbin JA, Sleeper LA, Orav EJ, Cox GF, Canter CE, Hsu DT, Webber SA, Lipshultz SE. The Pediatric Cardiomyopathy Registry and Heart Failure: Key Results from the First 15 Years. *Heart Fail Clin*. Oktober 2010;6(4):401–13.
- [39] Yu Y, Yu S, Tang X, Ren H, Li S, Zou Q, Xiong F, Zheng T, Gong L. Evaluation of left ventricular strain in patients with dilated cardiomyopathy. *J Int Med Res*. Dezember 2017;45(6):2092–100.
- [40] Kuijper JPA, Marcus JT, Götte MJW, van Rossum AC, Heethaar RM. Three-Dimensional Myocardial Strains at End-Systole and During Diastole in the Left Ventricle of Normal Humans. *J Cardiovasc Magn Reson*. 2002;4(3):341–51.
- [41] MacIver DH. The relative impact of circumferential and longitudinal shortening on left ventricular ejection fraction and stroke volume. 2012;17(1):7.

- [42] Koch A, Zink S, Singer H. B-type natriuretic peptide in paediatric patients with congenital heart disease. *Eur Heart J*. 1. April 2006;27(7):861–6.
- [43] Kuruvilla S, Adenaw N, Katwal AB, Lipinski MJ, Kramer CM, Salerno M. Late Gadolinium Enhancement on Cardiac Magnetic Resonance Predicts Adverse Cardiovascular Outcomes in Nonischemic Cardiomyopathy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Circ Cardiovasc Imaging*. 1. März 2014;7(2):250–8.
- [44] Coats CJ, Rantell K, Bartnik A, Patel A, Mist B, McKenna WJ, Elliott PM. Cardiopulmonary Exercise Testing and Prognosis in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ Heart Fail*. 15. September 2015;CIRCHEARTFAILURE.114.002248.
- [45] Raman SV, Basso C, Tandri H, Taylor MRG. Imaging Phenotype vs Genotype in Nonhypertrophic Heritable Cardiomyopathies: Dilated Cardiomyopathy and Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy. *Circ Cardiovasc Imaging*. 1. November 2010;3(6):753–65.

8. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 : NYHA Klassifikation bei Herzinsuffizienz	9
Tabelle 2 : Einteilung der sekundären Kardiomyopathien.....	14
Tabelle 3 : Untersuchungszeitpunkte	21
Tabelle 4 : Basiswerte der Indexpatienten	30
Tabelle 5 : Basiswerte der Familienangehörigen	31
Tabelle 6 : Werte der Spiroergometrie	34
Tabelle 7 : Tagging-Werte der Indexpatienten	41
Tabelle 8 : Tagging-Werte der Familienangehörigen	42

9. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Einteilung der primären Kardiomyopathien [2].....	9
Abbildung 2: A= Gesundes Herz; B= Dilatative Kardiomyopathie [12].....	10
Abbildung 3: Links physiologische Herzarchitektur mit geordneten Myozyten; Rechts Darstellung einer massiven asymmetrischen linksventrikulären Hypertrophie sowie eine ungeordnete Aneinanderlagerung der Myozyten [13]	11
Abbildung 4: Präparat einer linksventrikulären Noncompaction-Kardiomyopathie mit ausgeprägter Trabekularisierung im linken Ventrikel, Pfeil = Thrombus [16].....	12
Abbildung 5 : Kurzsachsenschnitt eines explantierten Herzens zeigt den fettgewebigen Umbau und eine ausgeprägte Trabekularisierung des rechten Ventrikels [18]	13
Abbildung 6: Modifizierte Darstellung der Morphologie eines gesunden Herzens sowie bei Restriktiver Kardiomyopathie [21]	14
Abbildung 7: Vergleichende Darstellung der Sanger Sequenzierung und Next Generation Sequencing [29].....	16
Abbildung 8: Darstellung des myokardialen Strains (CS: circumferentieller Strain; RS : radialer Strain; LS: longitudinaler Strain ; blaue Pfeile: Bewegungen des Myokards während der Kontraktion)	18
Abbildung 9: Segmentierung des basalen linken Ventrikels (1: Antero-lateral; 2: Infero-lateral; 3: Inferior; 4: Infero-septum; 5: Antero-septum; 6: Anterior), grün= Endokard, blau= Epikard.....	25
Abbildung 10: Darstellung zeigt den circumferentiellen Strain in einer Kurve für jedes Segment des Myokards [36].....	25
Abbildung 11: Farbliche Darstellung der regionalen Strainunterschiede im Myokard (gelb=reduzierter Strain; blau=hoher Strain); A:physiologisch; B:Patient mit Dilatativer Kardiomyopathie [36]	26
Abbildung 12: Tagging der kurzen Herzachse bei einem Patienten mit Dilatativer Kardiomyopathie (A: basal; B: mittventrikulär; C: apikal; rot: Endokard; grün: Epikard; blau: Segmente).....	26
Abbildung 13: Tagging der kurzen Herzachse bei einem Patienten mit Restriktiver Kardiomyopathie (A: basal; B: mittventrikulär; C: apikal; rot: Endokard; grün: Epikard; blau: Segmente).....	26
Abbildung 14: Tagging im Zweikammerblick eines Familienangehörigen(rot: Endokard; grün: Epikard; blau: Segmente).....	27

Abbildung 15: Tagging im Vierkammerblick eines Familienangehörigen (rot: Endokard; grün: Epikard; blau: Segmente).....	27
Abbildung 16: Diagnosen der Indexpatienten (n= 19) (DCM: Dilatative Kardiomyopathie; HCM: Hypertrophe Kardiomyopathie; LVNC: Linksventrikuläre Noncompaction Kardiomyopathie; ARVC: Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie; RCM: Restriktive Kardiomyopathie).....	29
Abbildung 17: Boxplot-Diagramm der Pro-BNP Werte (pg/ml) zwischen den CMP-Gruppen der Indexpatienten (p= 0,171). (DCM: Dilatative Kardiomyopathie; LVNC: Linksventrikuläre Noncompaction Kardiomyopathie; HCM: Hypertrophe Kardiomyopathie; RCM: Restriktive Kardiomyopathie; ARVC: Arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie).....	32
Abbildung 18: Positive Korrelation zwischen NTproBNP (pg/ml) und dem Globalen longitudinalen Strain (%) ($r_s = -0,292$, p= 0,009)	33
Abbildung 19: Negative Korrelation zwischen NTproBNP (pg/ml) und der rechtsventrikulären Ejektionsfraktion (%) ($r_s = 0,022$, p= 0,022).....	33
Abbildung 20: Negative Korrelation zwischen mittventrikulärem circumferentiellen Strain und maximaler Sauerstoffaufnahme (ml/min*kg) der Indexpatienten ($r_s = -0,562$, p= 0,024, n= 16)	35
Abbildung 21: Negative Korrelation zwischen mittventrikulärem radialen Strain und maximaler Sauerstoffaufnahme (ml/min*kg) ($r_s = -0,713$, p= 0,009, n= 12)	35
Abbildung 22: Arbeitsdiagramm der MRT-Auswertung (4CH: Vierkammerblick; 2CH: Zweikammerblick; CS: circumferentieller Strain; RS: radialer Strain; mid: mittventrikulär; api: apikal).....	36
Abbildung 23: Linksventrikuläre Ejektionsfraktion der CMP (p= 0,014).....	37
Abbildung 24: Negative Korrelation der linksventrikulären Ejektionsfraktion mit dem globalen longitudinalen Strain ($r_s = -0,239$, p= 0,032).....	38
Abbildung 25: Negative Korrelation der rechtsventrikulären Ejektionsfraktion mit dem globalen longitudinalen Strain ($r_s = -0,220$, p= 0,049).....	39
Abbildung 26: Boxplotdiagramm des mittventrikulären circumferentiellen Strain der Indexpatienten (p= 0,033)	40
Abbildung 27: Anzahl der Genvarianten der Indexpatienten (HCM: Hypertrophe Kardiomyopathie; LVNC: Linksventrikuläre Noncompaction Kardiomyopathie; DCM: Dilatative Kardiomyopathie; ARVC: Arrhythmogene Rechtsventrikuläre Kardiomyopathie; RCM: Restriktive Kardiomyopathie).....	43
Abbildung 28: Genvarianten der Familienangehörigen (n= 47)	44

Abbildung 29: Darstellung des GLS und den genetischen Varianten unterschiedlicher Pathogenität der Familienangehörigen.....	45
Abbildung 30: Vergleichende Darstellung positiver und negativer Late Gadolinums Enhancements mit der VO ₂ max(ml/min*kg) der Familienangehörigen (p= 0,005)	47

10. Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Lisa-Marie Mielenz (geb. Enger), versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Kaskadenscreening bei pädiatrischen Patienten mit primärer Kardiomyopathie mittels Tissue Tagging“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Bernau bei Berlin, den 07.11.2018

Lisa-Marie Mielenz (geb. Enger)

11. Lebenslauf

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

12. Danksagung

Hiermit danke ich meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. Sabine Klaassen für die Vergabe des Promotionsthemas, der Betreuung und Beratung.

Des Weiteren danke ich meiner Betreuerin Frau Dr. med. Franziska Degener, die mir immer mit Rat zur Seite stand und selbst nach stressigen Tagen noch Zeit gefunden hat für die statistische Analyse und Überarbeitung der Dissertation.

Ein besonderer Dank richtet sich an meine Eltern Simone und Gert Enger, die mich fortwährend, im Studium sowie während der Erarbeitung der Dissertation, motiviert haben und immer hinter mir standen.

Zum Schluss danke ich Christian Mielenz, dem Menschen, der mir in den letzten Jahren den größten Halt gegeben hat.