

Aus dem Institut für Pharmakologie und dem
Center for Cardiovascular Research (CCR)
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Verwendung von Speckle-tracking Echokardiographie für die
Evaluation der subendokardialen Funktion im Kleintiermodell**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Niklas Beyhoff

aus Oberhausen

Datum der Promotion: 06. März 2020

Inhaltsverzeichnis

1 Zusammenfassung.....	3
2 Abstract.....	4
3 Eidesstattliche Versicherung.....	5
4 Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation.....	6
5 Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of KnowledgeSM).....	7
6 Publikation.....	8
7 Lebenslauf.....	23
8 Komplette Publikationsliste	25
9 Danksagung	28

Teile der vorliegenden Arbeit entstammen (z.T. in Übersetzung) folgender Publikation:

Beyhoff N., Brix S., Betz I.R., Klopffleisch R., Foryst-Ludwig A., Krannich A., Stawowy P., Knebel F., Grune J., Kintscher U. *Application of Speckle-Tracking Echocardiography in an Experimental Model of Isolated Subendocardial Damage*. Journal of the American Society of Echocardiography. 2017;30(12): 1239–1250. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2017.08.006>.

1 Zusammenfassung

Hintergrund: Aufgrund seiner hohen Vulnerabilität ist das Subendokard bereits in subklinischen Phasen von kardiovaskulären Erkrankungen betroffen. Methoden zur Beurteilung der subendokardialen Funktion kommt daher eine große klinische Relevanz in Hinblick auf Früherkennung kardialer Schädigungen und Prävention funktioneller Einschränkungen zu. Die vorliegende Arbeit untersucht das Potential von myokardialen Strain-Parametern, Veränderungen innerhalb des Subendokards zu evaluieren.

Methodik: Männliche 129/Sv Mäuse wurden zur Induktion isolierter subendokardialer Fibrose mit Isoproterenol behandelt (ISO; $n = 32$), eine Kontrollgruppe erhielt stattdessen Kochsalzlösung ($n = 15$). Die transthorakale Echokardiographie der Tiere erfolgte mit einem 30-MHz Linearschallkopf und einem hochauflösenden System für Kleintierbildgebung; in den anschließenden Auswertungen des akquirierten Bildmaterials wurden sowohl konventionelle- als auch myokardiale Strain-Parameter erhoben. Der Kollagengehalt innerhalb der verschiedenen myokardialen Schichten wurde histologisch bestimmt, und die Serumkonzentration des Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1, einem Biomarker für Fibrose, erhoben.

Ergebnisse: Die Gabe von ISO führte als Reaktion auf Zelluntergang zu einem deutlichen Anstieg des subendokardialen Kollagengehaltes (Kontrollgruppe: $0,6 \pm 0,3\%$ vs. ISO: $5,8 \pm 0,9\%$, $P < 0,001$) und resultierte in einem moderaten Anstieg der linksventrikulären Wanddicken bei erhaltener systolischer Funktion. Global Longitudinal Peak Strain (LS) und -Strain Rate waren in den ISO-behandelten Tieren deutlich erniedrigt (LS: $-15,49\%$ vs. $-11,49\%$ [$P = 0,001$]; Longitudinal Strain Rate: $-4,81$ vs. $-3,88 \text{ sec}^{-1}$ [$P < 0,05$]), während die radialen und circumferentiellen Strain-Parameter unverändert blieben. Global LS korrelierte mit dem subendokardialen Kollagengehalt ($r = 0,46$; $P = 0,01$) und der Serumkonzentration von Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 ($r = 0,52$; $P < 0,05$). Anschließende Analysen identifizierten den global LS als überlegenden Prädiktor für das Vorhandensein von subendokardialer Fibrose (Sensitivität: 84 %, Spezifität: 80 %; Cut-off: $-14,4\%$).

Schlussfolgerung: Die Erhebung des LS könnte eine nicht-invasive Methode zur Detektion subendokardialer Schäden darstellen und folglich die frühzeitige Diagnose kardialer Erkrankungen verbessern.

2 Abstract

Background: The subendocardium is highly vulnerable to damage and is thus affected even in subclinical disease stages. Therefore, methods reflecting subendocardial status are of great clinical relevance for the early detection of cardiac damage and the prevention of functional impairment. The aim of this study was to investigate the potential ability of myocardial strain parameters to evaluate changes within the subendocardium.

Methods: Male 129/Sv mice were injected with isoproterenol (ISO; $n = 32$) to induce isolated subendocardial fibrotic lesions or saline as appropriate control ($n = 15$). Transthoracic echocardiography was performed using a 30-MHz linear-frequency transducer coupled to a high-resolution imaging system, and acquired images were analyzed for conventional and strain parameters. The degree of collagen content within the different cardiac layers was quantified by histologic analysis and serum levels of tissue inhibitor of metalloproteinase-1, a biomarker for fibrosis, were assessed.

Results: ISO treatment induced a marked increase in subendocardial collagen content in response to cell loss (control vs ISO, $0.6 \pm 0.3\%$ vs $5.8 \pm 0.9\%$; $P < .001$) and resulted in a moderate increase in left ventricular wall thickness with preserved systolic function. Global longitudinal peak strain (LS) and longitudinal strain rate were significantly decreased in ISO-treated animals (LS, -15.49% vs -11.49% [$P = .001$]; longitudinal strain rate, -4.81 vs -3.88 sec^{-1} [$P < .05$]), whereas radial and circumferential strain values remained unchanged. Global LS was associated with subendocardial collagen content ($r = 0.46$, $P = .01$) and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 serum level ($r = 0.52$, $P < .05$). Further statistical analyses identified global LS as a superior predictor for the presence of subendocardial fibrosis (sensitivity, 84%; specificity, 80%; cutoff value, -14.4%).

Conclusion: Assessment of LS may provide a noninvasive method for the detection of subendocardial damage and may consequently improve early diagnosis of cardiac diseases.

3 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Niklas Beyhoff, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema „Verwendung von Speckle-tracking Echokardiographie für die Evaluation der subendokardialen Funktion im Kleintiermodell“ 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.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in angegeben ist.

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

Datum

Unterschrift

4 Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Publikation: Beyhoff N., Brix S., Betz I.R., Klopffleisch R., Foryst-Ludwig A., Krannich A., Stawowy P., Knebel F., Grune J., Kintscher U. *Application of Speckle-Tracking Echocardiography in an Experimental Model of Isolated Subendocardial Damage*. Journal of the American Society of Echocardiography. 2017;30(12): 1239–1250. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2017.08.006>.

Beitrag im Einzelnen:

Planung und Organisation der Studie; Mithilfe bei der Antragstellung für das Tierversuchsvorhaben; Betreuung der Tiere während des Versuchs; Gewichtsmonitoring; Substanzapplikationen; Etablierung der Speckle-tracking Echokardiographie im Kleintier; echokardiographische Untersuchungen unter Inhalationsnarkose; Auswertung des echokardiographischen Bildmaterials; nicht-invasive Blutdruckmessungen; digitale Bildaufnahmen von histologischen Schnitten unter Durchlichtmikroskopie; computergestützte Quantifizierung der histologischen Färbungen; statistische Analysen; Literaturrecherche; Anfertigung von Abbildungen; Manuskripterstellung und -revisionen.

Unterschrift, Datum und Stempel des
betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

5 Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of KnowledgeSM)

InCites Journal Citation Reports



Journal Data Filtered By:
 Selected JCR Year: 2016
 Selected Editions: SCIE, SSCI
 Selected Categories: **'CARDIAC & CARDIOVASCULAR SYSTEMS'**
 Selected Average Journal Impact Factor Percentile Range: **90 to 100**
 Selected Category Scheme: WoS

Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	EUROPEAN HEART JOURNAL	51,199	20.212	0.142650
2	JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY	96,042	19.896	0.227010
3	CIRCULATION	165,641	19.309	0.245160
4	Nature Reviews Cardiology	4,406	14.299	0.018490
5	CIRCULATION RESEARCH	49,784	13.965	0.079750
6	JACC-Cardiovascular Imaging	6,895	10.189	0.026990
7	JACC-Cardiovascular Interventions	8,512	8.841	0.035080
8	JACC-Heart Failure	2,047	8.493	0.012190
9	PROGRESS IN CARDIOVASCULAR DISEASES	3,544	8.177	0.007690
10	JOURNAL OF HEART AND LUNG TRANSPLANTATION	9,754	7.114	0.023890
11	EUROPEAN JOURNAL OF HEART FAILURE	9,839	6.968	0.026510
12	JOURNAL OF THE AMERICAN SOCIETY OF ECHOCARDIOGRAPHY	11,343	6.852	0.018640
13	Circulation-Cardiovascular Imaging	4,472	6.803	0.019080

Copyright © 2017 Clarivate Analytics

6 Publikation

Beyhoff N., Brix S., Betz I.R., Klopfleisch R., Foryst-Ludwig A., Krannich A., Stawowy P., Knebel F., Grune J., Kintscher U. *Application of Speckle-Tracking Echocardiography in an Experimental Model of Isolated Subendocardial Damage*. Journal of the American Society of Echocardiography. 2017;30(12): 1239–1250. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2017.08.006>.

7 Lebenslauf

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

8 Komplette Publikationsliste

Publikationen:

Beyhoff N., Lohr D., Foryst-Ludwig A., Klopffleisch R., Brix S., Grune J., Thiele A., Erfinanda L., Tabuchi A., Kuebler W.M., Pieske B., Schreiber L.M., Kintscher U. *Characterization of Myocardial Microstructure and Function in an Experimental Model of Subendocardial Damage*. *Hypertension*. 2019;74(2):295–304. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.119.12956>. (2018-Impact Factor: 7,017)

Grune J., Ritter D., Kräker K., Pappritz K., **Beyhoff N.**, Schütte T., Ott C., John C., van Linthout S., Tschöpe C., Dechend R., Muller D.N., Haase N., Grune T., Kintscher U., Kuebler W.M. *Accurate assessment of LV function using the first automated 2D-border detection algorithm for small animals - evaluation and application to models of LV dysfunction*. *Cardiovasc Ultrasound*. 2019;17(1):7. Published 2019 Apr 22. <https://doi.org/10.1186/s12947-019-0156-0>. (2018-Impact Factor: 2,043)

Grune J., **Beyhoff N.**, Smeir E., Chudek R., Blumrich A., Ban Z., Brix S., Betz I.R., Schupp M., Foryst-Ludwig A., Klopffleisch R., Stawowy P., Houtman R., Kolkhof P., Kintscher U. *Selective Mineralocorticoid Receptor-Cofactor Modulation as Molecular Basis for Finerenone's Anti-Fibrotic Activity in a preclinical Model of Cardiac Fibrosis*. *Hypertension*. 2018 Apr;71(4):599-608. <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.117.10360>. (2017-Impact Factor: 6,857)

Salatzki J., Foryst-Ludwig A., Bentele K., Blumrich A., Smeir E., Ban Z., Brix S., Grune J., **Beyhoff N.**, Klopffleisch R., Dunst S., Surma M.A., Klose C., Rothe M., Heinzl F.R., Krannich A., Kershaw E.E., Beule D., Schulze P.C., Marx N., Kintscher U. *Adipose Tissue ATGL Modifies the Cardiac Lipidome in Pressure-Overload-Induced Left Ventricular Failure*. *PLoS Genet*. 2018;14(1):e1007171. Published 2018 Jan 10. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007171>. (2017-Impact Factor: 6,100)

Beyhoff N., Brix S., Betz I.R., Klopffleisch R., Foryst-Ludwig A., Krannich A., Stawowy P., Knebel F., Grune J., Kintscher U. *Application of Speckle-Tracking Echocardiography in an Experimental Model of Isolated Subendocardial Damage*. *Journal of the American Society of Echocardiography*. 2017;30(12): 1239–1250. <https://doi.org/10.1016/j.echo.2017.08.006>. (2016-Impact Factor: 6.852)

Kongressbeiträge:

Beyhoff N., Cao D., Mehran R., Blum M., Sartori S., Roumeliotis A., Goel R., Chandiramani R., Kapur V., Hasan C., Suleman J., Kesanakurthy S., Baber U., Dangas G., Khan A.A., Krishnan P., Barman N., Sweeny J., Kovacic J.C., Sharma S.K., Kini A. (2019, November). *Impact of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Patients with Chronic Kidney Disease Undergoing Percutaneous Coronary Intervention*. AHA Scientific Sessions 2019, American Heart Association (AHA), Philadelphia, USA.

Beyhoff N., Cao D., Mehran R., Blum M., Sartori S., Roumeliotis A., Goel R., Chandiramani R., Khan A., Krishnan P., Barman N., Baber U., Dangas G., Sharma S., Kini A. (2019, September). *Prognostic Value of High-Sensitivity C-Reactive Protein in Percutaneous Coronary Intervention According to Body Mass Index*. Posterpräsentation, Transcatheter Cardiovascular Therapeutics (TCT) Conference 2019, Cardiovascular Research Foundation, San Francisco, USA.

Beyhoff N., Lohr D., Foryst-Ludwig A., Klopffleisch R., Brix S., Schreiber L.M., Kintscher U. *Experimentelle Untersuchungen zum Einfluss von subendokardialen Schäden auf die myokardiale Mikroarchitektur und Funktion des linken Ventrikels*. (2018, November). „Best of..“-Vortrag, 42. Wissenschaftlicher Kongress der Deutschen Hochdruckliga e.V. DHL® Deutsche Gesellschaft für Hypertonie und Prävention, Berlin, Deutschland.

Bertero E., Nickel A., Kohlhaas M., Hohl N., **Beyhoff N.**, Müller A., Lafontaine M., Lancaster R., Kappl R., von der Malsburg L., Van der Laan M., Dudek J., Rehling P., Maack C. *Defective mitochondrial calcium uptake underlies mitochondrial dysfunction in X-linked Barth syndrome cardiomyopathy*. (2018, Oktober). Posterpräsentation. DGK Herztag 2018, Deutsche Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung e.V., Berlin, Deutschland.

Beyhoff N., Lohr D., Foryst-Ludwig A., Smeir E., Schreiber L.M., Kintscher U. (2018, Mai). *The role of subendocardial form and function in heart failure with preserved ejection fraction*. Posterpräsentation, Heart Failure 2018 & World Congress on Acute Heart Failure, European Society of Cardiology (ESC), Wien, Österreich.

Beyhoff N., Grune J., Brix S., Klopffleisch R., Foryst-Ludwig A., Krannich A., Stawowy P., Knebel F., Kintscher U. (2017, August). *Changes in Global Longitudinal Strain during early cardiac disease development - insights from the Lab*. Posterpräsentation, ESC Congress, European Society of Cardiology (ESC), Barcelona, Spanien.

Beyhoff N., Grune J., Brix S., Klopffleisch R., Foryst-Ludwig A., Krannich A., Stawowy P., Knebel F., Kintscher U. (2017, April). *Verwendung von Speckle-tracking Echokardiografie zur Detektion subendokardialer Schäden in einem experimentellen Kardiomyopathie-Modell*. Vortrag, 83. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung e.V., Mannheim, Deutschland.

Grune J., Smeir E., **Beyhoff N.**, Blumrich A., Ban Z., Brix S., Betz I., Höft B., Foryst-Ludwig A., Klopffleisch R., Stawowy P., Kolkhof P., Kintscher U. (2017, April). *Anti-fibrotic effects of Finerenone – a novel non-steroidal mineralocorticoid receptor antagonist in a model of isoprenaline-induced cardiomyopathy*. Posterpräsentation, 83. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung e.V., Mannheim, Deutschland.

Beyhoff N., Grune J., Brix S., Klopfleisch R., Foryst-Ludwig A., Krannich A., Stawowy P., Knebel F., Kintscher U. (2017, Februar). *Verwendung von Speckle-tracking Echokardiografie zur Detektion subendokardialer Schäden in einem experimentellen Kardiomyopathiemodell*. Posterpräsentation, 9. Deutsche Kardiagnostik-Tage mit 10. Leipziger Symposium Nichtinvasive Kardiovaskuläre Bildgebung, AG Herz- und Gefäßdiagnostik der Deutschen Röntgengesellschaft e.V. und AG 20, 21, 24 (Cluster B) der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung e.V., Leipzig, Deutschland.

Beyhoff N., Grune J., Brix S., Klopfleisch R., Foryst-Ludwig A., Stawowy P., Knebel F., Kintscher U. (2016, Dezember). *Verwendung von Speckle-tracking Echokardiografie zur Evaluation subendokardialer Schäden in einem experimentellen Kardiomyopathie-modell*. Vortrag, 40. Wissenschaftlicher Kongress der Deutschen Hochdruckliga e.V. DHL® Deutsche Gesellschaft für Hypertonie und Prävention, Berlin, Deutschland.

Beyhoff N., Grune J., Brix S., Klopfleisch R., Foryst-Ludwig A., Stawowy P., Knebel F., Kintscher U. (2016, Oktober). *Analysis of Global Longitudinal Strain in an Isoproterenol-Induced Cardiomyopathy Model*. Posterpräsentation, 20. Jahrestagung des European Council for Cardiovascular Research, Garda, Italien.

Beyhoff N., Grune J., Brix S., Smeir E., Klopfleisch R., Foryst-Ludwig A., Kintscher U. (2016, September). *Global Longitudinal Strain correlates with subendocardial fibrotic load in a murine cardiomyopathy model*. Posterpräsentation, 3. Young DZHK-Retreat und 4. DZHK-Retreat, Deutsches Zentrum für Herz-Kreislauf-Forschung e.V. (DZHK), Bad Aibling, Deutschland.

9 Danksagung

Zahlreichen Personen bin ich für das Gelingen dieser Arbeit zu tiefstem Dank verpflichtet:

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Ulrich Kintscher für die exzellente Betreuung der Dissertation und den eingeräumten Freiraum bei der Mitgestaltung des spannenden Themas.

Frau PD Dr. Anna Foryst-Ludwig für die umsorgende Betreuung und ihr immer offenes Ohr.

Frau Dr. Jana Grune für fortwährenden Ansporn und die Stunden der konstruktiven Diskussion.

Frau Dr. Sarah Brix für das gemeinsame Durchstehen des Tierversuches.

Frau Iris Betz für ihren großen Anteil am Erfolg der revidierten Manuskriptfassungen.

Frau Annelie Blumrich für das gewissenhafte Korrekturlesen von fünf Manuskriptversionen.

Allen übrigen Mitstreiterinnen und Mitstreitern aus dem Doktorandenraum, namentlich Zsofia Ban, Remigiusz Chudek, Daniel Ritter, Elia Smeir, Arne Thiele und Sarah Julia Qaiyumi, für das freundschaftliche und kollegiale Miteinander.

Beata Höft und Christiane Sprang für die Einarbeitung in diverse Methoden und ihre tatkräftige Unterstützung während der Versuche.

Herrn Prof. Dr. Robert Klopffleisch für die Durchführung der histologischen Färbungen und das große Engagement während der Manuskriptrevisionen.

Herrn Prof. Dr. Fabian Knebel für die Stärkung der klinischen Perspektive der Arbeit.

Meiner Familie und meinen Freunden für ihre Unterstützung, Ermutigung und Geduld.