

### **3. Ergebnisse**

Das folgende Kapitel präsentiert die Ergebnisse der vorliegenden Studie, welche anhand der beschriebenen Testverfahren statistisch abgesichert wurden. Dabei ist zu beachten, dass vor Anwendung solcher statistischer Testmethoden eine Überprüfung der relevanten Voraussetzungen obligat ist. Für die vorliegende Studie zeigte sich, dass die Verteilung der beobachteten Werte den geforderten Voraussetzungen genügte und somit eine Anwendung der genannten statistischen Tests zulässig war.

Zunächst werden die Resultate der Vorstudie vorgelegt, um dann die Ergebnisse der Hauptstudie vorzustellen.

#### **3.1 Ergebnisse der Vorstudie**

Nach einer Darstellung der Befunde zum Patientenkollektiv folgt die Vorstellung der Ergebnisse zum Stichprobenfehler.

##### **3.1.1 Das Patientenkollektiv der Vorstudie**

Zunächst wurde das Kollektiv der Vorstudie mit dem Kollektiv der Studie verglichen, um sicherzustellen, dass sich das Kollektiv, an dem der Sampling Error quantifiziert wurde, nicht wesentlich von dem Patientenkollektiv unterschied, an dem die Daten der Studie erhoben wurden. Dazu wurde auf die bereits erläuterten Parameter zurückgegriffen, die aus den Patientenakten und im Rahmen der invasiven Diagnostik erhoben wurden (s. 3.2).

Die Daten bezüglich der demographischen und anamnestischen Parameter sind in Tabelle 9 festgehalten.

**Tab. 9:** Vergleich der demographischen und anamnestischen Daten der Patienten der Vorstudie mit den Patienten der Studie.  $\bar{x} \pm SD$  (Range). \* t-Test, \*\*  $\chi^2$ -Test nach Pearson.

	Vorstudie (n=6)	Studie (n=24)	p
Alter, Jahre	55±15 (34-79)	46±14 (21-75)	n.s. *
Geschlecht w/m	2/4	9/15	n.s. **
Medikation			
ACE-Hemmer	4/6	22/24	n.s. **
Diuretikum	1/6	9/24	n.s. **
Digitalis	1/6	11/24	n.s. **
β-Blocker	3/6	16/24	n.s. **
Spironolacton	2/6	12/24	n.s. **
AT <sub>1</sub> -Blocker	0/6	0/24	×
Symptome			
Dauer, Wochen	21±19 (2-52)	100±126 (0,5-417)	n.s. *
Dyspnoe	4/6	19/24	n.s. **
Palpitationen	2/6	11/24	n.s. **

Wie aus der Aufstellung ersichtlich unterscheiden sich die beiden Kollektive bezüglich demographischer und anamnestischer Parameter nicht signifikant von einander. Es sei betont, dass auch hinsichtlich der Pharmakotherapie keine signifikante Differenz festgestellt werden konnte.

Der Vergleich der hämodynamischen Parameter sowie der Daten aus der Echokardiographie und der Elektrokardiographie konnte ebenfalls keine signifikante Abweichung ermitteln, wie Tabelle 10 zeigt.

**Tab. 10:** Vergleich funktionell und morphologischer Daten der Patienten der Vorstudie mit den Patienten der Studie.  $\bar{x} \pm SD$  (Range). \* t-Test, \*\*  $\chi^2$ -Test nach Pearson.

	Vorstudie (n=6)	Studie (n=24)	p
<b>Hämodynamische Parameter</b>			
EF, %	60±8 (60-75)	47±20 (15-76)	n.s. *
HZV, l/min	6,8±1,2 (5,1-8,7)	6,5±2,4 (3,3-14,9)	n.s. *
CI, l/min/m <sup>2</sup> BSA	3,4±0,7 (2,3-4,3)	3,4±1,1 (1,8-6,8)	n.s. *
SVI, ml/m <sup>2</sup> BSA	52±18 (29-71)	50±14 (21-78)	n.s. *
LVEDP, mmHg	12±4 (7-18)	8±6 (2-24)	n.s. *
PCWP, mmHg	8±4 (4-13)	8±6 (2-29)	n.s. *
<b>Echo</b>			
FS,%	32±5 (25-44) bei 7/9	27±11(8-44)	n.s. *
LVEDD, mm	55±4 (50-61)	60±12 (41-97)	n.s. *
<b>EKG</b>			
Vorhofflimmern	1/6	4/24	n.s. **
VES	3/6	12/24	n.s. **
Schenkelblock	0/6	6/24	n.s. **
ST-Veränderungen	3/6	9/24	n.s. **

Ebenso wurden die histologischen, immunhistologischen und molekularbiologischen Daten der beiden Kollektive miteinander verglichen. Zwar war ein Virusnachweis bei den Patienten der Vorstudie häufiger möglich, allerdings zeigte sich bezüglich der Fibrose, der Aktivität und der zellulär entzündlichen Infiltration kein signifikanter Unterschied. Die nachfolgende Tabelle 11 präsentiert die Daten im Einzelnen.

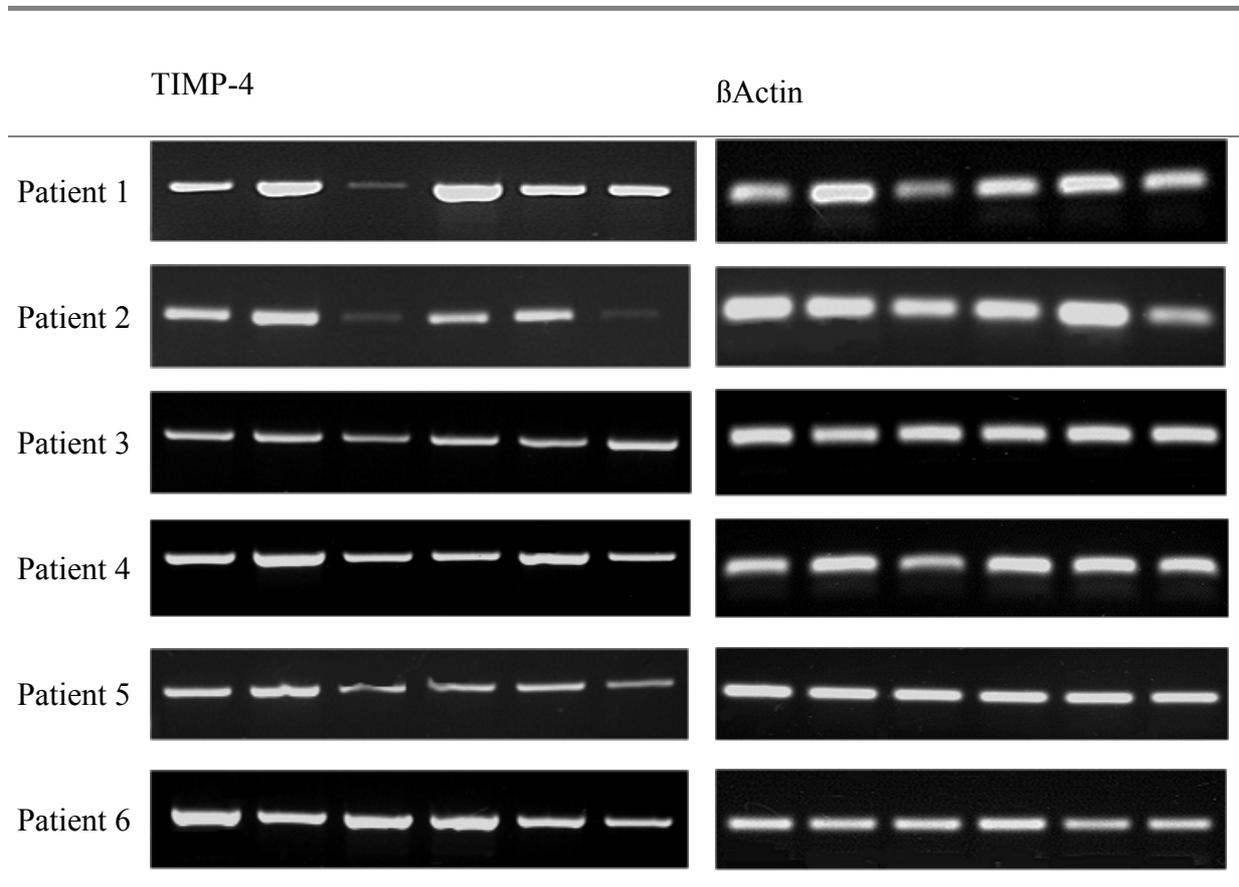
**Tab 11:** Vergleich histologischer, immunhistologischer und molekularbiologischer Daten der Patienten der Vorstudie mit den Patienten der Studie.  $\bar{x} \pm SD$  (Range). \* t-Test, \*\*  $\chi^2$ -Test nach Pearson.

	Vorstudie (n=6)	Studie (n=24)	p
<b>Histologie</b>			
Fibrose	1±0,63 (0-2)	1,04±0,82 (0-3)	n.s. *
Aktivität	0/6	0/24	×
<b>Immunhistologie</b>			
CD3 Lymphozyten/HPF	1,0±0,434 (0,4-1,6)	1,450±1,991 (0,1-10,0)	n.s. *
CD4 Lymphozyten/HPF	0,383±0,293 (0,1-0,9)	0,808±1,053 (0,0-4,7)	n.s. *
CD8 Lymphozyten/HPF	0,683±0,397 (0,2-1,2)	0,596±0,820 (0,0-3,3)	n.s. *
HLA1 Expression/HPF	1,083±0,204 (1,0-1,5)	1,188±0,288 (1,0-2,0)	n.s. *
HLA-DR Expression/HPF	1,083±0,204 (1,0-1,5)	1,063±0,169 (1,0-1,5)	n.s. *
Aktivierte Makrophagen/HPF	1,167±0,273 (0,7-1,4)	1,051±0,797 (0,1-3,3)	n.s. *
Virusnachweis	4/6	3/24	0,005**

### 3.1.2 Der Stichprobenfehler

Im Folgenden werden die Ergebnisse der Vorstudie zur Bestimmung des Sampling Errors präsentiert. Zur Quantifizierung des Stichprobenfehlers wurde zunächst die mRNA Menge von TIMP-4 und  $\beta$ Actin der sechs Gewebeproben pro Patient nach dem bereits erläuterten Protokoll (s. 2.3) bestimmt. Folgende Übersicht (Tabelle 12) zeigt tabellarisch die mit dem Scion-Image Programm digitalisierten Agarosegele zur Messung der mRNA Menge von TIMP-4 und  $\beta$ Actin der in die Vorstudie eingeschlossenen Patienten (n=6).

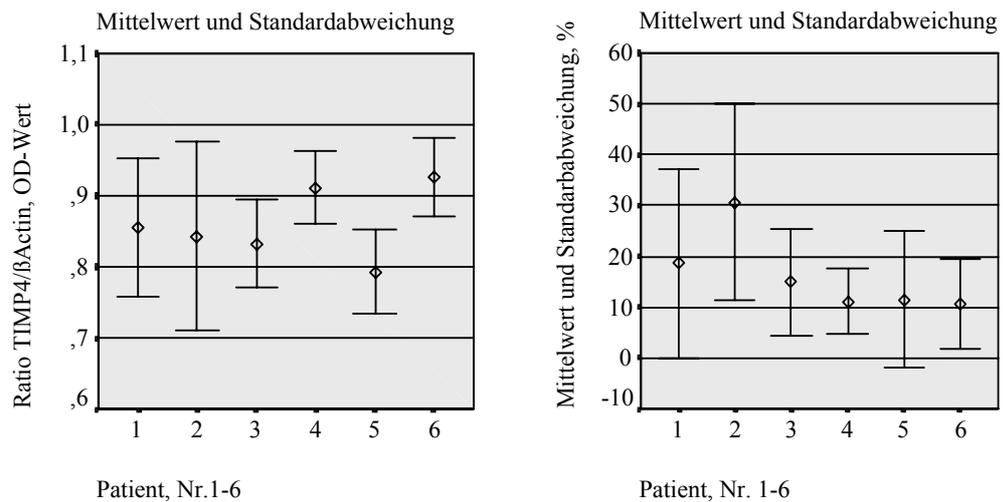
**Tab. 12:** Digitalisierte Agarosegele zur Darstellung der PCR-Ergebnisse für TIMP-4 und  $\beta$ Actin der in die Vorstudie eingeschlossenen Patienten.



Die Stärke der Signale konnte nach Digitalisierung mittels des UV-Transilluminators mit dem Scion-Image-Programm in OD-Werte transformiert werden. Die OD-Werte für TIMP-4 wurden an den zugehörigen OD-Werten für  $\beta$ Actin relativiert. Zur Auswertung des Sampling Errors wurde die Ratio TIMP-4/ $\beta$ Actin aller sechs Gewebeproben pro Patient berechnet. Hieraus konnten der Mittelwert und die Standardabweichung pro Patient bestimmt werden.

Um die Streuung der Werte um den Mittelwert zu veranschaulichen wurde die prozentuale Abweichung der einzelnen Werte von ihrem Mittelwert berechnet und als mittlere prozentuale Abweichung quantifiziert. Die Streuung wurde wieder als Standardabweichung angegeben, wobei die Werte in Prozent angegeben wurden.

Die mittlere prozentuale Abweichung streute bei den in die Vorstudie eingeschlossenen Patienten von 10,60% bis 30,64% mit einem Range von 0,76% bis 48,53%. Die über alle sechs Patienten gemittelte prozentuale Abweichung lag bei 16,19% und wies eine Standardabweichung von 14,46% auf.



**Abb. 6:** Darstellung der Streuung um den Mittelwert der Ratio TIMP-4/βActin und der Streuung um die mittlere prozentuale Abweichung pro Patient der Vorstudie.

## **3.2 Ergebnisse der Studie**

Nach Präsentation der Ergebnisse zum Patientenkollektiv werden die Resultate der PCR-Ergebnisse dargelegt.

### **3.2.1 Darstellung des Patientenkollektivs**

Die einzelnen Patientenkollektive konnten anhand der demographischen und anamnestischen Daten sowie anhand der im Rahmen der invasiven Diagnostik erhobenen Parameter charakterisiert werden. Im Folgenden soll nun zunächst die Kontrollgruppe dem Kollektiv der dilatativen Kardiomyopathie gegenübergestellt werden, um anschließend die idiopathische DCM mit der inflammatorischen DCM zu vergleichen.

#### **3.2.1.1 Vergleich der Patientenkollektive von KG und DCM**

Zuerst wurden die demographischen und anamnestischen Daten analysiert. Hier konnte weder ein signifikanter Unterschied in der Altersverteilung noch in der Geschlechteraufteilung auf die Gruppen festgestellt werden. Die Pharmakotherapie unterschied sich signifikant bezüglich der Medikation mit Diuretika ( $p=0.039$ ), Digitalis ( $p<0.001$ ),  $\beta$ -Blockern ( $p=0.007$ ) und Spironolacton ( $p=0.003$ ). Die Therapie mittels ACE-Hemmern ( $p=0.057$ ) konnte lediglich als im Trend unterschiedlich betrachtet werden. Hinsichtlich der Symptomatik wurde ein signifikant häufigeres Auftreten von Dyspnoe ( $p=0.027$ ) als Zeichen der Herzinsuffizienz verzeichnet werden. Die Dauer der Symptome und das Auftreten von Palpitationen zeigten keinen signifikanten Unterschied.

**Tab. 13:** Gegenüberstellung der demographischen und anamnestischen Parameter von KG und DCM.  $\bar{x} \pm SD$  (Range). \* t-Test, \*\*  $\chi^2$ -Test nach Pearson.

	KG (n=9)	DCM (n=15)	p
Alter, Jahre	44±18 (21-69)	47±12 (33-75)	n.s.*
Geschlecht w/m	4/5	5/10	n.s.**
Medikation			
ACE-Hemmer	7/9	15/15	0.057**
Diuretikum	1/9	8/15	0.039**
Digitalis	0/9	11/15	0.000**
β-Blocker	3/9	13/15	0.007**
Spirolacton	1/9	11/15	0.003**
AT <sub>1</sub> -Blocker	0/9	0/15	×
Symptome			
Dauer, Wochen	76±134 (0,5-417)	115±123 (1,5-365)	n.s.**
Dyspnoe	5/9	14/15	0.027**
Palpitationen	3/9	8/15	n.s.**

Anschließend wurden die hämodynamischen und funktionellen Parameter des Kollektivs analysiert. Die EF bestimmt im Rahmen der Linksherzkatheteruntersuchung erwies sich in der Gruppe DCM mit einer EF von 33±12 % als signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe mit einer EF von 69±5 % ( $p < 0.001$ ). Alle anderen hämodynamischen Parameter wie HZV, CI, SVI, LVEDP und PCWP unterschieden sich nicht signifikant zwischen den Gruppen. Die Daten aus der RNV ließen eine signifikante Zunahme des LVEDV (331±76ml vs. 182±24ml) mit  $p = 0.001$  als auch eine signifikante Abnahme der EF (27±12% vs. 59±12%) mit  $p < 0.001$  in der Gruppe DCM im Vergleich zur Kontrollgruppe bestimmen. Ebenso konnte in der Echokardiographie ein signifikant erniedrigtes FS in der Gruppe DCM (22±9% vs. 36±7%) mit  $p = 0.001$  und ein signifikant erhöhter LVEDD (66±11mm vs. 50±5mm) mit  $p < 0.001$  im Vergleich zur Kontrollgruppe berechnet werden. Im EKG fanden sich mit  $p = 0.028$  signifikant häufiger Schenkelblöcken in der Gruppe DCM als in der Kontrollgruppe (6/15 vs. 0/9). Das

Auftreten von Vorhofflimmern konnte mit  $p=0.09$  lediglich im Trend häufiger bei Patient mit einer DCM diagnostiziert werden (4/15 vs. 0/9). Bezüglich ventrikulären Extrasystolen und ST-Strecken Veränderungen zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen.

**Tab. 14:** Gegenüberstellung der hämodynamischen, funktionellen und morphologischen Parameter von KG und DCM.  $\bar{x} \pm SD$  (Range). \* t-Test, \*\*  $\chi^2$ -Test nach Pearson.

	KG (n=9)	DCM (n=15)	p
<b>Hämodynamische Parameter</b>			
EF, %	69±5 (61-76)	33±12 (15-49)	0.000*
HZV, l/min	6,0±1,5 (4,2-8,6)	6,8±2,9 (3,3-15)	n.s.*
CI, l/min/m <sup>2</sup> BSA	3,4±0,9 (2,4-4,6)	3,4±1,2 (1,8-6,7)	n.s.*
SVI, ml/m <sup>2</sup> BSA	49±14 (29-74)	51±15 (21-78)	n.s.*
LVEDP, mmHg	7±3 (4-13)	10±7 (2-24)	n.s.*
PCWP, mmHg	6±3 (3-10)	9±7 (2-29)	n.s.*
<b>RNV</b>			
LVEDV, ml	182±24 (147-197)	331±76 (234-465)	0.001*
EF, %	59±12 (48-76) bei 5/9	27±12 (11-46)	0.000*
<b>Echo</b>			
FS,%	36±7 (25-44) bei 7/9	22±9 (8-34)	0.001*
LVEDD, mm	50±5 (41-57)	66±11 (53-97)	0.000*
<b>EKG</b>			
Vorhofflimmern	0/9	4/15	0.09**
VES	3/9	9/15	n.s.**
Schenkelblock	0/9	6/15	0.028**
ST-Veränderungen	5/9	4/15	n.s.**

Die Gegenüberstellung der Kollektive schließt mit der Analyse der Daten der endomyokardialen Gewebeprobe. Histologisch ließ sich eine signifikante Zunahme der Fibrose in der Gruppe DCM feststellen ( $0,6 \pm 0,7$  vs.  $1,36 \pm 0,74$ ;  $p=0.019$ ). Bei keiner der eingeschlossenen Patienten konnte eine aktive Myokarditis oder eine Borderline-Myokarditis nach den Dallas-Kriterien diagnostiziert werden. Immunhistologisch konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden. Auch der molekularbiologische Nachweis von Virus im endomyokardialen Gewebe zeigte keinen Unterschied zwischen den Gruppen.

**Tab. 15:** Gegenüberstellung der histologischen, immunhistologischen und molekularbiologischen Parameter von KG und DCM.  $\bar{x} \pm SD$  (Range). \* t-Test, \*\*  $\chi^2$ -Test nach Pearson.

	KG (n=9)	DCM (n=15)	p
<b>Histologie</b>			
Fibrose	$0,6 \pm 0,7$ (0-2)	$1,36 \pm 0,74$ (0-3)	0.019*
Aktivität	0/9	0/15	×
<b>Immunhistologie</b>			
CD3 Lymphozyten/HPF	$0,756 \pm 0,546$ (0,1-1,8)	$1,867 \pm 2,429$ (0,2-10,0)	n.s.*
CD4 Lymphozyten/HPF	$0,478 \pm 0,696$ (0,0-2,2)	$1,007 \pm 1,197$ (0,1-4,7)	n.s.*
CD8 Lymphozyten/HPF	$0,332 \pm 0,509$ (0,0-1,5)	$0,760 \pm 0,983$ (0,0-3,3)	n.s.*
HLA1 Expression/HPF	$1,056 \pm 0,167$ (1,0-1,5)	$1,267 \pm 0,320$ (1,0-2,0)	n.s.*
HLA-DR Expression/HPF	$1,0 \pm 0$	$1,1 \pm 0,207$ (1,0-1,5)	n.s.*
Aktivierte Makrophagen/HPF	$1,133 \pm 0,815$ (0,3-2,5)	$1,0 \pm 0,810$ (0,1-3,3)	n.s.*
Virusnachweis	1/9	1/15	n.s.**

### 3.2.1.2 Vergleich der Patientenkollektive idDCM und infDCM

Das Gesamtkollektiv DCM konnte in Abhängigkeit von der inflammatorischen zellulären Infiltration an CD3 positiven T-Lymphozyten in die Untergruppen idDCM und infDCM unterteilt werden, welche nach den gleichen Kriterien charakterisiert und einander gegenüber gestellt wurden. Die Altersverteilung und die Geschlechteraufteilung wiesen keinen signifikanten Unterschied zwischen den Gruppen auf. Auch bezüglich der Medikation und der Symptome konnte, wie die folgende Tabelle veranschaulicht, keine relevante Differenz festgestellt werden.

**Tab. 16:** Gegenüberstellung der demographischen und anamnestischen Parameter von idDCM und infDCM.  $\bar{x} \pm SD$  (Range). \* t-Test, \*\*  $\chi^2$ -Test nach Pearson.

	idDCM (n=8)	infDCM (n=7)	p
Alter, Jahre	48±14 (34-75)	46±10 (33-59)	n.s. *
Geschlecht w/m	4/4	1/6	n.s. **
Medikation			
ACE-Hemmer	8/8	7/7	×
Diuretikum	5/8	3/7	n.s. **
Digitalis	7/8	4/7	n.s. **
β-Blocker	8/8	5/7	n.s. **
Spirolacton	7/8	4/7	n.s. **
AT <sub>1</sub> -Blocker	0/8	0/7	×
Symptome			
Dauer, Wochen	108±123 (1.5-365)	121±133(26-360)	n.s. *
Dyspnoe	7/8	7/7	n.s. **
Palpitationen	5/8	3/7	n.s. **

Alle Daten, die im Rahmen der Herzkatheteruntersuchung, der Radionuklidventrikulographie und der Echokardiographie erhoben wurde, konnten keinen signifikanten Unterschied

zwischen den Gruppen idDCM und infDCM abbilden. Lediglich in der Elektrokardiographie traten in der Gruppe infDCM signifikant mehr Schenkelblöcke auf (5/7 vs. 1/8;  $p=0.020$ ), wohingegen ST-Veränderungen signifikant häufiger in der Gruppe idDCM zu verzeichnen waren (4/8 vs. 0/7;  $p=0.029$ ).

**Tab. 17:** Gegenüberstellung der hämodynamischen, funktionellen und morphologischen Parameter von idDCM und infDCM.  $\bar{x} \pm SD$  (Range). \* t-Test, \*\*  $\chi^2$ -Test nach Pearson.

	idDCM (n=8)	infDCM (n=7)	p
<b>Hämodynamische Parameter</b>			
EF, %	31±12 (15-46)	35±11 (24-49)	n.s.*
HZV, l/min	6,8±3,7 (3,3-15)	6,9±1,6 (4,5-8,8)	n.s.*
CI, l/min/m <sup>2</sup> BSA	3,4±1,6 (1,8-6,8)	3,5±0,8 (2,3-4,4)	n.s.*
SVI, ml/m <sup>2</sup> BSA	49±17 (21-78)	53±13 (33-66)	n.s.*
LVEDP, mmHg	11±9 (2-24)	8±5 (2-15)	n.s.*
PCWP, mmHg	12±8 (2-29)	7±4 (2-13)	n.s.*
<b>RNV</b>			
LVEDV, ml	354±86 (234-465)	317±56 (275-381)	n.s.*
EF, %	27±14 (11-46)	27±7 (22-38)	n.s.*
<b>Echo</b>			
FS,%	22±11 (8-34)	22±6 (13-30)	n.s.*
LVEDD, mm	66±8 (58-78)	67±16 (53-97)	n.s.*
<b>EKG</b>			
Vorhofflimmern	1/8	3/7	n.s.**
VES	6/8	3/7	n.s.**
Schenkelblock	1/8	5/7	0,020**
ST-Veränderungen	4/8	0/7	0,029**

Histologisch konnte auch bezüglich der Ausprägung der Fibrose kein Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden. Wie bereits erwähnt konnte in der gesamten Gruppe DCM weder eine akute Myokarditis noch eine Borderline-Myokarditis diagnostiziert werden. Immunhistologisch zeichneten sich hingegen bedeutsame Differenzen zwischen den Gruppen ab. Die Anzahl an CD3, CD4 und CD8 T-Lymphozyten pro HPF war in der Gruppe infDCM im Vergleich zu idDCM signifikant erhöht (3,400±2,921 vs. 0,525±0,276 mit p=0.040; 1,714±1,447 vs. 0,388±0,360 mit p=0.026; 1,414±1,037 vs. 0,188±0,189 mit p= 0.006). Auch die HLA1- und die HLA-DR Expression pro HPF waren in der Gruppe infDCM signifikant stärker als in der Gruppe idDCM (1,571 vs. 1,0 mit p<0.001; 1,214 vs. 1,0 mit p=0.040). Lediglich die Anzahl der aktivierten Makrophagen pro HPF zeigte keinen bedeutsamen Unterschied zwischen den Gruppen. Der molekularbiologisch bestimmte Nachweis von persistierendem Virusgenom differierte zwischen den Gruppen ebenfalls nicht signifikant.

**Tab. 18:** Gegenüberstellung der histologischen, immunhistologischen und molekularbiologischen Parameter von idDCM und infDCM.  $\bar{x} \pm SD$  (Range).  
\* t-Test, \*\*  $\chi^2$ -Test nach Pearson.

	idDCM (n=8)	infDCM (n=7)	p
<b>Histologie</b>			
Fibrose	1,29±0,95 (0-3)	1,43±0,53(1-2)	n.s. *
Aktivität	0/8	0/7	
<b>Immunhistologie</b>			
CD3 Lymphozyten/HPF	0,525±0,276 (0,2-1,0)	3,400±2,921 (2,0-10)	0.040*
CD4 Lymphozyten/HPF	0,388±0,360 (0,1-1,1)	1,714±1,447 (0,6-4,7)	0.026*
CD8 Lymphozyten/HPF	0,188±0,189 (0,0-0,5)	1,414±1,037 (0,4-3,3)	0.006*
HLA1 Expression/HPF	1,0 ±0	1,571±0,190 (1,5-2,0)	<0.001*
HLA-DR Expression/HPF	1,0 ±0	1,214±0,267 (1,0-1,5)	0.040*
Aktivierte Makrophagen/HPF	0,687±0,485 (0,1-1,4)	1,357±0,988 (0,4-3,3)	n.s. *
Virusnachweis	1/8	0/7	n.s. **

### 3.2.2 Darstellung der PCR-Ergebnisse

Die Ergebnisse der PCR wurden in einem Agarosegel aufgetrennt und über einen UV-Transilluminator digitalisiert. Hier werden zunächst die Ergebnisse der PCR nach Digitalisierung demonstriert. Jede Tabelle fasst die Ergebnisse für eine Gruppe zusammen und zeigt die erhobenen Signale für  $\beta$ Actin, TIMP-4 und MMP-3 pro Patient.

**Tab. 19:** Darstellung der PCR Ergebnisse für  $\beta$ Actin, TIMP-4 und MMP-3 pro Patient der Kontrollgruppe.

Gruppe	KG								
Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	9
$\beta$ Actin									
TIMP-4									
MMP-3									

**Tab. 20:** Darstellung der PCR Ergebnisse für  $\beta$ Actin, TIMP-4 und MMP-3 pro Patient der Gruppe idDCM und infDCM.

Gruppe	idDCM								infDCM						
Patient	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7
$\beta$ Actin															
TIMP-4															
MMP-3															

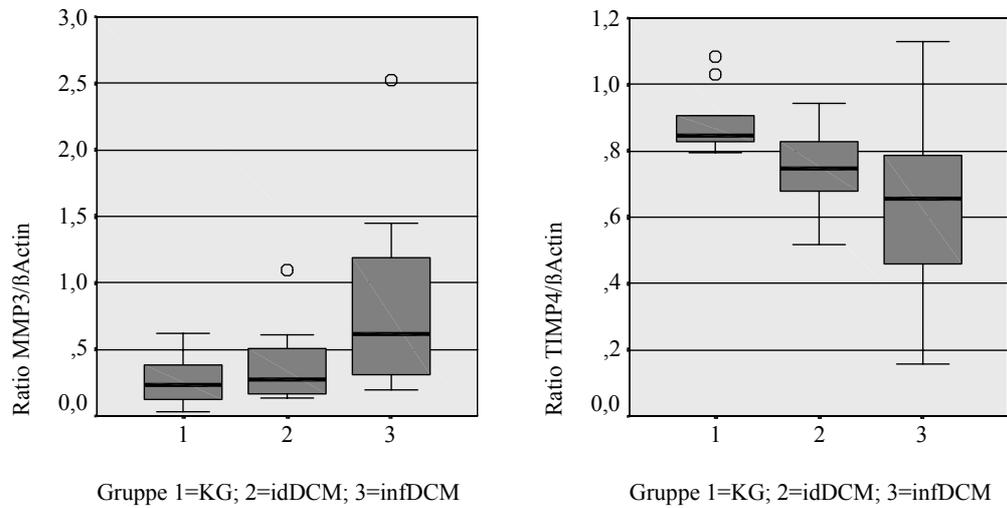
Nach Digitalisierung wurde die Stärke der Signale mit dem Scion-Image-Programm in OD-Werte transformiert. Mit diesem numerischen Zahlenwert war dann eine explorative und statistische Datenanalyse möglich. Die OD-Werte für TIMP-4 und MMP-3 wurden an dem jeweiligen OD-Wert von  $\beta$ Actin relativiert. Die gesamte Datenanalyse von MMP-3 und TIMP-4 bezieht sich demnach auf relative Werte.

### **3.2.1.1 Explorative Datenanalyse**

Die explorative Datenanalyse soll die Verteilung der Kennwerte von der an der  $\beta$ Actin mRNA Menge relativierten mRNA Menge von MMP-3 und TIMP-4 charakterisieren. Hierfür wurde auf Maße der zentralen Tendenz wie Median und Mittelwert und auf Dispersionsmaße wie Range und Standardfehler (SE) zurückgegriffen.

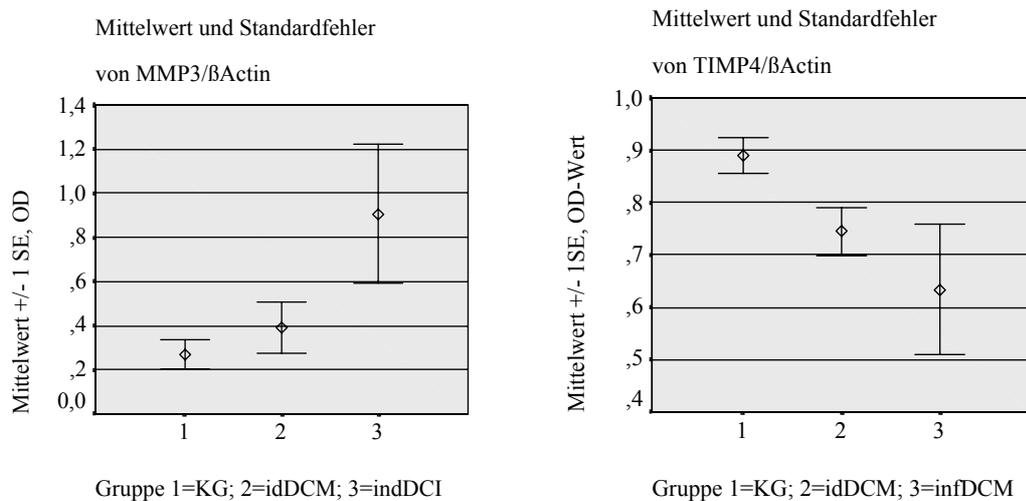
Die Darstellung der Verteilungsparameter soll zunächst anhand von Boxplots veranschaulicht werden. Der Median für die Ratio MMP-3/ $\beta$ Actin berechnete sich auf 0,235 mit einem Range von 0,033 bis 0,624 für die Kontrollgruppe, auf 0,273 mit einem Range von 0,134 bis 1,100 für die Gruppe idDCM und 0,620 mit einem Range von 0,197 bis 2,522 für die Gruppe infDCM. Ein Ausreißer musste sowohl in der Gruppe idDCM als auch in der Gruppe infDCM festgestellt werden. Für die Ratio TIMP-4/ $\beta$ Actin konnten folgende Verteilungsparameter berechnet werden. In der Kontrollgruppe lag der Median bei 0,846 mit einem Range von 0,794 bis 1,085. Der Median der Gruppe idDCM betrug 0,746 mit einem Range von 0,517 bis 0,945. In der Gruppe infDCM ergab sich ein Median von 0,655 und ein Range von 0,155 bis 1,130. In der Kontrollgruppe waren 2 Ausreißer zu verzeichnen.

Der Mittelwert der Ratio MMP-3/ $\beta$ Actin als weiteres Maß der zentralen Tendenz nahm von 0,269 in der Kontrollgruppe über 0,391 in der Gruppe idDCM bis zu 0,907 in der Gruppe infDCM zu. Gleichzeitig reduzierte sich die Ratio TIMP-4/ $\beta$ Actin von 0,890 in der Kontrollgruppe über 0,745 in der Gruppe idDCM bis auf 0,634 in der Gruppe infDCM.



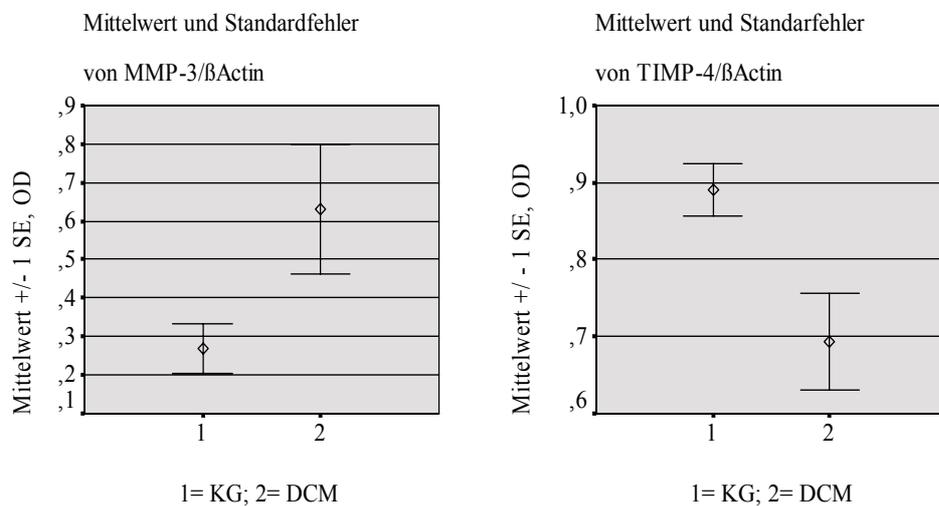
**Abb.7:** Boxplots von MMP-3/βActin und TIMP-4/βActin pro Gruppe. ° entspricht einem Ausreißer.

Der Standardfehler als Streuungsmaß bewegte sich für die Ratio MMP-3/βActin zwischen 0,066 für die Kontrollgruppe, 0,156 für die Gruppe idDCM und 0,728 für die Gruppe infDCM. Für die Ratio TIMP-4/βActin lag der Standardfehler bei 0,034 für die Kontrollgruppe, bei 0,046 für die Gruppe idDCM und bei 1,241 für die Gruppe infDCM.



**Abb. 8:** Darstellung von Mittelwert und Standardfehler von MMP-3/βActin und TIMP-4/βActin pro Gruppe.

Die Verteilung der beobachteten Werte soll für die Gruppe DCM bestehend aus der Gruppe idDCM und der Gruppe infDCM ebenfalls anhand der eingeführten Parameter beschrieben werden. Für die Ratio MMP-3/ $\beta$ Actin lag der Median bei 0,342, der Range reichte von 0,133 bis 2,522. Als Mittelwert konnte 0,632 und ein Standardfehler von 0,168 berechnet werden. Für die Ratio TIMP-4/ $\beta$ Actin wurde ein Median von 0,704, ein Range von 0,155 bis 1,130, ein Mittelwert von 0,693 und ein Standardfehler von 0,241 erhoben. Folgende Abbildung zeigt die Verteilung für die Gruppe DCM im Vergleich zur Kontrollgruppe.



**Abb. 9:** Darstellung von Mittelwert und Standardfehler von MMP-3/ $\beta$ Actin und TIMP-4/ $\beta$ Actin der Kontrollgruppe und der Gruppe DCM.

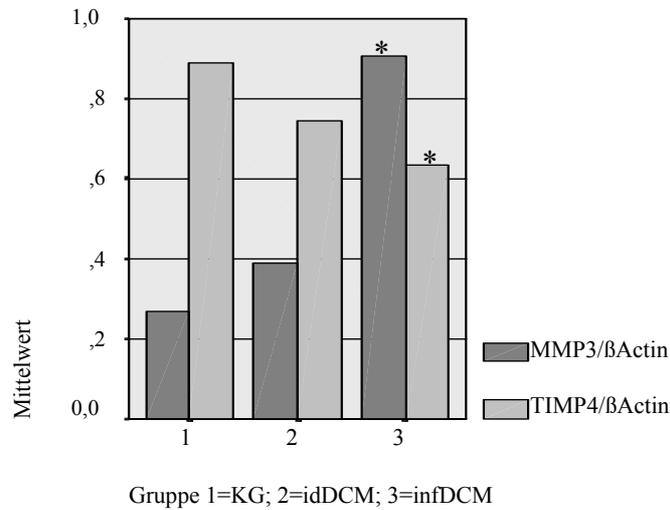
### 3.2.1.2 Statistische Datenanalyse

#### 3.2.1.2.1 Gruppenunterschiede

Zur zufallskritischen Absicherung der Gruppenunterschiede wurde über die Verteilung der abhängigen Variablen, also der Ratio MMP-3/ $\beta$ Actin und der Ratio TIMP-4/ $\beta$ Actin, eine MANOVA Prozedur gerechnet. Die overall Signifikanz der MANOVA lag je nach Kenngröße nach der größten charakteristischen Wurzel nach Roy bei  $p=0.032$ , für Pillai-Spur bei  $p=0.087$ , für Wilks-Lambda bei  $p=0.088$  und für Hotelling-Spur bei  $p=0.091$ . Dieses zum Teil signifikante bzw. statistisch bedeutsame Ergebnis der MANOVA Prozedur besagt lediglich, dass zwischen den drei Gruppen – Kontrollgruppe, idDCM und infDCM – bezogen auf die beiden abhängigen Variablen – der Ratio MMP-3/ $\beta$ Actin und der Ratio TIMP-4/ $\beta$ Actin – ein irgendwie gearteter signifikanter Unterschied bestand. Zur genaueren Analyse dieser Gesamtsignifikanz wird im Rahmen der MANOVA Prozedur automatisch der Einfluss der unabhängigen Variablen auf jede abhängige Variable für sich berechnet. Hierfür wird auf die ANOVA Prozedur zurückgegriffen. Die abhängigen Variablen werden somit getrennt analysiert.

Im Anschluss an den MANOVA Test wurden die Zwischensubjekteffekte bewertet. Dabei zeigte sich, dass die unabhängige Variable der Gruppenzuteilung einen signifikanten Einfluss auf die MMP-3/ $\beta$ Actin Menge hatte ( $p=0.050$ ). Dieser Gruppenunterschied konnte durch Berechnung von Einzelvergleichen zwischen den Gruppen spezifiziert werden. Der LSD Test konnte einen signifikante Zunahme der mRNA Menge von MMP-3 in der Gruppe infDCM im Vergleich zur Kontrollgruppe feststellen ( $p=0.019$ ). Die Zunahme der mRNA Menge von MMP-3 in der Gruppe infDCM im Vergleich zur Gruppe idDCM konnte sich im Trend nachweisen lassen ( $p=0.059$ ). Weitere signifikante Gruppenvergleiche lagen nicht vor.

Der Einfluss der Gruppenzuteilung auf die TIMP-4/ $\beta$ Actin Menge verfehlte nur knapp die Signifikanzgrenze und ließ sich im Trend nachweisen ( $p=0.057$ ). Die Einzelvergleiche zwischen den Gruppen zeigten eine signifikante Abnahme der mRNA Menge von TIMP-4/ $\beta$ Actin in der Gruppe infDCM bezogen auf die Kontrollgruppe ( $p=0.019$ ). Weitere signifikante Gruppenvergleiche konnten nicht erhoben werden.



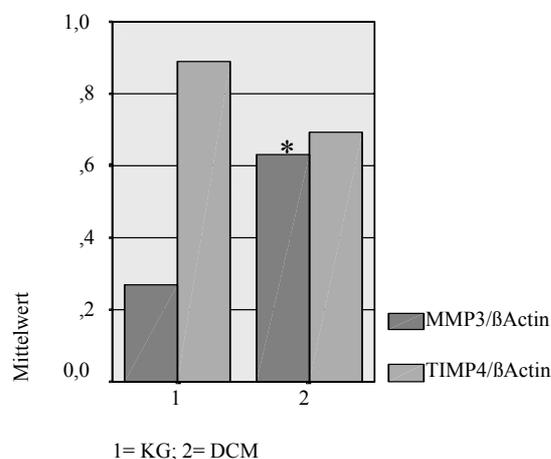
**Abb. 10:** Darstellung der Mittelwerte von MMP- und TIMP-4 pro Gruppe. \*  $p < 0,05$  im Vergleich zur Kontrolle (MANOVA, ANOVA, LSD-Test).

Die overall Signifikanz aus der MANOVA Prozedur basiert demnach auf Gruppenunterschieden beider abhängiger Variablen. Die Analyse der Einzelvergleiche konnte hier eine signifikante Zunahme der MMP-3 mRNA Menge gekoppelt mit einer signifikanten Abnahme der TIMP-4 mRNA Menge in der Gruppe infDCM im Vergleich zur Kontrollgruppe als für die Gesamtsignifikanz bedeutsame Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen.

**Tab. 21:** Übersicht der verwendeten Tests mit Darstellung der unabhängigen Variable (Gruppe), der abhängigen Variable (MMP-3, TIMP-4) und der berechneten Signifikanz p.

Test	Gruppe	Abhängige Variable	p
MANOVA	KG vs. idDCM vs. infDCM	MMP-3/βActin, TIMP-4/βActin	0.032
ANOVA	KG vs. idDCM vs. infDCM	MMP-3/βActin	0.050
LSD	KG vs. infDCM	MMP-3/βActin	0.019
LSD	idDCM vs. infDCM	MMP-3/βActin	0.059
ANOVA	KG vs. idDCM vs. infDCM	TIMP-4/βActin	0.057
LSD	KG vs. infDCM	TIMP-4/βActin	0.019

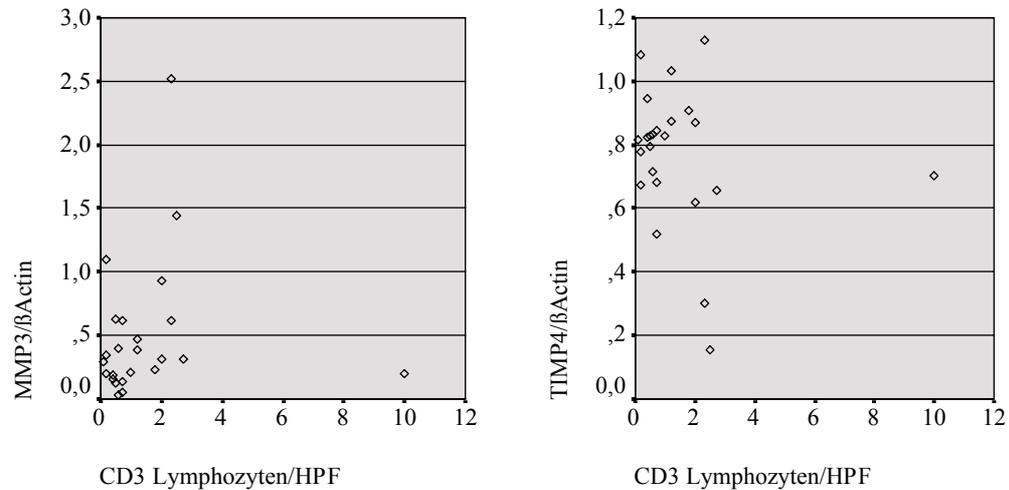
Um den Einfluss der Ejektionsfraktion auf die abhängigen Variablen zufallskritisch abzusichern, wurden die Mittelwerte von MMP-3 und TIMP-4 der Kontrollgruppe mit der Gruppe DCM, die aus den Gruppen infDCM und idDCM bestand, mittels t-Test verglichen. Dabei zeigte sich, dass sich die Kontrollgruppe und die Gruppe DCM in der mRNA Menge von MMP-3 statistisch signifikant ( $p=0.011$ ) und in der mRNA Menge von TIMP-4 statistisch bedeutsam ( $p=0.059$ ) unterschieden. Die folgende Graphik veranschaulicht den Mittelwertsvergleich.



**Abb. 11:** Darstellung der Mittelwerte von MMP-3 und TIMP-4 der Kontrollgruppe (KG) und der Gruppe DCM. \*  $p<0.05$  im Vergleich zur Kontrollgruppe (t-Test).

### 3.2.1.2.2 Korrelation

Der Einfluss der Entzündung ist durch die Gruppeneinteilung und den beschriebenen Einschlusskriterien zwar bereits berücksichtigt. Eine korrelationsstatistische Analyse soll allerdings die Relevanz der inflammatorischen Reaktion des Myokards genauer charakterisieren. Hierfür wird die mRNA Menge von MMP-3 und TIMP-4 in Abhängigkeit von der zellulären Infiltration des Myokards mit CD3 T-Lymphozyten zufallsstatistisch abgesichert. Zunächst soll ein Streudiagramm die Verteilung kennzeichnen.

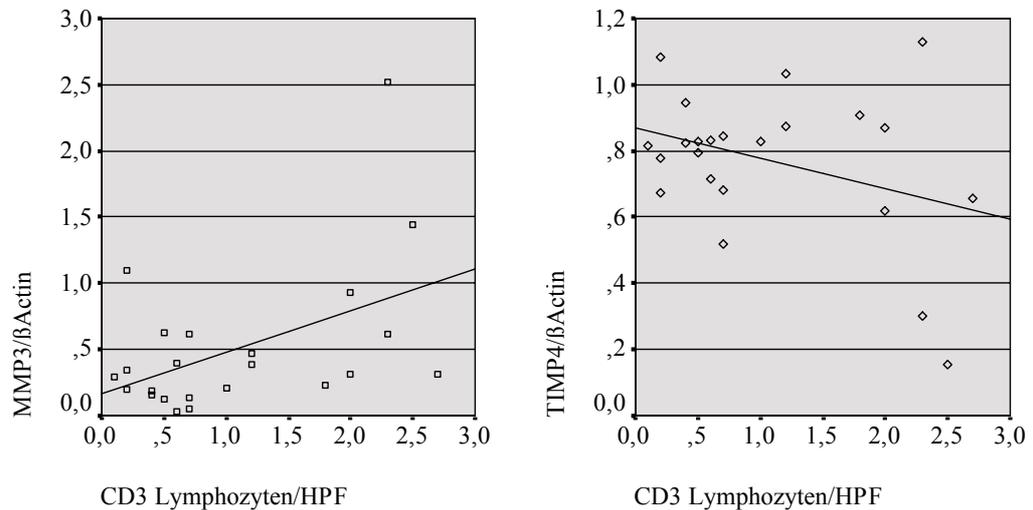


**Abb. 12:** Streuungsdiagramm von MMP-3 und TIMP-4 in Abhängigkeit der CD3 T-Lymphozyten/HPF.

Wie in der Graphik verdeutlicht, streut die zelluläre Infiltration mit CD3 T-Lymphozyten zwischen 0-3 Zellen/HPF. Bei einer einzigen Versuchsperson liegt die Infiltration mit 10 Zellen/HPF weit außerhalb des Ranges der Stichprobe und muss daher als Extremwert betrachtet werden, der einen möglichen Trend in den Daten verzerren und daher einen eventuell vorhandenen relevanten Zusammenhang verschleiern kann. Im Sinne eines maximalen Erkenntnisgewinns wurde in der weiteren Analyse der Korrelation dieser Extremwert nicht berücksichtigt. Zur Absicherung der Daten wurden alle bereits erwähnten statistischen Auswertungen unter Berücksichtigung des eliminierten Extremwertes nochmals berechnet. Hierbei zeigten sich die gleichen Ergebnisse. Daher ist eine Verfälschung der Ergebnisse in Hinblick auf die bereits geschilderten Aussagen durch Elimination dieses Extremwertes ausgeschlossen.

Zur Berechnung des korrelativen Zusammenhangs zwischen der zellulären Infiltration mit CD3 T-Lymphozyten und der mRNA Menge von MMP-3 bzw. TIMP-4, wurde eine bivariate Korrelation nach Pearson unter Annahme eines einseitigen Signifikanzniveaus berechnet. Die korrelative Beziehung zwischen den CD3 T-Lymphozyten/HPF und MMP-3 war mit  $r=0.474$  signifikant ( $p=0.011$ ). Mit steigender zellulärer inflammatorischer Reaktion des Myokards konnte demnach eine statistisch signifikante Zunahme der mRNA Menge von MMP-3

verzeichnet werden. Die quadrierte Korrelation lag bei  $r^2=0,225$ . Damit konnte die Infiltration des Myokards mit CD3 T-Lymphozyten 23% an der Gesamtvarianz von MMP-3 aufklären. Der Zusammenhang zwischen der zellulären Infiltration mit CD3 T-Lymphozyten/HPF und der mRNA Menge an TIMP-4 verfehlte nur knapp die Signifikanzgrenze und ließ sich mit  $p=0.052$  im Trend nachweisen. Der Korrelationskoeffizient lag bei  $r= -0.347$ . Demnach nahm mit steigender zellulären Inflammation des Myokards die mRNA Menge von TIMP-4 statistisch bedeutsam, wenn auch nicht signifikant ab. Die Aufklärung der Gesamtvarianz von TIMP-4 durch die Infiltration mit CD3 T-Lymphozyten betrug 12% ( $r^2= 0.120$ ).



**Abb. 13:** Darstellung der Regressionsgeraden für die Korrelation zwischen den CD3 T-Lymphozyten/HPF und MMP-3 ( $r=0.463$ ,  $p=0.013$ ) bzw. TIMP-4 ( $r= -0.337$ ,  $p=0.057$ ).