

### **3 Patienten und Material**

#### **3.1 Patienten**

In diese Arbeit wurden 1100 Patienten (männlich: 721, Durchschnittsalter:  $48,6 \pm 12,6$  Jahre; weiblich: 379, Durchschnittsalter:  $48,8 \pm 13,8$  Jahre) mit dem klinischen Verdacht einer Myokarditis oder dilatativen Kardiomyopathie aufgenommen. Beschwerdebild dieser Patienten waren ein Leistungsknick, Müdigkeit, atypische Brustschmerzen, Dyspnoe bei Anstrengung, Palpitationen, neu entstandene Herzrhythmusstörungen und Störungen der Kontraktilität. An den Patienten wurden folgende Untersuchungen durchgeführt: Echokardiographie (Zweidimensionale und M-Mode Echokardiographie u.a. zur Bestimmung des linksventrikulären enddiastolischen Durchmessers = LVEDD und des linksventrikulären endsystolischen Durchmessers = LVESD), Rechts- und Links-Herzkatheteruntersuchung (u.a. Bestimmung der Ejektionsfraktion = EF durch Röntgenvisualisation während der Kontrastmittelinjektion und Berechnung mittels einer kommerziellen Computer-Software Cardio 500, Kontron GmbH, München) mit Biopsie aus rechtsventrikulärem Septum, mit Koronarangiographie, mit Ventrikulographie, Blutentnahme zum Zeitpunkt der Herzkatheteruntersuchung. Zufällig wurde bei 61 Patienten zusätzlich aus dem Koronarsinus Blut abgenommen. Eine KHK, Hypertonie, Klappenerkrankung und eine restriktive oder obstruktive Kardiomyopathie wurde bei allen Patienten ausgeschlossen. Die Dauer vom Beginn der kardialen Symptome bis zur ersten diagnostischen Biopsie betrug im Durchschnitt  $16,3 \pm 15,8$  Monate. Eine endomyokardiale Biopsie ( $n \geq 6$ /pro Patient) wurde bei allen Patienten durchgeführt und immunhistologisch untersucht. Dabei gibt es drei Befundmöglichkeiten in Abhängigkeit von infiltrierenden Zellen und Aktivitätsmarkern:

<b>Zellen + Aktivitätsmarker</b>	<b>negativer Befund, wenn</b>	<b>grenzwertiger Befund, wenn</b>	<b>positiver Befund, wenn</b>
Infiltrierende Zellen: Lymphozyten CD3 <sup>+</sup>	< 1,5 Zellen/GF <sup>a</sup>	1,5-2,0 Zellen/GF <sup>a</sup>	> 2,0 Zellen/GF <sup>a</sup>
<b>Aktivitätsmarker:</b>			
Histokompatibilitäts- antigene: HLA-I/II	Keine Expression	Verstärkte Expression (interstitielle Zellen Gefäßendothel)	Verstärkte Expression (interstitielle Zellen Gefäßendothel)
<u>oder</u>			
Adhäsionsmoleküle: CD18, CD54; VLA-4	Keine Expression	Verstärkte Expression (interstitielle Zellen Gefäßendothel)	Verstärkte Expression (interstitielle Zellen Gefäßendothel)
<sup>a</sup> GF Gesichtsfeld bei 400facher Vergrößerung (0,28 mm <sup>2</sup> )			

**Tabelle 5: Immunhistochemischer Nachweis eines aktivierten myokardialen Entzündungsprozesses (53)**

Bei einem Teil der Biopsie (grenzwertiger bzw. verdächtiger Biopsiebefund) ist der Entzündungsprozeß nur gering ausgeprägt. Diese geringe Entzündung korreliert nicht mit einer Verstärkten Expression von Adhäsionsmolekülen auf interstitiellen Zellen und Gefäßendothel, und neigt im Verlauf im Gegensatz zu den positiven Biopsiebefunden zu einer Spontanausheilung des Entzündungsprozesses. Für die Auswertung wurden die grenzwertigen mit negativen Biopsien zusammengefaßt und den positiven Biopsien entgegengestellt. Die Zusammenfassung der grenzwertigen mit den positiven Biopsiebefunden gegenüber den negativen Biopsiebefunden, die als zweite Möglichkeit in Frage käme, wurde bei der Berechnung der Korrelation jedesmal mit aufgeführt.

Eine molekularbiologische Analyse der Biopsie wurde zur Virusdiagnostik mittels RT-PCR in Kombination mit einer Southern-Blot-Hybridisation durchgeführt. Insgesamt gibt es 301 Patienten (männlich: 205, Durchschnittsalter: 48,1 ±11,7 Jahre; weiblich: 96, Durchschnittsalter: 48,8 ±12,2 Jahre), bei denen Folgebiopsien existieren. Das Intervall zwischen der ersten Biopsie und der Folgebiopsie mit Kontrolle aller hämodynamischen, molekularbiologischen und immunologischen Parameter betrug 8,4 ±4,9 Monate. Aus ökonomischen Gründen wurden nicht bei allen Patienten alle Parameter bestimmt. Die bestimmten Parameter sind dabei zufällig auf die Patienten verteilt worden. Im Ergebnisteil wird daher die Patientenzahl für die verschiedenen Untersuchungen genau aufgeführt.

---

## **3.2 *Material***

### **3.2.1 Probengewinnung für ELISA und intrazelluläre Zytokinbestimmung**

Das zum Zeitpunkt der Herzkatheteruntersuchung abgenommene venöse Blut (inklusive des Blutes aus dem Koronarsinus) wurde in EDTA-Röhrchen (Fa. Becton Dickinson, Vacutainer, Cat. No. 367861) gesammelt und sofort auf 4°C gekühlt. Innerhalb von 10 Minuten erfolgte die weitere Verarbeitung: Die Proben wurden bei 800g 15 Minuten zentrifugiert, der Überstand wurde abgesaugt und in 400 µl Aliquots bei –80°C gelagert. Innerhalb von 3 Monaten wurden die Proben mittels eines ELISA gemessen.

Zur intrazellulären Zytokinbestimmung wurde venöses Blut in Natrium-Heparin-Röhrchen (Fa. Becton Dickinson, Vacutainer, Cat. No. 36xxx) gesammelt und innerhalb einer Stunde weiterverarbeitet.