

Diplomarbeit

**Zusammenhang zwischen systemischer Inflammation  
und kardiovaskulären Endpunkten bei kardialer ATTR-  
Amyloidose**

eingereicht von

**Jakob Lugitsch**

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktor der gesamten Heilkunde**

**(Dr. med. univ.)**

an der

**Medizinischen Universität Graz**

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin / Klinischen Abteilung für Kardiologie**

unter der Anleitung der Betreuer

**Dr. med. univ. David Zach und**

**Univ. FA Priv.-Doz. Dr. med. univ. Nicolas Verheyen**

Graz am 26.08.2024

## **Eidesstattliche Erklärung**

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe. Des Weiteren erkläre ich hiermit, dass, sofern bei der Erstellung dieser Arbeit Künstliche Intelligenz (KI) Werkzeuge zur Generierung und/oder Korrektur bestimmter Textpassagen verwendet wurden, dieser Einsatz unter Einhaltung ethischer Grundsätze, akademischer Integrität und den Vorgaben meiner Universität erfolgte, sowie in Folge dies transparent gemacht und in angemessener Weise gekennzeichnet wurde.

Graz, 26.08.2024

Jakob Lugitsch eh.

## Zusammenfassung

**Hintergrund und Zweck.** Systemische Inflammation ist ein wesentlicher Bestandteil der Pathophysiologie von Herzinsuffizienz (HF). Insbesondere die vielseitigen Effekte der Signalübertragung von Interleukin-6 (IL-6) sind von Interesse, da IL-6-Plasmaspiegel mit der Mortalität bei HF-Patient\*innen in Zusammenhang stehen. Zweck dieser Studie war es, zu untersuchen, ob IL-6-Plasmaspiegel prognostisch relevant für Patient\*innen mit kardialer Transthyretin-Amyloidose (ATTR-CM) sein können.

**Methoden.** Dies ist eine Analyse einer prospektiven, monozentrischen Kohortenstudie mit 98 ATTR-CM-Patient\*innen. Der Endpunkt ist als eine Kombination aus Gesamtmortalität und HF-Events definiert. Follow-Up Daten wurden anhand zentraler Krankenaufzeichnungen gesammelt. Kaplan-Meier-Schätzungen und Cox-Regressionsanalysen wurden angestellt, um den Zusammenhang zwischen IL-6 und dem kombinierten Endpunkt zu untersuchen. Darüber hinaus wurde eine ROC-Analyse durchgeführt, um die prädiktive Genauigkeit von IL-6 für den Endpunkt zu bewerten.

**Ergebnisse.** Das mediane Alter betrug 79 Jahre (IQR 76-81). 46 Patient\*innen (47%) erhielten zu Studienbeginn den Transthyretin-Stabilisator Tafamidis. Der mediane NT-proBNP-Plasmaspiegel betrug 2813 pg/ml (IQR 1365-4856). Die medianen Plasmaspiegel von IL-6 betragen 4,9 pg/ml (3,0 – 9,4). Während eines mittleren Follow-up-Zeitraums von 21,2 Monaten (IQR 11,4-32,4) erreichten 27 Patient\*innen (28%) den Endpunkt. IL-6-Spiegel war mit dem kombinierten Endpunkt assoziiert (HR = 1,028, CI95 = 1,004 bis 1,051; p = 0,012). Der Zusammenhang war unabhängig von Alter, Transthyretin-stabilisierender Medikation, NT-proBNP-Plasmaspiegeln sowie der Urin Protein/Kreatinin-Ratio. Die Fläche unter der ROC-Kurve für IL-6 beträgt 0,70 (CI95 = 0,59 bis 0,81; p = 0,003). Der optimale Cutoff-Wert liegt bei 5,3 pg/ml, bestimmt durch den Youden-Index. Kaplan-Meier-Schätzungen zeigten für die Studienpopulation eine mittlere Überlebenszeit von 1030 Tagen (CI95 = 911 bis 1150). Ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Überlebensraten von ATTR-CM-Patient\*innen mit IL-6-Spiegeln  $\geq$  5,3 pg/ml und denen unter dem Schwellenwert wurde durch den Log-Rank-Test bestätigt (p = 0,002).

**Fazit.** IL-6-Plasmaspiegel sind unabhängig von der für die Krankheit etablierten Risikofaktoren mit schlechtem klinischem Outcome bei Patient\*innen mit ATTR-CM assoziiert. IL-6-Plasmaspiegel könnten zukünftig möglicherweise von Nutzen sein, um eine Hochrisiko-Subpopulation unter ATTR-CM-Patient\*innen zu identifizieren.

## Abstract

**Background & Purpose.** Low-grade systemic inflammation is a key component in the pathophysiology of heart failure (HF). In particular, the pleiotropic effects of interleukin-6 (IL-6) signaling are of interest as circulating IL-6 levels are associated with mortality in HF patients. The purpose of this study was to investigate whether IL-6 plasma levels predict mortality and HF events in patients with cardiac transthyretin amyloidosis.

**Methods.** This was an analysis of a prospective single-center cohort study comprising 98 ATTR-CM patients. The endpoint was defined as a composite of all-cause mortality and worsening HF events. HF events included HF related hospitalizations and urgent outpatient clinic visits with concomitant intravenous diuretic treatment. Follow-up data were collected using central medical records. Kaplan-Meier estimates and Cox regression analyses were calculated to assess the association between IL-6 and the composite endpoint. Moreover, receiver operator characteristics analysis was performed to evaluate the predictive accuracy of IL-6 for the composite endpoint.

**Results.** Median age was 79 years (76-81), 86 patients (88%) were male, and 46 patients (47%) received the transthyretin (TTR) stabilizer tafamidis at baseline. Median NT-proBNP levels were 2813 pg/ml (1365-4856). Median IL-6 plasma levels were 4.9 pg/ml (3.0-9.4). During a median observation period of 21.2 months (11.4-32.4), 27 patients (28%) reached the composite endpoint. IL-6 levels were associated with the composite endpoint (HR = 1.028, CI95 = 1.004 to 1.051; p = 0.012). The association was independent of age, TTR stabilizing medication, log-transformed and eGFR-adjusted NT-proBNP levels, as well as UPCR. The area under the ROC curve for IL-6 was 0.70 (CI95 = 0.59 to 0.81; p = 0.003). The optimal cutoff value was 5.3 pg/ml, as determined by Youden's index, with a sensitivity of 70% and specificity of 66%. Kaplan-Meier estimates demonstrated a mean survival time of 1030 days (CI95 = 911 to 1150) for the study population. A statistically significant difference between the survival rates of ATTR-CM patients with IL-6 levels  $\geq 5.3$  pg/ml and those with IL-6 levels below the threshold was indicated by the log-rank test (p = 0.002).

**Conclusion.** Circulating levels of IL-6 independently predicted adverse outcomes in patients with ATTR-CM. IL-6 plasma levels may be useful for identifying a high-risk ATTR-CM subpopulation.

## Bereits erfolgte Veröffentlichungen

- **Abstract, Journal Article**

J Lugitsch, V Hoeller, N Schwegel, V Santner, J Gollmer, E Kolesnik, R Lipp, T Niedrist, P Rainer, A Zirlik, K Ablasser, N Verheyen, D Zach, Division of Cardiology, University Heart Center, Medical University of Graz, Interleukin-6 plasma levels predict mortality and heart failure events in cardiac transthyretin amyloidosis, *European Heart Journal*, Volume 44, Issue Supplement\_2, November 2023, ehad655.1884, <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehad655.1884>

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Abkürzungen und deren Erklärungen</b> .....	8
<b>2. Abbildungsverzeichnis</b> .....	10
<b>3. Tabellenverzeichnis</b> .....	11
<b>4. Einleitung</b> .....	12
4.1. Globales Problem Herzinsuffizienz.....	12
4.2. Herzinsuffizienz und inflammatorische Signalwege.....	15
4.2.1. Immunantwort im myokardialen Gewebe und Low-grade chronic inflammation.....	15
4.2.2. Die Rolle von Zytokinen im Rahmen der Inflammation bei Herzinsuffizienz.....	17
4.2.3. Mechanismen der Interleukin-6-Signaltransduktion im Herzen.....	18
4.2.4. Spezifische Bedeutung von Interleukin-6 bei Herzinsuffizienz.....	19
4.3. Die kardiale Amyloidose.....	20
4.3.1. Allgemeines zur Krankheit.....	20
4.3.2. Pathophysiologie und klinische Merkmale.....	21
4.3.3. Diagnostik.....	22
4.3.4. Aktuelle Behandlungsansätze und Herausforderungen.....	23
4.4. Die Rolle der Inflammation bei kardialer Amyloidose.....	24
4.5. Prognose, Krankheitsmonitoring und damit verbundene Herausforderungen...25	
4.6. Relevanz und Zielsetzung der Studie.....	26
<b>5. Methoden</b> .....	27
5.1. Methoden der Datenerfassung.....	27
5.1.1. Patient*innenkollektiv – Hypertrophe Kardiomyopathien Register Graz.....27	
5.1.2. Ethik-Votum und Informed Consent.....	28
5.1.3. Laborchemische und -analytische Methoden.....	29
5.1.4. Endpunkterfassung mit open-MEDOCS®.....	31
5.1.5. Definitionen relevanter Endpunkte.....	31
5.1.6. Ein- & Ausschlusskriterien.....	32
5.2. Methoden der Statistik.....	33
5.2.1. Allgemeines.....	33
5.2.2. Charakterisierung zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung.....	33
5.2.3. Beobachtungszeitraum und Time-to-Event – Analyse.....	34

5.2.4. Uni- und multivariate COX-Regressionsanalyse.....	34
5.2.5. ROC-Analyse und Youden´s Index.....	35
<b>6. Resultate.....</b>	<b>37</b>
6.1. Merkmale der Kohorte.....	37
6.2. Mortalität und Hospitalisierung: 28% Prävalenz.....	39
6.3. Interleukin-6 beeinflusst Gesamtmortalität und Herzinsuffizienzereignisse.....	40
6.4. Interleukin-6 als unabhängiger Prognosefaktor im multivariaten Modell.....	42
6.5. Überblick der wichtigsten Resultate.....	43
<b>7. Diskussion.....</b>	<b>44</b>
7.1. Interleukin-6 ist assoziiert mit erhöhter Mortalität und Herzinsuffizienz- bedingten Hospitalisierungen.....	44
7.2. Interleukin-6 ist assoziiert mit fortgeschrittenen Krankheitsstadien.....	46
7.3. Limitationen und Stärken.....	48
7.3.1. Limitationen der Studie.....	48
7.3.2. Stärken der Studie.....	49
7.4. Ausblick auf weitere Forschungsperspektiven.....	50
7.5. Conclusio.....	51
<b>8. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>52</b>

# 1. Abkürzungen und deren Erklärungen

<b>AA-Amyloidose</b>	Serum Amyloid-A	<b>HFpEF</b>	Herzinsuffizienz mit erhaltener Pumpfunktion
<b>AApoA-1 Amyloidose</b>	Apolipoprotein A-1	<b>HFrfEF</b>	Herzinsuffizienz mit reduzierter Pumpfunktion
<b>AApoA-4 Amyloidose</b>	Apolipoprotein A-4	<b>HNOCM</b>	Hypertrophe non-obstruktive Kardiomyopathie
<b>ACEi</b>	Angiotensin-converting Enzym - Inhibitor	<b>HOCM</b>	Hypertrophe obstruktive Kardiomyopathie
<b>ADAM10</b>	Metalloproteinase-Domäne ADAM10	<b>HR</b>	Hazard Ratio
<b>ADAM17</b>	Metalloproteinase-Domäne ADAM17	<b>hsCRP</b>	hochsensitives C-reaktives Protein
<b>AL-Amyloidose</b>	Leichtkettenamyloidose	<b>hsTnT</b>	hochsensitives Troponin-T
<b>ARB</b>	Angiotensin-Rezeptorblocker	<b>HTX</b>	Herztransplantation
<b>ARNI</b>	Angiotensin-Rezeptor-Nepriylsin-Inhibitor	<b>ICAM-1</b>	Interzelluläres Adhäsionsmolekül 1
<b>ASO</b>	Antisense-Oligonucleotid	<b>ICD</b>	Implantierbarer Cardioverter-Defibrillator
<b>ATTR-CM</b>	Kardiale Tranthyretin-Amyloidose	<b>IFE</b>	Immunfixationselektrophorese
<b>AVB</b>	AV-Block	<b>IL-1</b>	Interleukin-1
<b>BB</b>	Betablocker	<b>IL-18</b>	Interleukin-18
<b>BMI</b>	<i>Body-Mass-Index</i>	<b>IL-6</b>	Interleukin-6
<b>BNP</b>	Brain natriuretisches Peptid	<b>IL-8</b>	Interleukin-8
<b>CI95</b>	95-prozentiges Konfidenzintervall	<b>IQR</b>	Interquartilsabstand
<b>CKD</b>	<i>Chronic Kidney Disease</i>	<b>JAK</b>	Januskinase
<b>CMR</b>	<i>Cardiac MR</i>	<b>KAGES</b>	Krankenanstalten Gesellschaft Steiermark
<b>COPD</b>	Chronisch-obstruktive Lungenerkrankung	<b>KIMCL</b>	Klinisches Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik
<b>DBP</b>	Diastolischer Blutdruck	<b>LGE</b>	<i>Late-gadolinium Enhancement</i>
<b>DSGVO</b>	Datenschutzgrundverordnung	<b>LVEF</b>	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
<b>ECLIA</b>	Elektrochemilumineszenz Immunoassay	<b>MAPK</b>	<i>Mitogen activated protein kinase</i>
<b>eGFR</b>	Geschätzte glomeruläre Filtrationsrate	<b>MCV</b>	Mittleres korpuskuläres Volumen
<b>ESC</b>	<i>European Society of Cardiology</i>	<b>MMP-2</b>	Matrix Metalloproteinase 2
<b>ET-1</b>	Endothelin-1	<b>MMP-9</b>	Matrix Metalloproteinase 9
<b>gp130</b>	Glykoprotein 130	<b>MRA</b>	Mineralrezeptorantagonist
<b>hATTR-CM</b>	Hereditäre ATTR-CM	<b>mRNA</b>	<i>Messenger ribonucleic acid</i>
<b>Hb</b>	Hämoglobin	<b>NAC</b>	<i>National Amyloidosis Center</i>
<b>HbA1c</b>	Hämoglobin A1c	<b>NOAK</b>	Neues orales Antikoagulantium
<b>HCM</b>	Hypertrophe Kardiomyopathie		
<b>HF-Events</b>	Herzinsuffizienzereignisse		
<b>HFmrEF</b>	Herzinsuffizienz mit leicht reduzierter Pumpfunktion		

<b>NT-proBNP</b>	N-terminales pro Brain natriuretisches Peptid	<b>SGLT2i</b>	Sodium-Glucose-Transporter 2-Inhibitor
<b>NYHA</b>	Klassifikation der <i>New York Heart Association</i>	<b>sIL-6R</b>	<i>soluble IL-6 receptor</i>
<b>PAMPs</b>	Pathogen-assoziierte molekulare Muster	<b>siRNA</b>	<i>small-interfering RNA</i>
<b>PRRs</b>	<i>Pathogen Recognition Receptors</i>	<b>SM</b>	Schrittmacher
<b>RAS</b>	<i>Rat sarcoma proto oncogen</i>	<b>STAT</b>	<i>Signal transducer and activator of transcription</i>
<b>ROC-Analyse</b>	<i>Receiver-Operater-Characteristics</i>	<b>TNF<math>\alpha</math></b>	<i>Tumor necrosis factor alpha</i>
<b>SAA</b>	<i>Serum Amyloid-A</i>	<b>TTR</b>	Transthyretin
<b>SBP</b>	Systolischer Blutdruck	<b>UPCR</b>	Urin Protein-/Kreatinin-Ratio
<b>SD</b>	Standarddeviation	<b>VHFA</b>	Vorhofflimmerarhythmie
<b>sFLK</b>	Serum freie Leichtketten	<b>VIF</b>	<i>Variance inflation factor</i>
		<b>wtATTR-CM</b>	Wildtyp-Transthyretin-Amyloidose

## 2. Abbildungsverzeichnis

▪	Abbildung 1.....	19
	<b>Signalkaskade von IL-6</b>	
▪	Abb. 2.....	28
	<b>Untersuchungen im HCM-Registerprotokoll bei Studieneinschluss (Übersicht)</b>	
▪	Abb. 3.....	36
	<b>Grenzwertoptimierungskurve für IL-6 bezogen auf die Prädiktion des primären Endpunktes</b>	
▪	Abb. 4.....	39
	<b>Risiko-Zeit Relation für die untersuchte Kohorte</b>	
▪	Abb. 5.....	41
	<b>Risiko für den Endpunkt in Abhängigkeit von der Beobachtungszeit</b>	
▪	Abb. 6.....	41
	<b>Grafische Darstellung der absoluten Häufigkeiten von HF-Events</b>	
▪	Abb. 7.....	43
	<b>Die wichtigsten Studienresultate in der Übersicht</b>	

### 3. Tabellenverzeichnis

▪ Tabelle 1.....	14
<b>NYHA-Klassifikation</b>	
▪ Tab. 2.....	33
<b>Übersicht Ein- &amp; Ausschlusskriterien</b>	
▪ Tab. 3.....	38
<b>Basischarakteristika der untersuchten Kohorte</b>	
▪ Tab. 4.....	40
<b>Eventraten innerhalb der Kohorte</b>	
▪ Tab. 5.....	42
<b>Parameter im multivariaten COX-Regressionsmodell</b>	

## 4. Einleitung

### 4.1. Globales Problem Herzinsuffizienz

Diese Arbeit beschäftigt sich mit Patient\*innen, die unter dem übergeordneten pathologischen Phänomen der Herzinsuffizienz leiden. Aus gesammelten epidemiologischen Daten aus sämtlichen Teilen der Erde geht hervor, dass 1 bis 3% der Gesamtbevölkerung von diesem Krankheitsbild betroffen sind und sogar noch eine Steigerung der Prävalenz zu erwarten ist [1 - 11]. Diese Annahme muss vor dem Hintergrund verstanden werden, dass die Herzinsuffizienz zuallermeist die älteren Teile der Bevölkerung betrifft und die allgemeine Lebenserwartung derzeit global steigt. Zum Zweiten wurden vor allem in den letzten Jahren die diagnostischen und speziell die therapeutischen Handlungsoptionen für diese Erkrankung stark verbessert, wodurch auch das Überleben leicht verbessert werden konnte [1]. Dennoch bleibt die Herzinsuffizienz international gesehen ein großes gesundheitspolitisches Problem, da das Ein-Jahres-Risiko für Mortalität und Hospitalisierung zwischen 15 und 30% sowie das 5-Jahres-Risiko sogar bis zu 75% ausmacht [1, 12-15]. Das 5-Jahres-Risiko isoliert für Mortalität beträgt laut einer Metaanalyse von über 60 Studien aus Nationen mit hohem Einkommen 27,4%, wobei die Überlebensraten von Patient\*innen unter 65 Jahren um bis zu 30% höher waren als die von Patient\*innen über 75 Jahren [1, 16]. Anmerkend muss gesagt werden, dass viel mehr epidemiologische Daten aus Industriestaaten, respektive Nationen mit hohem Bruttoinlandsprodukt existieren als aus Entwicklungsländern.

Diskutiert man über die Krankheitsentstehung, sollte die Herzinsuffizienz weniger als alleinstehende Krankheit, sondern vielmehr als gemeinsame Endstrecke einer Vielzahl unterschiedlicher kardialer und extrakardialer Ursachen gesehen werden. Im Zentrum dieser Überlegungen stehen zwei verschiedene Pathomechanismen: die systolische und die diastolische Dysfunktion. Bei der systolischen Dysfunktion steht eine eingeschränkte Pumpfunktion der Ventrikel, einhergehend mit einer verminderten Auswurfleistung im Vordergrund. Die diastolische Dysfunktion hingegen definiert ein inkompetentes ventrikuläres Füllungsvermögen mit einer herabgesetzten Elastizität des Herzmuskels. Die Pumpfunktion und Auswurfleistung bleiben dabei erhalten. Die beiden Formen können auch kombiniert auftreten. Diese Unterscheidung hinsichtlich systolischer und diastolischer Funktion stellt in der Literatur neben anderen konventionellen Formen der Klassifikation aktuell die wichtigste dar. So unterteilt etwa die Europäische Gesellschaft

für Kardiologie (ESC) in ihren Leitlinien in Herzinsuffizienz mit reduzierter Pumpfunktion (HFrEF), mit erhaltener Pumpfunktion (HFpEF) und mit leicht reduzierter Pumpfunktion (HFmrEF) [17]. Quantifiziert werden diese Einteilungsbereiche anhand von den in der Echokardiographie gemessenen Werten für die linksventrikuläre Auswurffraktion (LVEF), also den prozentuellen Anteil des pro Herzaktion in die Aorta ausgeworfenen Blutes vom gesamten sich im Ventrikel befindlichem Blut. Dabei gelten LVEF-Werte  $\leq 40\%$  der HFrEF, LVEF-Werte von 41-49% der HFmrEF und LVEF-Werte  $\geq 50\%$  der HFpEF zugehörig [17]. Die dritte, erst später eingeführte Kategorie HFmrEF hat eine besondere Stellung. Diese Patient\*innen haben aus pathophysiologischer Sicht sowohl Eigenschaften der systolischen als auch der diastolischen Dysfunktion, profitieren allerdings zumeist von ähnlichen Therapiestrategien wie die HFrEF-Gruppe [17, 18-22]. Bei der initialen Beurteilung von Herzinsuffizienz-Patient\*innen muss weniger aus diagnostischen, jedoch aus therapeutisch-prognostischen Gründen auch der zeitliche Verlauf betrachtet werden. Eine akute Herzinsuffizienz manifestiert sich plötzlich und meist fulminant und kann sowohl als Komplikation diverser kardialer Grunderkrankungen sowie auch als Erstmanifestation oder als akute Exazerbation einer chronischen Herzinsuffizienz in Erscheinung treten. Die chronische Herzinsuffizienz entsteht meist aus dem gemeinsamen Vorliegen mehrerer Risikofaktoren sowie Grunderkrankungen und verläuft langsam über Monate bis Jahre hinweg [17].

Laut einer systematischen Analyse von *Bragazzi et al.*, bei welcher von 1990 bis 2017 Daten aus verschiedenen großen Studien zu Epidemiologie, Ätiologie und Outcomes von Herzinsuffizienz weltweit untersucht wurden, stellt die ischämische Kardiomyopathie die häufigste Ursache für die Entstehung einer Herzinsuffizienz dar. Ihre altersstandardisierte Prävalenz für Herzinsuffizienz beträgt 26,5%. Nur knapp dahinter folgt die hypertensive Herzkrankheit mit 26,2%. Danach folgen die Chronisch-obstruktive Lungenkrankheit (COPD) mit 23,4% und andere Kardiomyopathien, in erster Linie hypertropher, dilatativer oder restriktiver Natur mit 6,5%. Eine wichtige Rolle spielen auch degenerative Mitralklappenvitien (2,4 %), die alkoholische Kardiomyopathie (2,4%), degenerative Aortenklappenvitien (2,3%), rheumatische Myo- & Endokarderkrankungen (1,8%) sowie die Myokarditis (1,7%). Entsprechend unterscheiden sich die Häufigkeiten dabei auch hinsichtlich des Alters der Patient\*innen. So machen etwa kongenitale Herzfehler, Myokarditiden und andere Kardiomyopathien über drei Viertel der Ursachen für Herzinsuffizienz bei Patient\*innen unter 20 Jahren aus. Im Alter von 25-69 Jahre ist die

hypertensive Herzkrankheit am stärksten vertreten und je älter die Patient\*innen waren, desto höher ist der Anteil an ischämischen und valvulär-degenerativen Ursachen [23].

Der systolischen und der diastolischen Form der Herzinsuffizienz liegt nicht nur ein unterschiedlicher Pathomechanismus zugrunde, ihnen sind auch unterschiedliche Risikofaktoren vorgeschaltet. HFrEF-Patient\*innen sind häufiger männlich, haben eher eine ischämische Kardiomyopathie zugrunde liegen [24, 25], sind Raucher\*innen und haben eher erhöhte Troponin T – Plasmaspiegel (hsTnT) [26]. HFpEF-Patient\*innen sind häufiger weiblich, leiden eher unter arterieller Hypertonie sowie Vorhofflimmerarrhythmie (VHFA) [24, 25] und haben eher eine Proteinurie [26]. HFmrEF-Patient\*innen weisen zumeist dieselben Risikofaktoren wie die HFrEF-Gruppe auf, echokardiografisch ist allerdings meist weniger Dilatation des Atriums und des Ventrikels messbar [24]. Als unabhängige Risikofaktoren für sämtliche LVEF-Subgruppen sowie auch als starke Prädiktoren für schlechtes klinisches Outcome gelten hohe Plasmaspiegel von n-terminalem pro Brain natriuretischem Peptid (NT-proBNP), ein erhöhter Body-Mass-Index (BMI), chronische Niereninsuffizienz (CKD) und eine erhöhte Ruheherzfrequenz [24, 26].

Will man die Schwere einer Herzinsuffizienz quantifizieren, gibt es drei diagnostische Säulen, die zu Verfügung stehen. Zum ersten bietet die Anamnese und klinische Untersuchung wegweisende Befunde. Die seit Jahrzehnten bewährte Klassifikation der *New York Heart Association* (NYHA) stratifiziert die Schwere einer Herzinsuffizienz anhand ihrer Symptomatik, wobei die Symptome ab NYHA-Stadium II für die Herzinsuffizienz relevant werden [27].

<b>NYHA I</b>	Keine HF-spezifischen Symptome wie Dyspnoe, Palpitationen, Fatigue oder Angina pectoris bei physischer Aktivität.
<b>NYHA II</b>	HF-spezifische Symptome bei normaler physischer Aktivität. Keine Symptome in Ruhe.
<b>NYHA III</b>	HF-spezifische Symptome bei leichter physischer Aktivität. Keine Symptome in Ruhe.
<b>NYHA IV</b>	HF-spezifische Symptome bei jeglicher physischen Aktivität. Symptome auch bereits in Ruhe vorhanden

**Tabelle 1.** NYHA-Klassifikation

Neben dieser klassischen Einteilung gibt es noch weitere Symptome und Zeichen, welche die klinische Säule zur Diagnosestellung der Herzinsuffizienz stützen. Hierzu zählen beispielsweise das Vorhandensein von peripheren Ödemen, ein gesteigerter

Jugularvenendruck, ein positiver hepatojugulärer Reflux, nächtliches Husten, nächtlich-paroxysmale Dyspnoe, ein dritter Herzton in der Auskultation, beziehungsweise ein lateralisierte Herzspitzenstoß [17].

Liegt der Verdacht anhand anamnestisch-klinischer Kriterien vor, sollte man laborchemisch den Biomarker NT-proBNP bzw. BNP bestimmen. Ist NT-proBNP über 125 pg/ml beziehungsweise BNP über 35 pg/ml ausgelenkt, besteht der Verdacht auf das Vorliegen einer Herzinsuffizienz weiterhin und man sollte noch die Echokardiographie zu Hilfe nehmen, wo pathognomonische Befunde entsprechend einer systolischen oder diastolischen Dysfunktion die Diagnose schlussendlich bestätigen [17].

## **4.2. Herzinsuffizienz und inflammatorische Signalwege**

### **4.2.1. Immunantwort im myokardialen Gewebe & Low-Grade Chronic Inflammation**

Viele Jahre lang haben primär Neuropeptide des vegetativen Nervensystems in der Erforschung der Pathophysiologie der endokrinen Signaltransduktion bei chronischer Herzinsuffizienz die Literatur dominiert. Basierend auf den Erkenntnissen aus diesem Gebiet wurde auch ein Großteil der heutzutage etablierten medikamentösen Therapien entwickelt, wie etwa der Betablocker zur Inhibierung von beta-adrenerger Stimulation sowie der ACE-Hemmer (ACEi), der AT1-Rezeptorblocker (ARB) und der Mineralrezeptorantagonist (MRA) zur Inhibierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. Allerdings schafft man es nach derzeitigem Wissensstand nicht, mit der erprobten Inhibierung dieser Signalwege einen Überlebensvorteil für das gesamte Spektrum der Herzinsuffizienz herzustellen, da insbesondere für Patient\*innen mit HFpEF richtungsweisende Daten fehlen [18, 19, 21, 22]. Was allerdings sowohl HFrfEF als auch HFmrEF und HFpEF gemeinsam haben, ist eine Korrelation zwischen inflammatorischen Zytokinen und klinischem Outcome der Patient\*innen [28-32]. Die Rolle der Inflammation bei Herzinsuffizienz gewinnt daher in der kardiovaskulären Forschung immer mehr an Stellenwert. Doch was ist die rationale Grundlage hinter dieser Korrelation?

Bei der Herzinsuffizienz kommt es, unabhängig vom Entstehungsmechanismus, sowohl im akuten als auch im chronischen Stadium zu einer Schädigung der myokardialen Zellen. Sowohl das angeborene als auch das adaptive Immunsystem reagieren auf diese Schädigung. Es reagieren sowohl die lokal sich im Gewebe befindlichen Immunzellen

(Makrophagen, Mastzellen) als auch die aus dem Blut einwandernden Immunzellen (eL Granulozyten und Lymphozyten) auf den Reiz der Myokardschädigung. Es kommt zur sogenannten pathologischen Inflammationsreaktion. Nach der Infiltration haben die Immunzellen mithilfe humoraler Mediatoren (u.a. Zytokinen) die Aufgabe, eine Reparatur des Schadens an den Kardiomyozyten vorzunehmen und triggern dabei vor allem über Aktivierung humoraler Faktoren und Zytokine weitere Inflammation. Hierbei spricht man von physiologischer Inflammationsreaktion. Wenn die Inflammation ein kritisches Ausmaß annimmt, kommt es zunehmend zu linksventrikulärer Dysfunktion sowie kardiovaskulärem Remodeling [32]. Von immunologischem Standpunkt aus versucht der Körper allerdings ständig dagegen zusteuern, um auf diesem Weg eine Gewebemöostase aufrechtzuerhalten.

Menschliche Immunzellen werden prinzipiell durch PR-Rezeptoren (Pattern Recognition Receptors, PRRs) an ihrer Oberfläche bei Kontakt mit pathogen-assoziierten molekularen Mustern (PAMPs) wie etwa bei Stimulation durch eine exogene Noxe in Bereitschaft versetzt [33]. PRRs von Immunzellen im kardialen Extrazellulärraum erkennen neben exogen-molekularen Mustern zusätzlich auch molekulare Muster von körpereigenen zytosolischen Bestandteilen, welche bei myokardialen Nekroseprozessen freigesetzt werden und setzen daraufhin die gesamte Inflammationskaskade inklusive Infiltration von Granulozyten und Monozyten in Gang [34]. Da in diesem Fall keine infektiöse Noxe mitwirkt, wird dieser Vorgang auch als sterile Inflammation bezeichnet [32, 34]. Das Ausmaß der im Serum anhand von Zytokinen messbaren inflammatorischen Aktivität, welche durch die myokardspezifischen PRRs hervorgerufen wird, ist jedoch bei weitem nicht so groß wie die, welche man bei akuten Infektionen oder Autoimmunprozessen durch dieselbe getriggerte Signalkaskade erwarten würde [35]. Es handelt sich um eine sogenannte *low-grade chronic inflammation* [28]. Diese geringgradig-chronische Entzündung entsteht vor allem durch den Umstand, dass entsprechende Schädigungs- und Umbauprozesse (Remodeling, Gewebehypoxie, Dilatation) bei der chronischen Herzinsuffizienz ständig fortlaufend und in kleinerem Stil vorkommen beziehungsweise weil sich die Krankheit durch medikamentöse Therapie zumeist in klinisch kompensiertem Zustand befindet [32].

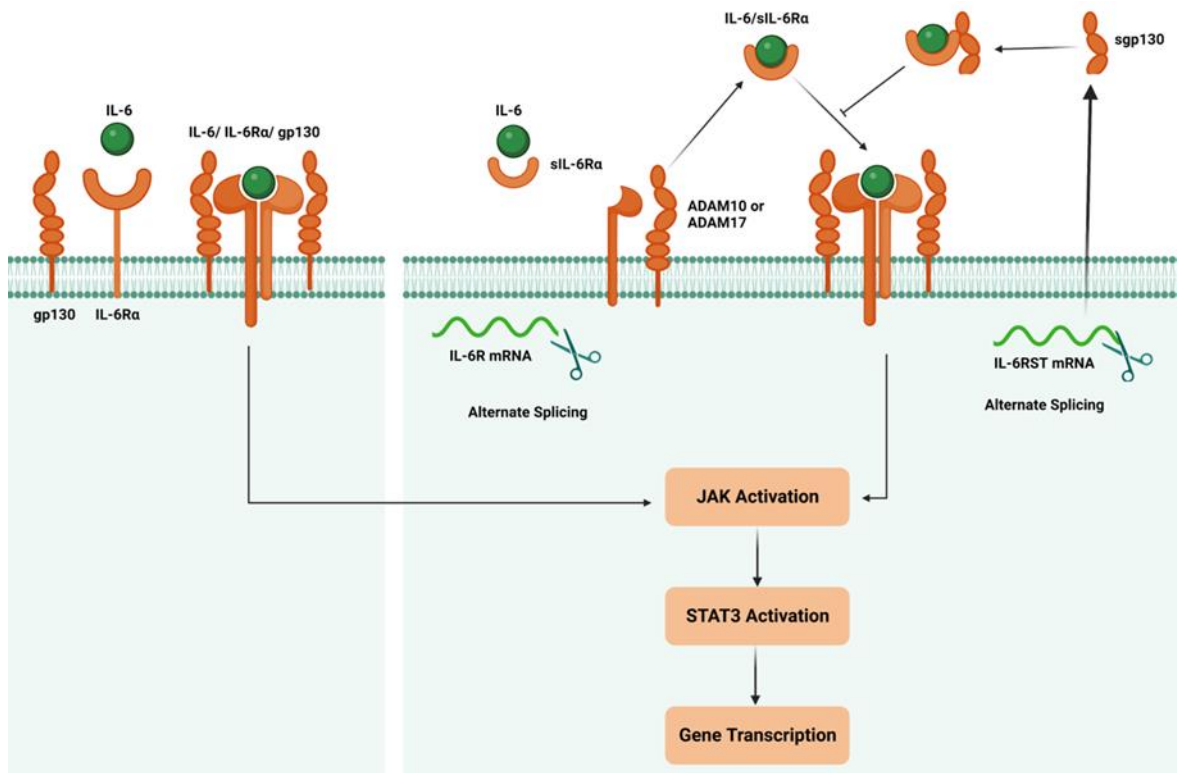
#### 4.2.2. Die Rolle von Zytokinen im Rahmen der Inflammation bei Herzinsuffizienz

Zytokine sind Peptide, welche als Botenstoffe des Immunsystems fungieren. Sie werden von einem breiten Spektrum an Zellen gebildet und interagieren durch Bindung an Rezeptoren vor allem parakrin und juxtakrin direkt in umliegendem Gewebe. Wenn es allerdings, wie auch bei der Herzinsuffizienz vor allem im akuten Stadium der Fall ist, lokal zur Expression von hohen Konzentrationen an Zytokinen kommt, können Letztere auch in den Blutkreislauf übertreten und endokrine sowie systemische Effekte nach sich ziehen [36]. Bei der Herzinsuffizienz entstehen primär zwei Arten von Zytokinen: vasokonstriktorische Zytokine, vor allem Endothelin-1 (ET-1) und vasodepressorisch-proinflammatorische, vor allem Tumor Necrosis Factor alpha (TNF $\alpha$ ), Interleukin-1 (IL-1) und Interleukin-6 (IL-6) [36]. Die sogenannte Zytokin-Hypothese bei Herzinsuffizienz [32, 36] postuliert, dass die von Zytokinen aktivierten Inflammationskaskaden zwar nicht per se für die Entstehung der Herzinsuffizienz, aber für die Progression dieser entscheidend verantwortlich sind, in dem sie hämodynamische Verhältnisse deteriorieren und durch direkt zelltoxische Effekte das Remodeling am Myokard vorantreiben. Die Bildung von ET-1 wird bei kardialer Dysfunktion als initiale Antwort auf hämodynamischen Stress unterdrückt, da so ein positiver inotropischer Effekt für die Kardiomyozyten erreicht werden kann [36, 37]. Überexpression von ET-1 hingegen konnte bei der chronischen Herzinsuffizienz beobachtet werden und scheint ein Trigger für Myozytolyse, fokale Vasospasmen und gesteigerte myokardiale Fibrosierung zu sein [36, 38]. Aus experimentellen Studien mit Mäusen und Hunden geht hervor, dass TNF $\alpha$  ebenso einen negativ inotropen Effekt durch eine verminderte linksventrikuläre Auswurfleistung bewirkt [39, 40]. Der Kardiomyozyten-modulierende Effekt von TNF $\alpha$  entfaltet sich durch eine innerhalb von Minuten adaptierende Signalkaskade, durch neutrale Sphingomyelinasen mediiert, gefolgt von einem verzögerten, Stunden bis Tage dauernden Prozess, welcher mediiert durch Stickstoffmonoxid eine Dämpfung der beta-adrenergen Stimulation bewirkt [39]. IL-1 scheint neben TNF $\alpha$  über das Triggern von Interleukin 18 (IL-18) indirekt einen negativ inotropen Effekt zu haben [32]. Weiters haben proinflammatorische Zytokine auch entscheidende Effekte auf das kardiovaskuläre Remodeling. Die Rolle der Inflammation nimmt hier wiederum ambivalenten Charakter ein. Während inflammatorische Signalkaskaden, hauptsächlich von TNF $\alpha$  getriggert in sämtlichen Zellverbänden des Körpers durch Invasion von Neutrophilen und Monozyten Gewebeschaden, fortschreitende Fibrose und kardiales Remodeling bewirken, scheint die Aktivierung derselben

Signalkaskaden in Kardiomyozyten auf der anderen Seite einen positiven Effekt zu haben, in erster Linie durch kurzzeitige Stabilisierung von Mitochondrien und gesteigerte Membranintegrität des Sarkolemms [41]. Zu stark erhöhte Konzentrationen von  $\text{TNF}\alpha$  bewirken im Kontext der Herzinsuffizienz allerdings auf längere Zeit gesehen eine Ausweitung der linksventrikulären Dimensionen, welche mit einer fortschreitenden Abnahme der extrazellulären Matrix einhergeht [32, 42]. Da  $\text{TNF}\alpha$  im Prozess der fortschreitenden inflammatorischen Myokardschädigung bei Herzinsuffizienz ein zentrales Zytokin zu sein scheint, wurden bereits klinisch-therapeutische Studien mit dem Ziel der Inhibierung von  $\text{TNF}\alpha$ -Signalwegen durchgeführt. Keine dieser Studien konnte jedoch einen Überlebensvorteil der Patient\*innen aufzeigen, manche zeigten sogar einen negativ-klinischen Effekt der versuchten Therapie mit erhöhten Mortalitäts- und Hospitalisierungsraten [32, 43, 44].

#### **4.2.3. Mechanismen der Interleukin-6-Signaltransduktion im Herzen**

Eng verknüpft mit den Signalkaskaden von  $\text{TNF}\alpha$  ist auch IL-6, ein weiteres proinflammatorisches Zytokin. IL-6 wird von einer Vielzahl an Zellen des Immunsystems wie etwa Makrophagen, Monozyten, T-Zellen und Mastzellen im Falle einer Entzündung gebildet. Doch auch Keratinozyten, Fibroblasten, Endothelzellen sowie Kardiomyozyten können IL-6 bilden. Einmal sezerniert kann IL-6 entweder an membranständigen IL-6 Rezeptoren binden, welche nur an Oberflächen von Hepatozyten, Leukozyten und Endothelzellen vorkommen, oder mit dem löslichen IL-6-Rezeptor (sIL-6R) einen Rezeptorkomplex eingehen, was über Glykoprotein 130 (gp130) ebenso die intrazelluläre Signalkaskade für IL-6 aktiviert [45]. Man spricht von sogenanntem IL-6-Transsignalling. Das membranständige Rezeptorprotein gp130 kommt in allen Zellen des Körpers vor [45]. Intrazellulär kann gp130 mehrere Signalwege aktivieren: JAK (Janus kinase), STAT (signal transducer and activator of transcription), RAS (rat sarcoma proto oncogen), MAPK (mitogen activated protein kinase) und PI3K (phosphoinositide-3 kinase) [45]. Diese Signalkaskaden sind essentiell, um im Rahmen von Infektionen eine Immunantwort sowie mechanischen Gewebeschaden herbeizuführen [45, 46].



**Abbildung 1.** Signalkaskade von IL-6 (grobes Schema). Links: die klassische Signalkaskade mit dem membranständigen IL-6-Rezeptor an Leukozyten und Hepatozyten. Rechts das sogenannte *IL-6-Trans-signalling* mittels löslichem sIL-6R an allen Zellen des Körpers. Der IL-6/sIL-6R-Komplex wird über die Metalloproteinasen ADAM10 und ADAM17 konfiguriert und gerät über das Rezeptorprotein gp130 an seine intrazellulären Effektororte. (Bildquelle: <https://www.origene.com/research-areas/il-6-signaling-pathway>)

#### 4.2.4. Spezifische Bedeutung von Interleukin-6 bei Herzinsuffizienz

Bei Herzinsuffizienz und insbesondere der HFpEF sind nicht nur erhöhte Plasmaspiegel von proinflammatorischen Zytokinen zu beobachten [47], diese sind auch mit schlechtem klinischem Outcome assoziiert [48 – 50]. Darüber hinaus stand die Höhe der IL-6-Spiegel im Vergleich zu einer altersgematchten Kontrollgruppe in direktem Zusammenhang mit dem Schweregrad der Herzinsuffizienz entsprechend den Stufen der NYHA-Klassifikation [48]. Weiters sind höhere IL-6 Werte mit einem signifikant erhöhten Risiko für Mortalität und Hospitalisierung wegen Herzinsuffizienz assoziiert [50].

Bei der Herzinsuffizienz wird IL-6 nicht wie sonst als Reaktion auf eine infektiöse Noxe, sondern als Reaktion auf den entstandenen mechanischen Gewebeschaden autokrin, einerseits von infiltrierenden Immunzellen sowie andererseits von Kardiomyozyten gebildet [33]. Einerseits moduliert es mit TNF $\alpha$  gemeinsame Signalkaskaden, welche zu linksventrikulärer Dysfunktion und Remodeling führen [32, 36], andererseits reguliert es separat das Zelladhäsionsmolekül ICAM-1 auf der Oberfläche von Kardiomyozyten,

welches die Neutrophilen-Bindung steigert und die zytotoxische Aktivität verstärkt [51]. Weiters konnte in vitro gezeigt werden, dass IL-6 über mehrere Signalkaskaden einen negativ inotropen Einfluss auf Gewebestücke des atrialen Herzmuskels nimmt [52, 53]. Nach derzeitigem Wissensstand werden dabei der Stickstoffmonoxid-Signalweg, der  $\beta$ -Adrenorezeptor-Signalweg und der Ceramid-Sphingomyelin-Signalweg pathologisch aktiviert [52- 55]. Im Kontext dieser Forschungsarbeiten muss allerdings bedacht werden, dass viele von obig erwähnten Grundlagenstudien eine ischämische Herzinsuffizienz mit zumeist reduzierter linksventrikulärer Pumpfunktion untersuchen, und damit in diesen Fällen eine andere Ausgangssituation als bei den zu untersuchenden Patient\*innen dieser Studie gegeben ist. Aus diesem Grund ist eine präzise, reproduzierbare Rollenzuordnung für IL-6 im Kontext der pathophysiologischen Abläufe der Herzinsuffizienz, stratifiziert auf ihre verschiedenen Ursachen weiterhin Gegenstand intensiver Grundlagenforschung und kann gegenwärtig noch nicht hundertprozentig erbracht werden.

### **4.3. Die kardiale Amyloidose**

#### **4.3.1. Allgemeines zur Krankheit**

Ein bedeutendes Teilgebiet im ätiologischen Spektrum der Herzinsuffizienz bilden die Kardiomyopathien. Diese werden hinsichtlich ihrer Morphologie und Pathophysiologie in 5 Gruppen eingeteilt: die hypertrophe, die dilatative, die restriktive, die arrhythmogen-rechtsventrikuläre Kardiomyopathie, sowie die Gruppe der sonstigen und nicht zuteilbaren Kardiomyopathien. Die kardiale Amyloidose ist eine der vielen ätiologisch zugrundeliegenden Möglichkeiten für eine Kardiomyopathie, die meist als Kardiomyopathie vom hypertrophen oder restriktiven Phänotyp in Erscheinung tritt. Der Sammelbegriff umfasst alle Formen von Herzbeteiligung, bei denen es zu kardialer Infiltration durch Amyloidaggregaten kommt, welche bei den systemischen Krankheitsformen der Amyloidose anfallen. In der kardiologischen Praxis sieht man in über 98% der Fälle die Leichtkettenamyloidose (AL-Amyloidose), bei welcher sich fehlgefaltete Immunglobulin-Leichtketten ablagern, sowie die Transthyretin-Amyloidose (ATTR-CM). Seit einer verfügbaren therapeutischen Konsequenz steigen die Diagnosen der ATTR-CM exponentiell. So ist die ATTR-CM mittlerweile die am häufigsten auftretende kardiale Amyloidose und Gegenstand der Untersuchung dieser Arbeit. In seltenen weiteren Fällen kommt es zur Serum Amyloid-A Amyloidose (AA-CM), sowie

zur hereditären Apolipoprotein A-1 bzw. hereditären Apolipoprotein A-4 Amyloidose (AApoA-1- / AApoA-4 Amyloidose). In den folgenden Zeilen wird nun die ATTR-CM aus verschiedenen Blickwinkeln näher beleuchtet.

#### **4.3.2. Pathophysiologie und klinische Merkmale**

Bei der ATTR-CM kommt es zunächst zu einer Fehlfaltung des Transportproteins Transthyretin (TTR). Dieses wird als Akut-Phase-Protein in der Leber gebildet und ist im Systemkreislauf vorwiegend am Transport des Schilddrüsenhormons Thyroxin sowie von Retinol beteiligt. Im Falle der Krankheit kommt es entweder durch eine Mutation im kodierenden Gen (hereditäre ATTR-CM, hATTR-CM) oder spontan im hohen Alter (Wildtyp-ATTR-CM, wtATTR-CM) zunächst zum Zerfall von instabilen TTR-Tetrameren in Monomere, welche sich weiter zu Amyloid-Monomeren fehlkonfigurieren. Diese bilden letztlich Amyloidfibrillen, welche sich in der Extrazellulärmatrix des Myokards als Aggregate ablagern. Es können allerdings auch noch andere Organsysteme, wie beispielsweise das periphere Nervensystem betroffen sein. Gelegentlich kommt es auch zu Schäden im Muskelapparat, meist im Rahmen von Enthesiopathien. In einigen Fällen konnten auch Amyloidfibrillen in der Lunge und in den Markspapillen der Niere nachgewiesen werden [63, 64]. Das kodierende Gen für die TTR-Fehlfaltung bei hATTR-CM liegt am Chromosom 18 bei mehreren bereits bekannten Mutationen, während es derzeit noch unklar ist, was bei der wtATTR-CM konkret die kinetische Instabilität von Transthyretin verursacht [56]. Im peripheren Nervensystem sorgen die Ablagerungen für eine fortschreitend-irreversible Axonschädigung mit folglich gestörter neuronaler Reizleitung im Sinne einer Polyneuropathie. Auch das autonome Nervensystem kann betroffen sein, weswegen ATTR-CM auch dort zu Dysfunktion führt, was ein Grund für auftretende Synkopen sein kann [58]. Im Herzen sorgen die eingelagerten Amyloidfibrillen für ventrikuläre Dysfunktion mit einer diastolischen und systolischen Komponente im Sinne einer restriktiven bzw. hypertrophen Kardiomyopathie. Man spricht daher auch von einer pseudohypertrophen restriktiven Kardiomyopathie [57]. Es kommt zu einer progressiven Versteifung des Myokards sowie einer symmetrischen Ventrikellhypertrophie mit diffuser Kontraktilitätsstörung. Das hämodynamische Resultat ist typischerweise eine diastolische Dysfunktion mit erhöhten Füllungsdrücken.

Klinisch manifestiert sich die ATTR-CM in erster Linie als HFpEF sowie als HFmrEF. Die Patient\*innen können sowohl lange asymptomatisch sein als auch rapide Symptome entwickeln. Meist kommt es durch oben genannte hämodynamische Effekte zu klassischen Herzinsuffizienzsymptomen wie Belastungsdyspnoe und rascher Ermüdung, kardiale Dekompensation und eine damit verbundene Hospitalisierung sind die Konsequenz [56, 57]. Weitere HFpEF spezifische Zeichen und Symptome wie Beinödeme, Orthopnoe, paroxysmale nächtliche Polyurie sowie nächtlicher Husten kommen ebenfalls vor. Außerdem sind Störungen des Reizleitungssystems, vor allem die VHFA sowie Blockierungen des atrioventrikulären Knotens (AV-Block, AVB) sehr häufig, weswegen ATTR-CM Patient\*innen auch oft einen Schrittmacher benötigen [56, 57]. Die häufigsten extrakardialen Zeichen der ATTR-CM betreffen das muskuloskelettale, sowie das periphere und autonome Nervensystem und beinhalten eine schmerzhafte Polyneuropathie der Akren, Muskelschwäche, Karpaltunnelsyndrom, Spinalkanalstenose, Bizepssehnenruptur, orthostatische Dysregulation, chronische Störungen der Darmmotilität, erektile Dysfunktion und Proteinurie [57].

#### **4.3.3. Diagnostik**

Wie jede kardiologische Basisdiagnostik umfasst auch die der ATTR-CM die Aufzeichnung eines Elektrokardiogramms, wenngleich der Stellenwert im diagnostischen Work-Up ein geringer ist. Tiefe Q-Zacken (Pseudo-Infarktzeichen) und in Relation zum Grad der Ventrikelhypertrophie diskordant kleine QRS-Voltagen können auf eine restriktive Kardiomyopathie und damit auf die ATTR-CM hinweisen. Die Echokardiographie liefert bereits spezifischere Hinweise. Diese sind eine linksventrikuläre Hypertrophie, eine diastolische Dysfunktion Grad 2 oder höher sowie ein abnormaler longitudinaler Strain mit apikaler Störung der Kontraktions-/Relaxationsfähigkeit (*apical sparing*). In vielen Fällen wird zur Abklärung von chronischen Kardiomyopathien eine Magnetresonanztomographie des Herzens (Cardiac MR, CMR) durchgeführt. Hierbei kommt es bei Vorliegen einer ATTR-CM zu einer diffusen verzögerten subendokardialen und transmuralen Kontrastmittelaufnahme (*late gadolinium enhancement, LGE*) sowie im T1-Mapping zum Nachweis von vergrößertem Extrazellulärvolumen. Wenngleich das CMR starke Hinweise auf das Vorliegen und das Ausmaß der Erkrankung liefern kann, so bestätigt es sie noch nicht.

Für die nicht-invasive Diagnosestellung der ATTR-CM muss man zunächst das Vorliegen einer AL-Amyloidose ausschließen [57]. Dies geschieht mittels Untersuchungen auf monoklonale Proteine in Serum und Harn. Dazu gehört die Bestimmung der freien Leichtketten im Serum (sFLK) sowie eine Immunofixation-Elektrophorese (IFE) aus Serum und Urin. Kann in keinem der drei Tests eine monoklonale Gammopathie nachgewiesen werden, ist das Vorliegen einer AL-Amyloidose mit über 99% Wahrscheinlichkeit ausgeschlossen [59]. Weiterführend wird eine Skelettszintigraphie durchgeführt. Hierbei wird die kardiale Tracer-Aufnahme beurteilt und in vier Grade eingeteilt (Perugini 0-3). Liegt ein Grad 2 oder 3 vor, kann die ATTR-CM diagnostiziert werden. Weiters steht als invasive Diagnosemöglichkeit noch die Endomyokardbiopsie mit histologischem Nachweis von TTR im Gewebe zur Verfügung. Wird in der Leichtkettendiagnostik beispielsweise der Verdacht auf eine vorliegende monoklonale Gammopathie gestellt, sollte zum Ausschluss einer vorhandenen kardialen AL-Amyloidose eine Biopsie erfolgen [60].

#### **4.3.4. Aktuelle Behandlungsansätze und Herausforderungen**

Für eine lange Zeit standen bei der ATTR-CM keine krankheitsspezifischen Therapien zur Verfügung. Man beschränkte sich auf die Therapie der Symptome und Komplikationen der Krankheit. Dabei gelten ähnliche Ansätze wie jene bei der klassischen Herzinsuffizienztherapie, mit dem Problem, dass manche Medikamente im Setting der restriktiven Kardiomyopathie wie bei ATTR-CM nur schlecht toleriert werden. Von den herkömmlich eingesetzten Stoffen zeigten der SGLT2-Inhibitor (SGLT2i) Dapaglifozin und diverse Diuretika weniger Risiko hinsichtlich Medikamentenintoleranz im Vergleich zu Betablockern, ACE-Inhibitoren/Sartanen und ARNIs [57, 61, 62]. Eine weitere wichtige Säule der symptomatischen Therapie ist die Antikoagulation. Bei ATTR-CM ist nicht nur die Prävalenz von VHFA besonders hoch [57], auch die Wahrscheinlichkeit für intrakardiale Thromben bei bestehendem Sinusrhythmus ist aufgrund einer schlechten atrialen Funktion erhöht [57, 65]. Sowohl Vitamin-K-Antagonisten als auch neue orale Antikoagulantien (NOAK) erwiesen sich als sicher bei ATTR-CM [66]. Da es auch häufig zu Schäden des Reizleitungssystems im Sinne von AV-Blockbildern kommt, haben ATTR-CM Patient\*innen eine hohe Inzidenz von Schrittmacherimplantationen. In Fällen von anhaltenden ventrikulären Tachykardien und bei abgebrochenem plötzlichem Herztod mit

einem erwarteten Überleben > 1 Jahr sollte unbedingt sekundärprophylaktisch ein *Implantable Cardioverter-Defibrillator* (ICD) implantiert werden [67].

Seit 2019 gibt es nun auch die erste zugelassene kausale Therapie für sowohl hATTR-CM als auch wtATTR-CM: den Transthyretin-Stabilisator Tafamidis. Tafamidis hält die Krankheitsprogression auf, in dem es die native Tetramer-Struktur von Transthyretin stabilisiert und damit die Fehlfaltung und Deposition im Gewebe verhindert, es kann allerdings keine Reduktion der schon bestehenden Transthyretin-Ablagerung erzielen [57]. In der entsprechenden klinischen Phase-III-Studie konnte die Einnahme von Tafamidis eine signifikante Reduktion von Gesamtmortalität und kardiovaskulären Hospitalisierungen erbringen sowie den Verlust von körperlicher Funktionalität und Lebensqualität verlangsamen [68].

Neben Tafamidis gibt es noch weitere bis März 2024 nicht zugelassene TTR-Stabilisatoren wie Acoramidis, Diflunisal und ION-682884, welche durch geringfügig unterschiedliche Mechanismen die Ablagerung von TTR verhindern sollen. Diese zeigten zwar bereits positive Effekte hinsichtlich Krankheitsprogression und Lebensqualität [57, 69, 70], konnten jedoch noch keinen direkt positiven Einfluss auf große kardiovaskuläre Endpunkte wie Mortalität und Hospitalisierung aufweisen [69] oder führten zu Sicherheitsbedenken [70]. Des Weiteren gibt es die TTR-Silencer Patisiran, Inotersen, Vutisiran und Eplontersen, welche als *small-interfering RNA* (siRNA) und *antisense-oligonucleotide* (ASO) auf die Synthese der *messenger RNA* (mRNA) von TTR in der Leber Einfluss nehmen. Alle diese Stoffe sind bei hATTR-CM und beim primär neuropathischen Phänotyp der ATTR-CM wirksam und zugelassen, zeigten allerdings bis dato ebenso noch keine positiven Effekte auf Mortalität oder Hospitalisierung bei wtATTR-CM [57, 71-75].

#### **4.4. Die Rolle der Inflammation bei kardialer Amyloidose**

Wie bereits eingehend erläutert sind TTR und seine Ablagerung in der Extrazellulärmatrix von myokardialen Zellen der treibende Faktor für die Entwicklung einer manifesten Herzinsuffizienz und die Progression dieser bei Patient\*innen mit ATTR-CM.

Aus einer experimentellen Studie von *Magaud et al.* geht hervor, dass es in kardialen Fibroblasten bei extrazellulärer Deposition von TTR-Aggregaten zu intrazellulärer Internalisation derselben kommt und diese Zellen anschließend sowohl BNP, NT-proBNP

als auch pro-inflammatorische Zytokine, in erster Linie IL-6 und IL-8 sezernieren [77]. Dies zeigt, dass TTR in vitro einen direkten Einfluss auf die Sekretion von IL-6 bei ATTR-CM hat und damit wohl indirekt auch die durch *low-grade chronic inflammation* vorangetriebene Progression der Herzinsuffizienz beeinflusst. Aus anderen Arbeiten aus der Grundlagenforschung geht hervor, dass TTR in Form von Amyloidfibrillen gegensätzlich zum sonst antioxidativen Effekt von TTR oxidativen Stress im Gewebe hervorruft [63]. Es zerstört die physiologische Gewebemöostase in der extrazellulären Matrix, indem es die für die Signalkaskaden pro-inflammatorischer Zytokine wichtigen Metalloproteinasen MMP-2 und MMP-9 aufreguliert [63, 78] und durch Modifikation des mitochondrialen Potentials der Kardiomyozyten direkt zytotoxisch wirkt [63, 79]. Abgelagerte Amyloidfibrillen scheinen also neben dem Effekt der myokardialen Versteifung im Sinne der restriktiven Kardiomyopathie auch über die Einflussnahme auf inflammatorische Signalwege negative Effekte auf die Krankheitsprogression bei ATTR-CM zu haben.

#### **4.5. Prognose, Krankheitsmonitoring und damit verbundene Herausforderungen**

Um die Prognose bei Patient\*innen mit ATTR-CM hervorsagen zu können gibt es derzeit zwei etablierte Staging-Systeme. Das erste wurde von *Grogan et al.* publiziert und stratifiziert ATTR-CM Patient\*innen hinsichtlich der Biomarker NT-proBNP und hsTnT in drei Risikogruppen mit respektive 57%, 42% und 18% 4-Jahres-Gesamtüberleben [80]. Das häufiger angewandte Staging des NAC (National Amyloidosis Centre) von *Gillmore et al.* beschreibt drei Risikogruppen anhand von NT-proBNP und der geschätzten glomerulären Filtrationsrate (eGFR) mit respektive 69, 47 und 24 Monaten mittlerem Überleben [81]. Um die Krankheitsprogression nachhaltig zu monitorisieren, sind allerdings beide Modelle ungeeignet. Dafür gibt es ein Konsensus-Papier von internationalen Experten, welches 11 messbare Parameter aus den folgenden drei Kategorien erwähnt: klinische und funktionelle Endpunkte, Biomarker sowie bildgebende und elektrokardiographische Parameter [82]. Die Hintergrundüberlegungen für dieses Monitoring-Modell sind komplex und basieren auf wissenschaftlich fundierten und evaluierten Prognoseparametern. Dies macht allerdings die Anwendung im klinischen Alltag umso schwieriger, nicht zuletzt, weil auch einige der herangezogenen Parameter nur

Aussagekraft haben, wenn die Patient\*innen in kompensiertem Zustand sind und manche Parameter subjektiv oder Untersucher-abhängig erscheinen.

#### **4.6. Relevanz und Zielsetzung der Studie**

Nicht nur in der Therapie, sondern auch auf der Ebene der Prognosestellung und dem Krankheitsmonitoring von ATTR-CM braucht es in Zukunft bessere und objektivere Möglichkeiten. Etablierte Parameter der Prognose und des Monitorings beruhen derzeit einzig und allein auf den Erkenntnissen der hämodynamischen und neuroendokrinen Effekte bei Herzinsuffizienz, welche bei der ATTR-CM als restriktive Kardiomyopathie zum Tragen kommen. Die Pathophysiologie der ATTR-CM ist allerdings speziell, sollte daher differenziert betrachtet werden und benötigt vor allem eine Berücksichtigung der Effekte der Ablagerung der TTR-Aggregate im Gewebe. Außerdem werden bei bisher bekannten Risiko- und Monitoringsystemen die messbaren Parameter von inflammatorischen Prozessen stets ausgespart, obwohl erwiesen ist, dass Inflammation im Sinne einer *low-grade chronic inflammation* bei sowohl Herzinsuffizienz als auch ATTR-CM eine entscheidende Rolle in der Krankheitsprogression spielt.

Ziel dieser Studie ist, geringgradige systemische Inflammation anhand von IL-6 als prädiktiven Parameter für kardiovaskuläres Outcome bei Patient\*innen mit ATTR-CM zu evaluieren.

## **5. Methoden**

### **5.1. Methoden der Datenerfassung**

#### **5.1.1. Patient\*innenkollektiv - Hypertrophe Kardiomyopathien Register Graz**

Das Grazer Hypertrophe Kardiomyopathien Register (HCM-Register) wurde 2018 initiiert und soll als prospektive Kohortenstudie den Zweck erfüllen, eine standardisierte klinische Basischarakterisierung für alle teilnehmenden Patient\*innen zu gewährleisten, sowie die Erfassung von forschungsrelevanten Informationen aus Folgeuntersuchungen in Zukunft für eben jene Patient\*innen zu ermöglichen. Dafür in Betracht gezogen werden bis gegenwärtig alle Patient\*innen mit Zuweisung zur Spezialambulanz für Hypertrophe Kardiomyopathien der kardiologischen Abteilung des LKH Universitätsklinikums Graz. Dies umfasst ein breites Spektrum an Patient\*innen mit suspekter Myokardverdickung, welche auch sehr vom Ermessen der Zuweiser abhängt, sich in der Regel jedoch grob in drei Phänotypen unterteilen lässt: Die hypertrophe obstruktive Kardiomyopathie (HOOCM), die hypertrophe nicht-obstruktive Kardiomyopathie (HNOOCM), sowie die kardiale Amyloidose, welcher sich die Fragestellung dieser Studie widmet. Weitere darunter vorkommende Erkrankungen wären die hypertensive Kardiomyopathie, die kardiale Sarkoidose, die Hämochromatose oder der Morbus Anderson-Fabry.

Die Rekrutierung erfolgt im Rahmen der ambulanten Erstvorstellung der Patient\*innen. Nach sorgfältiger Aufklärung und Einholung der schriftlichen Einwilligung zur Teilnahme (Informed Consent) wird den Patient\*innen eine Phenonummer zugeteilt, welche sich chronologisch aufsteigend nach dem Datum der Unterzeichnung des Informed Consents richtet. Diese Phenonummer dient ab diesem Zeitpunkt als Referenz und zugleich als pseudonymisierte Verschlüsselung für sämtliche patient\*innenbezogene Daten, welche im Rahmen der Studie erhoben und verarbeitet werden.

Wann immer möglich wird im Zuge derselben Konsultation auch die Untersuchung zum Basiszeitpunkt (Baseline Untersuchung) durchgeführt. Das dafür angefertigte standardisierte Protokoll beinhaltet eine ausführliche Anamnese mit besonderem Augenmerk auf kardiovaskulären Symptomen und Grunderkrankungen sowie deren medikamentöser Behandlung. Aber auch allgemein-chronische Begleiterkrankungen und geriatrische Frailty-Anzeichen werden erfragt. Die physikalische Untersuchung umfasst

neben dem allgemeinen körperlichen und kardiovaskulären Status auch einen ausführlichen neurologischen Status mit Fokus auf etwaige sekundär akquirierte periphere Polyneuropathien, sowie einen 6-Minuten Gehstest und standardisierte Patient\*innenfragebögen. Eine Blutabnahme für sowohl direkt zu bestimmende Laborparameter als auch für eine Konservierung in der Biobank zur möglichen späteren Untersuchung, als auch für weiterführende genetische Testungen wird durchgeführt. Außerdem erfolgt eine transthorakale Echokardiographie.



**Abb. 2.** Untersuchungen im HCM-Registerprotokoll bei Studieneinschluss (Übersicht).

Die Erfassung sämtlicher Informationen aus Folgeuntersuchungen erfolgt zu einem späteren Zeitpunkt mithilfe eines elektronischen Krankenhausinformationssystems (siehe Kapitel 5.1.4.) und Eintragung in eine separate Listendatei. Nahezu alle Patient\*innen des HCM-Registers, welche relevante Pathologien aufweisen, kommen außerdem regelmäßig zu halbjährlichen oder jährlichen ambulanten Nachkontrollen in die Spezialambulanz, wo jeweils die Baseline Untersuchung in vereinfachter Form wiederholt wird.

### 5.1.2. Ethik-Votum und Informed Consent

Die Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz hatte für die HCM-Registerstudie erstmals mit der Sitzung vom 09.04.2018 ein Votum mit folgendem Ergebnis abgegeben: *Es besteht kein Einwand gegen die Durchführung der Studie in*

*vorliegender Form*. Durch Nachreichen von Zwischenberichten sowie Protokolländerungen kam es über die folgenden Jahre zu einigen Folgevotums, welche ebenfalls positiv ausfielen.

Der Informed Consent, welcher vor Einschluss von jedem/r Studienteilnehmer\*in unterzeichnet werden muss, umfasste folgende Informationen:

- Zweck, Ablauf und Nutzen der Studie
- Aufklärung, dass keine Risiken, Begleiterscheinungen bzw. Nachteile in der Behandlung für die Patient\*innen entstehen
- Aufklärung über Umgang mit Datenschutz und DSGVO-Richtlinien
- Angaben zu Kontaktinformationen der Prüfarzt\*innen sowie des Studienzentrums

Es gibt eine separate Einwilligungserklärung für die neurologische Untersuchung, die Aufbewahrung der Proben für die Biobank sowie die genetische Untersuchung. Jeder Informed Consent musste von einem/r Prüfarzt/Prüfärztin gegengezeichnet werden und wird mit dem Datum der Unterschrift gekennzeichnet. Danach wird eine Kopie davon angefertigt und den Studienteilnehmern mit nach Hause gegeben, während das Originaldokument im Studienzentrum aufbewahrt wird.

### **5.1.3. Laborchemische & -analytische Methoden**

Da im Rahmen dieser Studie Laborparameter in das statistische Modell einfließen, sowie der Interleukin-6 Plasmaspiegel als primäre Einflussgröße herangezogen wird, ist es von Bedeutung, den Zustand der Proben sowie das Analyseverfahren zu evaluieren und eine hohe Qualität jener zu gewährleisten. Die Analyse aller Blutproben der Patient\*innen des HCM-Registers werden vom krankenhausinternen klinischen Institut für medizinische und chemische Labordiagnostik (KIMCL) durchgeführt. Das KIMCL ist eine zertifizierte hochqualitative Laboreinrichtung, welche jährlich etwa 7 Millionen Laboranalysen durchführt und ausschließlich geschultes und routiniertes Fachpersonal beschäftigt.

Die Blutabnahme selbst erfolgt direkt von den Prüfarzt\*innen und Mitarbeiter\*innen des Studienzentrums unter Einhaltung allgemein gültiger Hygienerichtlinien. Anschließend läuft der Transport in das KIMCL sowie die Zentrifugation der Proben innerhalb von kurzen Zeitintervallen ab. Unmittelbar danach wird mit der Analyse eben jener begonnen. Die Analyse der meisten in die Studie einfließenden Parameter wird mittels verschiedener

Formen von Immunoassays durchgeführt, im Fall von Interleukin 6 (IL-6), welches aus Lithium Heparin Blut analysiert wird, geschieht dies mit einem Elektrochemilumineszenz Immunoassay (ECLIA).

#### **5.1.4. Endpunkterfassung mit open-MEDOCS®**

Für die Gewährleistung einer adäquaten und wahrheitsgetreuen Abfrage von klinischen Daten und Mortalitätsdaten in der untersuchten Kohorte wurde das elektronische Krankenhausinformationssystem openMedocs® verwendet. Dieses wird in der gesamten Steiermärkischen Krankenanstalten Gesellschaft (KAGES) sowohl für das Management stationärer Aufenthalte von Patient\*innen (elektronische Fieberkurve), als auch für die Langzeitdokumentation und Speicherung von Befunden (Patientenorganizer) herangezogen. Darüber hinaus kann man damit auch verlässlich Versicherten- und Todesdaten aller geführten Patient\*innen abfragen.

Untersucht wurde bei jedem der in die Studie eingeschlossenen Patient\*innen der Zeitraum ab dem ersten Tag nach Einschluss in das HCM-Register bis hin zum 31.07.2022. Berücksichtigt wurden alle Befunde und sonstigen medizinischen Dokumentationen, welche in openMedocs® über die jeweiligen Patient\*innen zu finden waren. Dies beinhaltet alle Konsultationen, welche an Standorten der KAGES im genannten Zeitraum stattfanden.

Die primären Endpunkte dieser Studie, Gesamtmortalität sowie Hospitalisierung oder ambulante Vorstellung aufgrund von Herzinsuffizienz (HF-Event), wurden nach streng definierten Kriterien (siehe Kapitel 5.1.5.) bewertet. Darüber hinaus wurden aber auch viele weitere Endpunkte aus dem kardiovaskulären Endpunktspektrum für etwaige spätere Analysen erhoben. Es wurde außerdem auch erfasst, zu welchem Zeitpunkt die Diagnose ATTR-CM gestellt und wann und ob das kausale orale Therapeutikum Tafamidis etabliert worden war.

Sämtliche gesammelte Daten wurden in eine Liste eingetragen und mit Kommentaren versehen. Da openMedocs® nur Informationen aus Standorten der KAGES speichert, die Studienpatient\*innen aber natürlich auch in externen Häusern stationär waren, entstand hier ein gewisser Informationsbias. Es wurde versucht, diesem entgegenzuwirken, indem bei unklaren Fällen relevanter Endpunkte, wenn möglich die benötigten Informationen von

extern eingeholt wurden. Sobald es einen schriftlichen oder mündlichen Hinweis gab, dass ein Patient in einem externen Krankenhaus aufgrund einer kardialen Dekompensation hospitalisiert gewesen war, wurde versucht, die diesbezügliche Dokumentation direkt über die Patient\*innen oder über Kontaktaufnahme mit dem jeweiligen Krankenhaus einzuholen.

### 5.1.5. Definitionen relevanter Endpunkte

Die Definition der beiden für die Fragestellung der Studie herangezogenen Endpunkte Gesamtmortalität sowie HF-Event orientierte sich an dem 2018 in der Fachzeitschrift *Circulation* publizierten Consensus Report *2017 Cardiovascular and Stroke Endpoint Definitions for Clinical Trials* [83].

Um von einem HF-Event sprechen zu können, braucht es demzufolge einerseits die Krankenhaushauptdiagnose *Herzinsuffizienz* oder *Kardiale Dekompensation* im entsprechenden Arztbrief beziehungsweise dem Ambulanzbericht. Zweitens muss zumindest ein klinisches Zeichen der Herzinsuffizienz vorliegen (Dyspnoe, Erschöpfung, Leistungsminderung). Zudem müssen zumindest zwei typische Herzinsuffizienz-Befunde aus der körperlichen Untersuchung positiv sein (periphere Ödeme, Aszites, auskultatorisch ein 3. Herzton, auskultatorische Zeichen eines Lungenödems, erhöhter Jugularvenendruck, positiver hepatojugulärer Reflux bzw. eine rapide Gewichtszunahme aufgrund von Flüssigkeitsüberladung). Oder aber es ist nur einer der oben aufgezählten Untersuchungsbefunde positiv und dafür noch eines der folgenden Indizien aus der Laboruntersuchung bzw. Bildgebung:

- NT-proBNP Plasmakonzentration erhöht > 2000 pg/ml
- Radiologischer Nachweis einer pulmonalvenösen Stauung
- Echokardiographischer Nachweis von erhöhten links- bzw. rechtsventrikulären Füllungsdrücken beziehungsweise einer verminderten ventrikulären Auswurfraction
- Im Rechtsherzkatheter nachgewiesener Lungenkapillaren-Verschchlussdruck > 18 mmHg, ein zentralvenöser Druck > 12 mmHg oder ein Cardiac-Index < 2,2 L/min/m<sup>2</sup>

Darüber hinaus muss noch zumindest eine der folgenden therapeutischen Maßnahmen ergriffen worden sein:

- Signifikante Steigerung der oralen diuretischen Therapie wie etwa eine Verdoppelung der Diuretika-Dosis, wobei die diuretische Therapie auf jeden Fall ein Schleifendiuretikum beinhalten muss
- Die Notwendigkeit der intravenösen diuretischen Therapie oder die Verabreichung von Vasopressoren / Inotropika bzw. Vasodilatoren.
- Der Gebrauch von mechanischer Kreislaufunterstützung wie etwa eine extrakorporale Membranoxygenierung oder eine intraaortale Ballonpumpe
- Anwendung von mechanischem Flüssigkeitsentzug durch Hämofiltration, Ultrafiltration oder Dialyse [83].

Der Endpunkt Gesamtmortalität beinhaltet sowohl kardiovaskulären Tod, nichtkardiovaskulären Tod, als auch sämtliche Todesfälle ohne weiterführende Informationen zum genauen Todeshergang. Für die Fragestellung dieser Studie wurde ein kombinierter primärer Endpunkt aus HF-Event und Gesamtmortalität gewählt.

### **5.1.6. Ein- und Ausschlusskriterien**

Die für die Studie definierten Einschlusskriterien sind wie folgt: Zum ersten muss von allen Patient\*innen der schriftliche Informed Consent vorliegen. Des Weiteren muss die Diagnose der ATTR-CM gesichert sein. Dies geschah entweder über eine positive Myokardbiopsie oder durch einen ATTR-CM typischen Befund in der <sup>99m</sup>Tc-Phosphat-Skelettszintigraphie mit einem entsprechend hohem Tracer-Uptake, deklariert als Perugini-Score II oder III bei gleichzeitigem Ausschluss einer monoklonalen Gammopathie mittels Serum- und Harnelektrophorese, anschließender Immunfixation und Bestimmung der freien Leichtketten. Darüber hinaus muss ein Interleukin-6 Laborwert zum Einschlusszeitpunkt vorliegen.

Zu den Ausschlusskriterien zählen ein Studienausstieg sowie schlechte Patient\*innenadhärenz. Letztere ist gegeben, wenn die Studienteilnehmer\*innen zum Beispiel nicht mehr zu den ambulanten Kontrollen erscheinen, schlecht erreichbar sind oder Arztbesuche sowie medizinische Behandlungen grundsätzlich verweigert. ATTR-CM Patient\*innen, welche ihre Diagnose in einem anderen Land oder Bundesland erhalten

hatten und zusätzlich auch die Dokumentation der Krankengeschichte außerhalb des openMedocs-Netzwerks der KAGES stattgefunden hatte, wurden ebenso exkludiert.

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Unterzeichneter Informed Consent</li> <li>• IL-6 Basiswert vorhanden</li> <li>• Gesicherte Diagnose ATTR-CM (<i>1 von 2</i>)               <ul style="list-style-type: none"> <li>- Myokardbiopsie positiv</li> <li>- Perugini <math>\geq</math> II in <math>^{99m}\text{Tc}</math>-Phosphat Skelettszintigraphie <i>und</i> Ausschluss MGUS in Serum- &amp; Harnlektrophorese sowie freier Leichtketten in Immunfixation</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Rücktritt aus der Studie</li> <li>• Schlechte Patient*innenadhärenz</li> <li>• Diagnose und Therapie in fremdem Krankenhausinformationssystem abgewickelt und dokumentiert</li> </ul>

**Tab. 2.** Übersicht Ein- und Ausschlusskriterien.

## 5.2. Methoden der Statistik

### 5.2.1. Allgemeines

Sämtliche statistische Kalkulationen wurden mit dem Software-Programm IBM SPSS Statistics® V. 29.0 durchgeführt. Alle Datensätze wurden zunächst importiert und die einzelnen Variablen danach entsprechend ihrer Verwendung als nominal, ordinal oder metrisch kodiert. Alle Rechenvorgänge wurden doppelt überprüft und von professionellen Statistikern validiert.

### 5.2.2. Charakterisierung zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung

Für die Baseline Charakterisierung wurden für die entsprechenden Variablen deskriptive statistische Methoden angewandt. So wurden relative und absolute Häufigkeiten, Mittelwerte, Mediane, Standardabweichungen, Perzentilen und Varianz ermittelt. Für metrische Variablen wurde der Shapiro-Wilk Test auf Normalverteilung herangezogen. Die deskriptiven Merkmale der Stichprobe wurden graphisch in Form von Tabellen und Grafiken dargestellt (siehe Kapitel Resultate).

### 5.2.3. Beobachtungszeitraum und Time-to-Event - Analyse

Da die Patient\*innen zu unterschiedlichen Zeitpunkten in die Studie eingeschlossen worden waren, wurde als nächstes der Beobachtungszeitraum für alle Patient\*innen berechnet. Daraufhin folgte eine *Time to Event* Analyse. Das heißt, es wurde für jeden/e Patient\*in die Zeit in Tagen ermittelt, welche es brauchte, bis das erste endpunktäquivalente Ereignis eintrat. Alle Fälle, welche den kombinierten Endpunkt nicht erreichten, wurden statistisch zensiert. Das Gesamtüberleben in der Studienpopulation wurde mit einem Kaplan-Meier Diagramm grafisch dargestellt.

### 5.2.4. Uni- und multivariate COX-Regressionsanalyse

Die COX-Regressionsanalyse ist eine Form der Überlebensanalyse und kann eine Schätzung liefern, welchen Effekt eine Einflussgröße, in diesem Fall der Biomarker IL-6 auf die Überlebenszeit einer Patient\*innenkohorte hat. Synonym wird auch der Begriff proportionales Hazard Modell verwendet [84].

Die Überlebenszeiträume der einzelnen Patient\*innen müssen bei der COX-Regressionsanalyse kein bestimmtes Verteilungsmuster annehmen. Die Hazard Funktion, welche hier mathematisch zur Verwendung kommt, bezeichnet die Wahrscheinlichkeit, dass dem/der untersuchten Patient\*in pro Zeitintervall das Zielereignis, in diesem Fall der kombinierte Endpunkt aus Mortalität und HF-Event widerfährt [84].

Die COX-Regressionsanalyse existiert in univariater als auch in multivariater Form. Diese unterscheiden sich in der Auswahl an die in das Rechenmodell einfließenden unabhängigen Variablen. Jeder einzelne Parameter, welcher bei der multivariaten COX-Regression im Modell enthalten ist, kann das Ergebnis signifikant verändern. Das heißt, die einzelnen Kovariaten definieren eine bestimmte Einflussstärke im Sinne eines Regressionskoeffizienten. Verändert sich der Wert einer Kovariate, dann ändert sich auch die proportionale Hazard [84]. Die unabhängigen Variablen können dabei sowohl metrisch als auch kategorial imponieren.

Es gibt bestimmte statistische Voraussetzungen, die erfüllt sein müssen, damit die in das Modell einfließenden Kovariaten eine treffsichere Interpretation zulassen. Eine davon verlangt, dass die Kovariaten untereinander nicht zu stark korrelieren dürfen. Dies wäre

dann als Multikollinearität zu werten. Eine Korrelation zweier unabhängiger Variablen  $>0,7$  spräche zum Beispiel für eine starke Multikollinearität. Weitere Indikatoren, welche im Rahmen der Multikollinearitätsdiagnose in diesem Modell überprüft wurden, sind der *Variance Inflation Factor* (VIF), welcher nicht  $> 10$  sein sollte, sowie das Toleranzlevel, welches  $> 0,2$  betragen sollte.

In dieser Studie wurde die metrische Variable IL-6 zum Basiszeitpunkt als Haupteinflussparameter der COX-Regressionsanalyse gewählt. Für das multivariate Modell wurde die Funktion um folgende Kovariaten ergänzt: Alter (metrisch), Einnahme von Tafamidis (kategorial), NT-proBNP angepasst an die Nierenfunktion (metrisch), sowie die Urin Protein/Kreatinin Ratio (UPCR, metrisch). Die Adjustierung der NT-proBNP Spiegel entsprechend der Nierenfunktion wurde mit einer Berechnungsformel vorgenommen, welche am LKH Universitätsklinikum Graz standardisierte Anwendung findet und auf eine Publikation von *Luchmann et al.* aus dem Jahr 2010 zurückgeht [85].

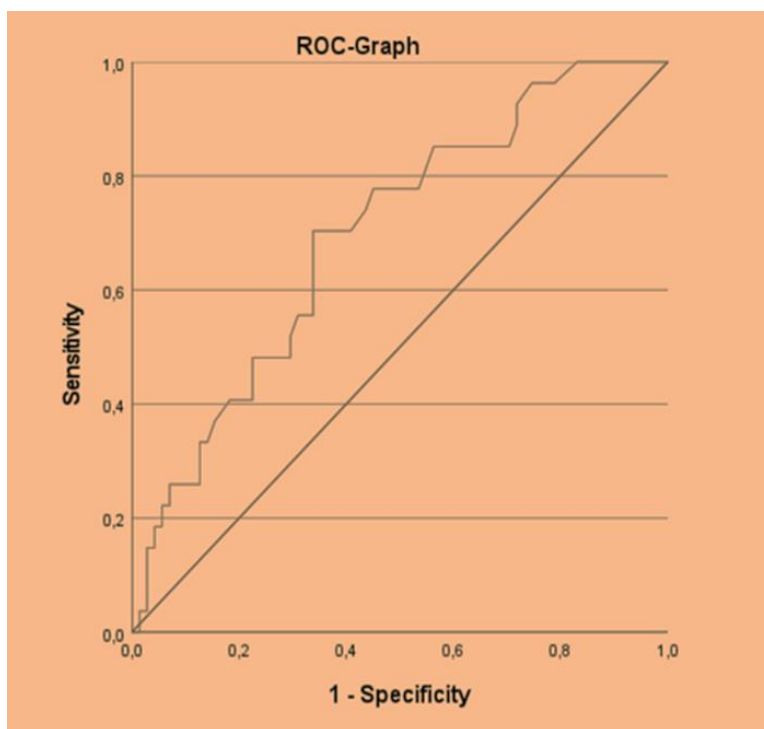
Da bei der grafischen Darstellung mittels Überlebenskurven durch die COX-Regression die Kurven nur geschätzt werden, nur unzensierte Fälle enthalten und damit nicht den exakten Daten für die gesamte Population entsprechen, wurde die grafische Überlebenskurve über die Kaplan-Meier-Analyse zur Darstellung gebracht. Die hierbei generierte Überlebenskurve enthielt nun alle Fälle, inklusive der vorher zensierten Patient\*innen, das heißt all jenen Patient\*innen, welche das Zielereignis des kombinierten Endpunktes im Beobachtungszeitraum nicht erreicht hatten.

### **5.2.5. ROC-Analyse & Youden's Index**

Um aus den Ergebnissen der im COX-Regressionsmodell berechneten Hypothese eine relevante Aussage für den klinischen Alltag treffen zu können, wurde eine *Receiver Operating Characteristic* Analyse (ROC-Analyse) mit einer Grenzwertoptimierungskurve (ROC-Kurve) durchgeführt. Da die Variable IL-6 ein quantitativer Laborparameter ist, die Fragestellung der Studie allerdings die qualitative Information erfordert, ob durch IL-6 der Endpunkt beeinflusst wird oder nicht, musste die Einflussgröße IL-6 durch die Ermittlung eines Schwellenwertes indirekt diesen qualitativen Charakter zugeteilt bekommen. Dies geschah über die ROC-Kurve. Dabei wird die Sensitivität mit der Spezifität (genauer genommen der 1-Spezifität) eines Wertes, aufgesplittet in einzelne Grenzwerte, über einen

bestimmten Bereich variiert. Dies ergibt dann für jeden Grenzwert eine andere Kombination aus Sensitivität und Spezifität für die Endpunktfragestellung [86].

Die Kurve, welche bei Verbindung der Werte im Koordinatensystem dabei entsteht, ist die ROC-Kurve. Der Youden Index hilft dabei, den optimalen Schwellenwert für IL-6 zu ermitteln. Er stellt denjenigen Wert dar, welcher in der Grenzwertoptimierungskurve die größtmögliche Sensitivität bei gleichzeitig größtmöglicher Spezifität aufweist. Derjenige IL-6 Grenzwert, welcher respektive den maximalen Youden Index aufweist, wird also als idealer Schwellenwert für die Unterteilung der Werte in zwei Gruppen hinsichtlich der Prädiktion des primären Endpunktes herangezogen. Im Berechnungsmodell dieser Studie ergab sich ein maximaler Youden Index von 0,366, welcher respektive bei einem IL-6 Wert von 5,3 pg/ml zu finden war. Hierbei betrug die Spezifität 66% und die Sensitivität 70%.



**Abb. 3.** Grenzwertoptimierungskurve für IL-6 bezogen auf Prädiktion des primären Endpunktes.

Zuletzt wurden noch die Überlebensraten bzw. Eventraten in den beiden Patient\*innengruppen untersucht. Gruppe A, weiterhin bezeichnet als Hochrisikogruppe, beinhaltete alle Patient\*innen mit IL-6 Werten von 5,3 pg/ml oder mehr. Gruppe B, folglich Niedrigrisikogruppe beinhaltete alle Patient\*innen mit IL-6 Werten unter 5,3 pg/ml. Um zu prüfen, ob sich die Überlebensraten in den beiden Gruppen signifikant unterscheiden, wurde ein Log Rank Test herangezogen.

## 6. Resultate

### 6.1. Merkmale der Kohorte

In dieser Studie wurden insgesamt 98 Patient\*innen mit gesicherter ATTR-CM Diagnose untersucht. Diese wurden entsprechend der Höhe der jeweils gemessenen Plasmaspiegel von IL-6 in eine Hochrisikogruppe mit 43 Patient\*innen ( $IL-6 \geq 5,3$  pg/ml) sowie eine Niedrigrisikogruppe mit 55 Patient\*innen ( $IL-6 < 5,3$  pg/ml) eingeteilt. Danach wurden sie entsprechend ihrer klinischen und laborchemischen Merkmale zum Zeitpunkt der Basisuntersuchung für die Höhe von IL-6 entsprechend den beiden Risikogruppen stratifiziert.

Für die Kohorte ergibt sich insgesamt ein medianes Alter von 79 Jahren (IQR: 76-81), 86 Patient\*innen (88%) sind männlich. Der Body-Mass-Index (BMI) der Kohorte beträgt im Median 25,3 (IQR: 23,1-27,5). Beurteilt nach der Schwere der Herzinsuffizienzsymptomatik entsprechend der NYHA-Klassifikation weisen 21 % der Patient\*innen NYHA Grad I, 24 % NYHA II, 35% NYHA III und 3% NYHA IV auf. Einen arteriellen Hypertonus haben 68 (69%) und unter paroxysmaler oder permanenter VHFA leiden 53 (54%). Auch die bereits etablierte Dauermedikation wurde zum Basiszeitpunkt erhoben. 46 Patient\*innen (47%) nehmen zum Basiszeitpunkt bereits das Medikament Tafamidis ein.

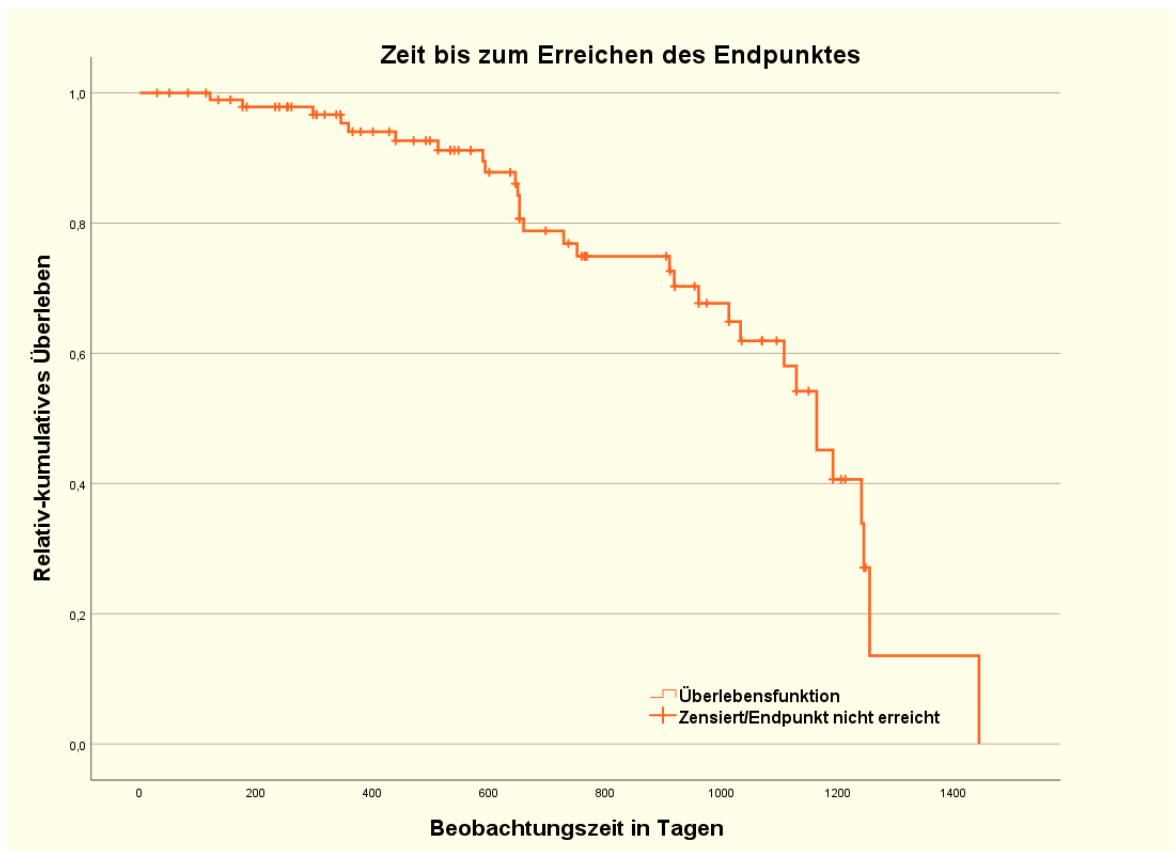
Die Höhe von NT-proBNP beträgt im Median 2813 pg/ml (IQR: 1365-4856) und nach Adjustierung entsprechend der Nierenfunktion 1728 pg/ml (IQR: 923-2794). Die mittlere geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) beträgt 57,9 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (SD: ±17,6) und die mediane UPCR 122 (IQR: 89,8-204,5). Die mediane Höhe von Hämoglobin (Hb) beläuft sich auf 13,4 (IQR: 12,5-14,5) und das mediane Serumkreatinin beträgt 1,1 mg/dl. Die Höhe des IL-6 selbst beträgt im Median 4,9 pg/ml (IQR: 3,0-9,4), das hsTnT ist im Median 56,0 pg/ml (IQR: 37,5-82,3).

**Tabelle: Charakteristika zum Basiszeitpunkt von 98 ATTR-CM Patient\*innen stratifiziert nach der Höhe der IL-6 Spiegel**

	<b>Gesamte Kohorte</b> N=98	<b>Hochrisiko</b> [IL-6 ≥5,3 pg/ml] N=43	<b>Niedrigrisiko</b> [IL-6 <5,3 pg/ml] N=55	<b>P-Wert</b>
<b><u>Demografisches</u></b>				
Alter, Jahre	79 (76-81)	79 (77-81)	79 (74-81)	0,091
Männliches Geschlecht, n (%)	86 (88)	37 (86)	49 (89)	0,760
<b><u>Klinische Indizien</u></b>				
SBP, mmHg	133±19	129±16	137±20	0,057
DBP, mmHg	78±12	78±10	78±13	0,924
BMI, kg/m <sup>2</sup>	25,3 (23,1-27,5)	24,3 (22,6-27,2)	25,8 (23,5-27,6)	0,126
NYHA I, n (%)	21 (21)	8 (19)	13 (24)	0,625
NYHA II, n (%)	23 (24)	9 (21)	14 (26)	0,639
NYHA III, n (%)	34 (35)	20 (47)	14 (26)	<b>0,035</b>
NYHA IV, n (%)	3 (3)	1 (2)	2 (4)	1,000
Arterieller Hypertonus, n (%)	68 (69)	29 (67)	39 (71)	0,828
VHFA, n (%)	53 (54)	30 (70)	23 (42)	<b>0,008</b>
SM, n (%)	21 (21)	9 (21)	12 (22)	1,000
<b><u>Medikation</u></b>				
BB, n (%)	47 (52)	23 (59)	24 (48)	0,393
ACEi/ARB, n (%)	41 (45)	18 (46)	23 (45)	1,000
MRA, n (%)	37 (41)	18 (46)	19 (37)	0,517
Schleifendiuretika, n (%)	60 (61)	31 (72)	29 (53)	0,062
Tafamidis, n (%)	46 (47)	19 (44)	27 (49)	0,686
<b><u>Laborindizien</u></b>				
NT-proBNP, pg/ml	2813 (1365-4856)	4463 (2957-6370)	1816 (987-3270)	<b>&lt;0,001</b>
NT-proBNP/eGFR adjustiert, pg/ml	1728 (923-2794)	2353 (1475-3868)	1524 (738-2120)	<b>&lt;0,001</b>
hsTnT, pg/ml	56,0 (37,5-82,3)	83,0 (61,0-107,0)	41,0 (27,0-56,0)	<b>&lt;0,001</b>
eGFR, ml/min/1,73m <sup>2</sup>	57,9±17,6	51,1±16,8	63,5±16,5	<b>&lt;0,001</b>
UPCR, mg/g	122,0 (89,8-204,5)	169,0 (123,0-256,0)	102,0 (79,0-153,0)	<b>&lt;0,001</b>
Kreatinin, mg/dl	1,1 (1,0-1,3)	1,25 (1,0-1,6)	1,08 (0,9-1,5)	<b>&lt;0,001</b>
hsCRP, mg/L	2,2 (1,3-4,2)	3,2 (1,9-10,2)	1,5 (0,9-3,6)	<b>&lt;0,001</b>
Hb, g/dl	13,4 (12,5-14,5)	13,2 (12,1-14,5)	13,7 (12,9-14,6)	<b>0,024</b>
MCV, fL	91,5 (87,7-84,1)	91,2 (88,1-92,9)	92,1 (87,2-94,5)	0,487
HbA1c, mmol/mol	41 (38,8-44,0)	41 (39-44)	41 (38-44)	0,827

**Tab. 3.** Links: Basischarakteristika mit Häufigkeiten und Angaben von Interquartilsabstand, Standardabweichung und prozentueller Häufigkeiten bezogen auf die Höhen von IL-6. Signifikanzangaben der Parameter hinsichtlich Prädiktion für IL-6. Signifikanzniveau  $\alpha = 5\%$ .

## 6.2. Mortalität und Hospitalisierung: 28% Prävalenz



**Abb. 4.** Risiko-Zeit Relation für die untersuchte Kohorte. Relativ-kumuliertes Überleben impliziert Ausbleiben des primären Endpunktes (Gesamt mortalität und HF-Ereignis).

Die gesamte Kohorte wurde im Durchschnitt 21,2 Monate lang beobachtet (CI95: 11,4; 32,4). Während des Beobachtungszeitraums erreichten 27 Patient\*innen (28%) den kombinierten Endpunkt aus HF-Event und Tod jeglicher Ursache. Die Zeit bis zum Erreichen des Endpunktes bzw. des Überlebens in der gesamten Kohorte betrug im Median 33,9 Monate (CI95: 30,0-37,8).

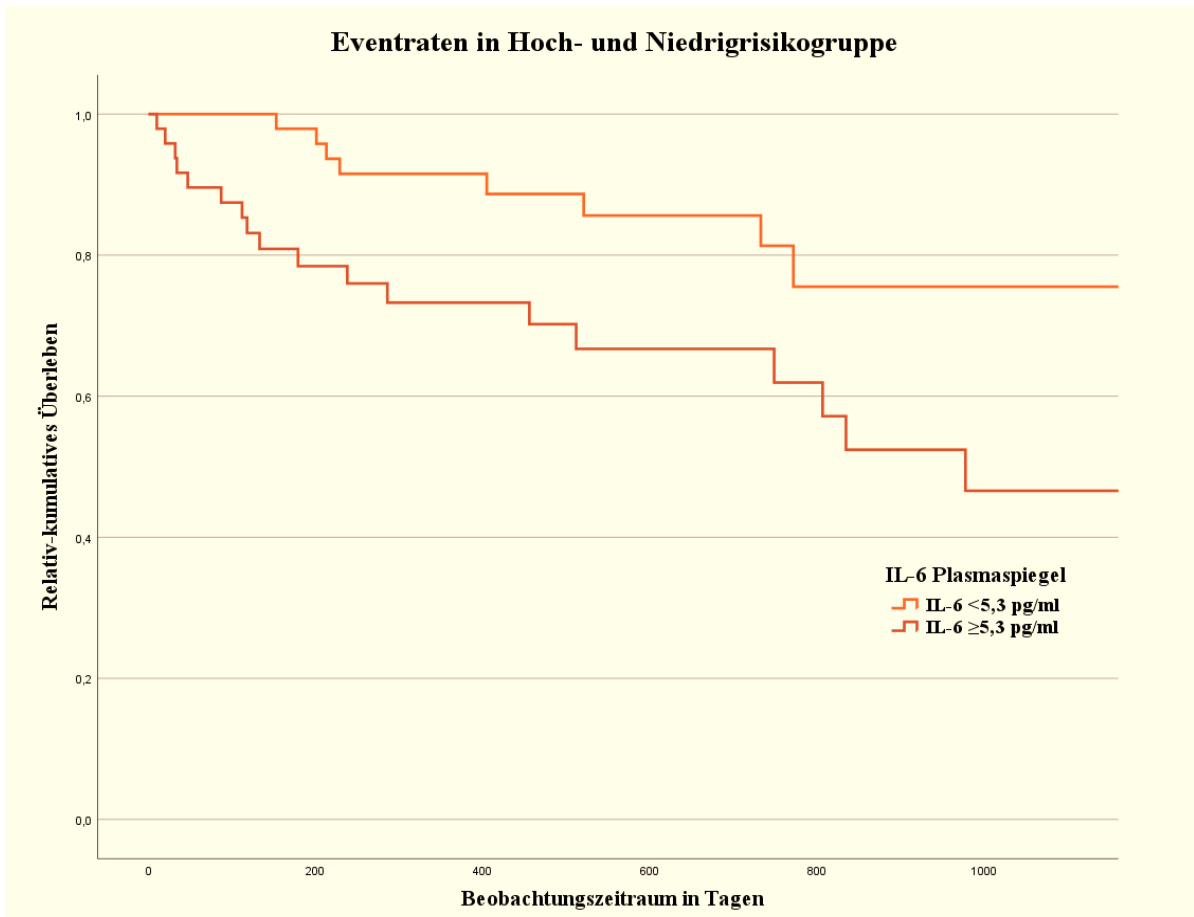
<b>Eventraten innerhalb der Kohorte</b>				
	<b>Patient*innen, n</b>	<b>Events, n</b>	<b>Zensiert, n</b>	<b>Mittlere Überlebenszeit in Tagen (CI95)</b>
<b>IL-6 &lt;5.3 pg/ml</b>	55	<b>8 (14,5%)</b>	47 (85,5%)	1074 (966, 1181)
<b>IL-6 ≥5.3 pg/ml</b>	43	<b>19 (54,2%)</b>	24 (55,8%)	841 (650, 1033)
<b>Gesamtkohorte</b>	98	<b>27 (27,6%)</b>	71 (72,4%)	1030 (911, 1150)

**Tab. 4.** Unterschiedliche Anzahl an Events (erreichten Endpunkten) für beide IL-6 Gruppen & mittlere Überlebenszeit in Tagen. In Klammer jeweils die dazugehörigen relativen Häufigkeiten innerhalb der jeweiligen Gruppe sowie das 95-prozentige Konfidenzintervall.

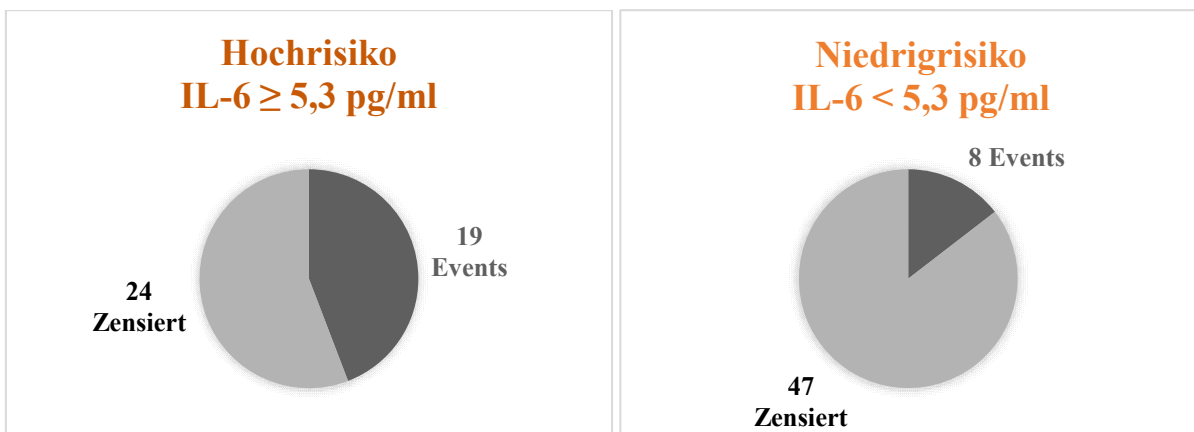
### **6.3. Interleukin-6 beeinflusst Gesamtmortalität und Herzinsuffizienzereignisse**

Erhöhte IL-6 Plasmaspiegel waren mit dem primären Endpunkt, einer gesteigerten Gesamtmortalität sowie einem vermehrten Auftreten von HF-Events assoziiert (HR: 1,028; CI95 = 1,004-1,051;  $p = 0,012$ ). In der Hochrisikogruppe (IL-6  $\geq 5,3$  pg/ml) war die Zeitspanne bis zum Eintreten des Endpunktes mit durchschnittlich 27,6 Monaten (CI95: 21,4; 34,0) kürzer als in der Niedrigrisikogruppe (IL-6 < 5,3 pg/ml) mit durchschnittlich 35,3 Monaten (CI95: 31,8; 38,8). Mithilfe eines Log-Rank Tests wurde ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Eventraten in den beiden Gruppen bestätigt ( $p=0,002$ ).

Auch die absoluten Häufigkeiten der aufgetretenen Endpunkte unterschieden sich in den beiden Gruppen deutlich. In der Hochrisikogruppe erreichten 19 Patient\*innen (54,2%) und in der Niedrigrisikogruppe nur 8 (14,5%) den primären Endpunkt.



**Abb. 5.** Risiko für den Endpunkt in Abhängigkeit von der Beobachtungszeit in den unterschiedlichen Risikogruppen von IL-6. Darstellung mittels Kaplan-Meier Schätzung.



**Abb. 6.** Grafische Darstellung der absoluten Häufigkeiten des Vorkommens von HF-Events in den beiden Risikogruppen.

## 6.4. Interleukin-6 als unabhängiger Prognosefaktor im multivariaten Modell

Nachdem sich die Assoziation von IL-6 mit dem Endpunkt in der univariaten COX-Regressionsanalyse bestätigt hatte, wurde die Analyse um vier Kovariaten erweitert. Hierfür wurden die Parameter Alter, Einnahme von Tafamidis, NT-proBNP adjustiert auf die Nierenfunktion, sowie die UPCR als für diese Krankheit etablierte Risikofaktoren verwendet.

Folgende korrigierte Werte ergaben sich nach Anwendung der multivariaten COX-Regression:

Parameter	Hazard Ratio, adjustiert	CI95 und P-Wert
IL-6	1,034	1,006, 1,064; p = 0,018
Alter	1,090	0,991, 1,200; p = 0,077
Einnahme von Tafamidis	0,390	0,161, 0,945; p = 0,037
NT-proBNP (eGFR-adjustiert)	1,812	1,066, 3,082; p = 0,028
Protein-/Kreatinin-Ratio	1,001	1,001, 1,002; p = 0,001

**Tab. 5.** Parameter im multivariaten COX-Regressionsmodell. Dazugehörig die entsprechenden auf das Modell adjustierten Hazard-Ratios, Angaben zum Konfidenzintervall sowie Signifikanz.

Bei der Überprüfung der Parameter im Rahmen der Multikollinearitätsdiagnose ergab sich für alle Werte ein VIF von  $< 10$  sowie eine Toleranz von jeweils  $> 0,2$ . Somit konnte bestätigt werden, dass zwischen den einflussnehmenden Parametern keine störende Multikollinearität vorliegt.

## 6.5. Überblick der wichtigsten Resultate

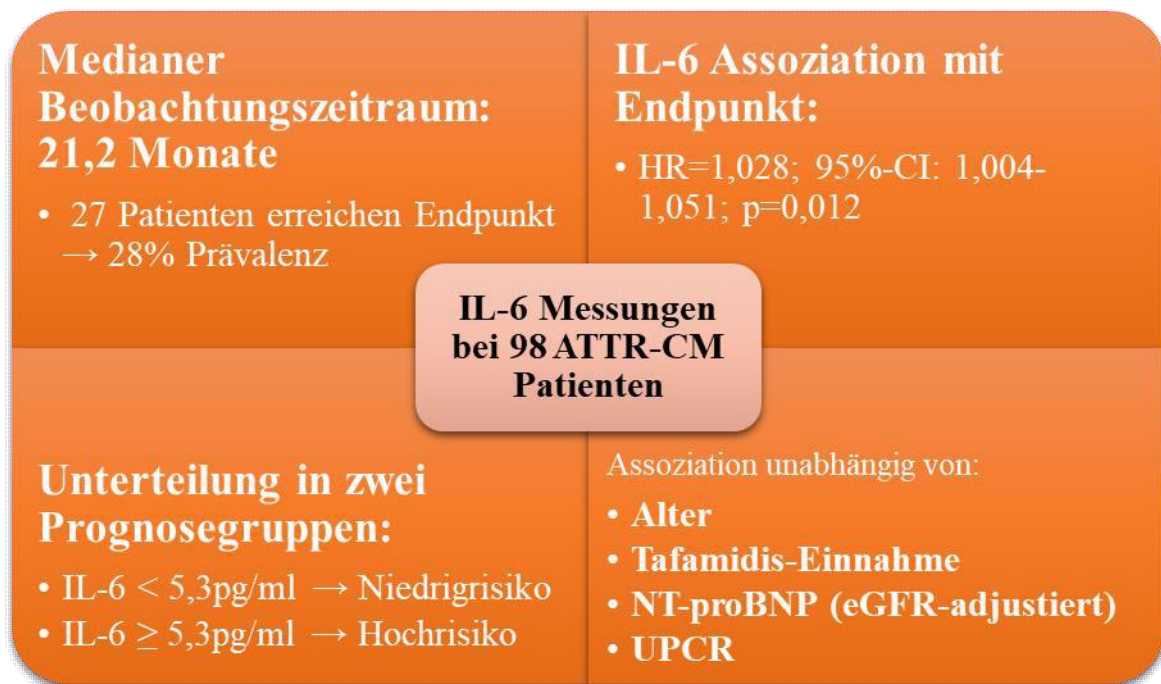


Abb.7. Die wichtigsten Studienresultate in der Übersicht.

## 7. Diskussion

### 7.1. Interleukin-6 ist assoziiert mit erhöhter Mortalität und Herzinsuffizienz-bedingte Hospitalisierungen

Der kombinierte Endpunkt aus Gesamtmortalität und HF-Events wies in der Gesamtkohorte über den ganzen Beobachtungszeitraum eine Prävalenz von 28% auf. Das bedeutet, dass 27 von 98 Patient\*innen in dieser Zeit entweder wegen Herzinsuffizienz hospitalisiert waren oder aus jedwedem Grund starben. Die mediane Zeit bis zum Eintreten des Endpunktes in der gesamten Kohorte lag bei 33,9 Monaten (CI95: 30,0-37,8). Die absoluten Eventraten zwischen den beiden IL-6 Risikogruppen in dieser Studie unterschieden sich signifikant. Während in der Niedrigrisikogruppe lediglich 8 Events (Tod oder HF-Event) und damit nur in 15% der Fälle in der Gruppe auftreten, sind es in der Hochrisikogruppe 19 und damit 54%. Eine ähnliche Verteilung kann man auch bei den Kohorten von *Gillmore et al.* sowie *Grogan et al.* bei den höheren Risikogruppen im Vergleich zu niedrigeren sehen [80, 81].

Die Hauptfragestellung dieser Studie, ob IL-6 Plasmaspiegel bei ATTR-CM Patient\*innen prädiktiv für Mortalität und HF-Events sind, konnte mit einer Hazard Ratio von 1,028 [95%-CI: 1,004-1,051] positiv beantwortet werden. Um eine quantifizierbare prognostische Aussage vor dem Hintergrund dieser Assoziation tätigen zu können, wurde mittels ROC-Analyse und Youden Index der ideale prädiktive Schwellenwert für IL-6 ermittelt. Dieser betrug 5,3 pg/ml. Patient\*innen mit  $IL-6 \geq 5,3 \text{ pg/ml}$  hatten ein deutlich erhöhtes Mortalitätsrisiko und größere Eventraten als Patient\*innen darunter. Die Datenlage in der internationalen Literatur zeigte bereits zuvor im Rahmen großer klinischer Studien mit HFpEF-Patient\*innen, also einem Krankheitsmuster, welches in vielen Facetten auch bei der ATTR-CM zu finden ist, dass hohe IL-6 Plasmaspiegel mit schlechterem klinischem Outcome assoziiert sind [49, 50].

In dieser Studie wurde außerdem die Assoziation von IL-6 mit dem Endpunkt nicht nur univariat, sondern auch unter der Berücksichtigung möglicher Confounder untersucht. IL-6 blieb nach multivariater COX-Regression mit den Kovariaten Alter, Tafamidis-Einnahme, NT-proBNP (eGFR-adjustiert) und UPCR weiterhin signifikant mit dem kombinierten Endpunkt assoziiert. Dies bestätigt, dass IL-6 unabhängig von gängigen prognostischen

Parametern mit Outcome assoziiert ist und hebt den prognostischen Wert desselben im Hinblick auf Krankheitsaktivität und -komplikationen bei ATTR-CM hervor.

In der vorliegenden Registerstudie handelt es sich um die Analyse einer *Real World-Kohorte*, in der auch die Einnahme von krankheitsspezifischer Therapie (Tafamidis-Einnahme) im Cox-Regressionsmodell berücksichtigt wurde. Diese Tatsache verleiht der Studie Relevanz hinsichtlich der Prognostik bei ATTR-CM. Bis dato werden in den angewandten Prognosemodellen für ATTR-CM lediglich die Biomarker NT-proBNP mit hsTnT bzw. NT-proBNP mit eGFR als Variablen für die Risikostratifikation herangezogen [80, 81]. Diese lassen eine einfache Aussage über die mittlere erwartete Überlebenszeit zu. Es gibt aber Kritikpunkte zu den beiden etablierten Modellen. Zum Ersten hatten *Gillmore et al.* sowie *Grogan et al.* in ihren Studien lediglich mit dem isolierten Endpunkt Mortalität gearbeitet. Im Krankheitsverlauf der ATTR-CM sind allerdings auch andere Endpunkte von Interesse, wie etwa das Risiko, wegen einer kardiovaskulären Ursache hospitalisiert zu werden. Die vorliegende Studie beinhaltet daher einen kombinierten Endpunkt aus Gesamtmortalität und HF-Events, was eine heterogene Bewertung der prognostischen Qualität des untersuchten Biomarkers IL-6 gewährleistet.

Eine Arbeit von *Hein et al.* hat sich bereits mit dem Thema erhöhter IL-6 Spiegel bei 106 ATTR-CM Patient\*innen und ihrem Einfluss auf das Outcome beschäftigt [87]. Es zeigten sich ähnliche Baseline-Charakteristika für die gesamte Kohorte und auch ein ähnlich geringer mittlerer IL-6 Wert (4,18 pg/ml). Es gab zwei primäre Endpunkte: Gesamtmortalität oder die Notwendigkeit einer Herztransplantation (HTX) sowie die Kombination aus Mortalität/HTX und kardialer Dekompensation. In der Studie von *Hein et al.* war IL-6 im univariaten Regressionsmodell schlussendlich zwar mit beiden Endpunkten assoziiert, als das Modell aber um einige ebenfalls mit den Endpunkten in Verbindung stehenden Variablen erweitert wurde, verlor IL-6 seine prognostische Bedeutung [87]. In der vorliegenden Studie jedoch blieb IL-6 nach multivariater COX-Regression mit den Variablen Alter, Tafamidis-Einnahme, NT-proBNP (eGFR-adjustiert) und UPCR weiterhin signifikant mit dem kombinierten Endpunkt assoziiert. Eine mögliche Erklärung für diese Ergebnisdifferenz findet sich in der Auswahl der einfließenden Parameter. Bei *Hein et al.* wurden insgesamt 7 weitere Parameter (Alter, eGFR, NT-proBNP, TnT, NYHA-Klasse, Herzgewicht, Septumdicke) in das Modell aufgenommen, während es bei der vorliegenden Studie nur 4 sind. Es besteht bei verhältnismäßig vielen Parametern für die mit 106 Patient\*innen eher kleine Fallzahl zudem auch eine sehr große Chance, dass die Parameter

sich untereinander entscheidend beeinflussen. In vorliegender Studie wurden die einfließenden Parameter mit Bedacht gewählt, jeder davon ist stark mit Outcome assoziiert, die Korrelation untereinander hält sich aber in einem vernachlässigbaren Ausmaß, wie letztendlich mittels Multikollinearitätsdiagnose sichergestellt werden konnte (siehe Kapitel 5).

## **7.2. Interleukin-6 ist assoziiert mit fortgeschrittenen Krankheitsstadien**

Betrachtet man die 98 in die Studie eingeschlossenen Patient\*innen stratifiziert in Hoch- bzw. Niedrigrisikogruppe anhand der Plasmaspiegel von IL-6 und setzt sie im Bezug zu den erhobenen Basischarakteristika, so lassen sich einige Aussagen treffen:

Zum ersten korreliert die Höhe von IL-6 in dieser Studie deutlich mit der klinischen Ausprägung der Krankheit. Die Daten zeigen, dass Patient\*innen mit  $\geq 5,3$  pg/ml IL-6 häufiger Belastungsdyspnoe entsprechend NYHA III hatten als Patient\*innen unter mit IL-6 unter diesem Schwellenwert. Weiters weisen Patient\*innen der IL-6-Hochrisikogruppe eine deutlich schlechtere Nierenfunktion auf. Sowohl die mittlere eGFR (51,1 bzw. 63,5 ml/min) als auch die medianen Werte für Serumkreatinin (1,25 bzw. 1,08 mg/dl) unterscheiden sich signifikant in den beiden Gruppen ( $p < 0,001$ ). In vitro Daten belegen auch, dass Amyloidfibrillen auch in Markpapillen der Niere nachgewiesen werden können und für eine Nierenfunktionsstörung sorgen [63, 64].

In weiterer Folge hängt die Höhe der IL-6 Spiegel bei ATTR-CM in dieser Studie auch mit den laborchemischen Parametern NT-proBNP (4463 bzw. 1816 pg/ml) und hsTnT (83 bzw. 41 pg/ml) zusammen. Die letzten beiden sind ihrerseits wiederum Surrogatparameter für die Symptomatik und damit der Schwere einer Herzinsuffizienz. Des Weiteren waren höhere IL-6 Plasmakonzentrationen auch mit einer schlechteren systolischen bzw. diastolischen Funktion assoziiert. Dies konnte in der Herzinsuffizienzforschung bereits vor langer Zeit in vitro gezeigt werden [32, 36, 52, 53]. Aber auch in dieser Studie gab es Hinweise aus einer Subanalyse, dass IL-6 mit echokardiographisch vermindertem linksventrikulärem Strain sowie auch mit einem höheren Verhältnis von  $E/e'$  zusammenhängt, was echokardiographisch die systolische bzw. diastolische Funktion widerspiegelt.

Weiters zeigt diese Analyse auch, dass Patient\*innen der Hochrisikogruppe dieser Studie in den international etablierten ATTR-CM Staging-Systemen nach *Grogan et al.* [80] sowie nach *Gillmore et al.* (NAC-Staging) [81] in höheren Kategorien landen. Letztere berechnen sich schließlich aus den drei Biomarkern NTproBNP, hsTnT und eGFR.

Der Zusammenhang von IL-6 und dem Alter der Patient\*innen zeigt zwar in dieser Studie keine Signifikanz, dies ist jedoch vermutlich der zu geringen Fallzahl für eine statistisch ausreichende Diskriminierung beider Risikogruppen geschuldet. Andere große klinische Studien mit ähnlichem bzw. identem Patient\*innenspektrum implizieren jedenfalls, dass IL-6 auch mit dem Lebensalter korreliert [49, 50]. Man weiß außerdem auch aus vielen Arbeiten, dass das Altern im Menschen weitreichende systemisch-pro-inflammatorische Prozesse und oxidativen Stress verursacht sowie dadurch explizit IL-6 Signalwege beeinflusst werden [88].

Wie bereits mit Daten der BIOSSTAT-CHF-Kohorte von *Markousis-Mavrogenis et al.* belegt werden konnte, sind bei chronischen Herzinsuffizienzpatient\*innen die Parameter VHFA, LVEF>40% sowie erhöhtes NT-proBNP mit erhöhten IL-6 Spiegel im Plasma assoziiert, Letztere wiederum beeinflussen klinische Endpunkte negativ [50]. Alle drei letztgenannten Faktoren gelten als Indikatoren für die Schwere einer Herzinsuffizienz und sind auch bei der ATTR-CM wiederzufinden sowie auch hier prädiktiv für schlechtes Outcome. Auf der anderen Seite gibt es Evidenz aus der Grundlagenforschung, dass die TTR-Aggregate in vitro selbst Einfluss auf die Pathophysiologie der Inflammation bei ATTR-CM nehmen bzw. Signalkaskaden pro-inflammatorischer Zytokine aktivieren [63, 77, 78]. Die Hypothese ist daher zulässig, dass Inflamationsprozesse bei ATTR-CM zusätzlich zu den bereits bekannten Mechanismen bei Herzinsuffizienz (siehe Kap. 4.2.1./4.2.2.) durch weitere noch nicht vollständig aufgeklärte ATTR-CM-spezifische Mechanismen wie etwa die TTR-Aggregation und Deposition selbst verursacht werden könnten. Eine klinisch-fortgeschrittene ATTR-CM führt außerdem in vitro auch durch gestörte Gewebemöostase [32] bzw. gesteigerte TTR-Internalisierung in den kardialen Fibroblasten zu erhöhter IL-6 Sekretion in die Blutbahn [77].

Ein weiterer wichtiger Aspekt ist, dass es bei der Exazerbation der ATTR-CM wie bereits erwähnt nicht zu extravaganten Auslenkungen von Entzündungsparametern kommt, sondern lediglich *low-grade chronic inflammation* vorliegt [28, 32]. Dies spiegelt sich in vorliegendem Fall auch im Schwellenwert für die IL-6 Hochrisikogruppe wider. Mithilfe

der ROC-Analyse und dem Youden-Index wurde dieser Wert berechnet, um gleichzeitig die beste Sensitivität als auch Spezifität für die Prädiktion des Endpunktes aufzuweisen. Er liegt bei 5,3 pg/ml, was nominell keiner signifikanten Auslenkung entspräche. Daraus ist zu schließen, dass IL-6 Sekretion bereits in kleinem Stil einen Einfluss auf das Überleben bei ATTR-CM hat.

Aus sämtlichen angeführten Ergebnissen lässt sich schließen, dass die Plasmaspiegel von IL-6 mit sowohl klinischen, laborchemischen, bildgebenden als auch demographischen Parametern zusammenhängen, welche alle prädiktiv für den Ausprägungsgrad der ATTR-CM sind.

### **7.3. Limitation und Stärken**

#### **7.3.1. Limitationen der Studie**

Als erste Limitation ist zu nennen, dass es sich in vorliegender Arbeit um eine Single-Center-Kohorte handelt und damit die Ergebnisse nicht generalisiert werden können. Die Herkunft der Patient\*innen in der untersuchten Kohorte liegt zum Großteil im selben Einzugsgebiet. Da alle Patient\*innen in der Studie im selben Gesundheitssystem versichert sind, ergibt sich einerseits eine gute Möglichkeit für das Follow-Up, andererseits stellt diese Tatsache die Generalisierbarkeit der Resultate global gesehen noch stärker infrage, da es in anderen Ländern der Erde andere Gesundheitssysteme mit abgeänderten Prognosen für diverse Krankheiten gibt. Zu bemängeln ist auch die Fallzahl und der Beobachtungszeitraum. Angesichts von Ressourcen-Gründen wurde sich für die Fallzahl und den Beobachtungszeitraum wie in vorliegendem Fall gegeben, entschieden.

Andererseits gibt es international auch nur wenige retrospektive Analysen von Kohortenstudien, welche eine größere Patient\*innenzahl als vorliegend beinhalten. Aus diesem Grund sollte auf diesem Gebiet generell mehr Fokus auf multizentrische Zusammenarbeit sowie Langzeitanalysen gelegt werden.

Eine weitere Limitation der Studie ist, dass die Einflussgröße, des Biomarkers IL-6 nur einmal zu Beginn des Studieneinschlusses der Patient\*innen für die Statistik herangezogen wurde und es sich damit nur um eine Bestandsaufnahme handelt. Das inflammatorische Profil der Patient\*innen ist damit nicht ausreichend charakterisiert. Um eine prognostische

Aussage mit IL-6 treffen zu können, welche auch Relevanz bezogen auf das Krankheitsmonitoring hat, müsste man IL-6 Spiegel über einen zeitlichen Verlauf hinweg messen und erneut auf den klinischen Verlauf und die Endpunkte beziehen. Dies ist auch aus statistisch-mathematischer Sicht problematisch. Das COX-proportionale Hazard-Modell geht nämlich davon aus, dass sich die Einflussgröße, in diesem Fall IL-6 stets über die Zeit gesehen linear verhält. Streng genommen handelt es sich bei der Messung von IL-6 aber um eine Momentaufnahme zum Einschlusszeitpunkt und es ist nicht anzunehmen, dass dieser Wert über den Krankheitsverlauf hinweg immer konstant bleibt. Weiters könnte den inflammatorischen Phänotyp umfangreicher charakterisieren und sich nicht nur auf Interleukine beschränken.

Außerdem ist anzumerken, dass durch die Akquisition der Patient\*innendaten durch das Krankenhausinformationssystem openMEDOCS® ein Informations-Bias von nicht klar abschätzbarer Größe entsteht. Einige Patient\*innen in der Studie erhielten ihre medizinische Behandlung an Standorten, welche in openMEDOCS® nicht aufgezeigt werden und obwohl in solchen Fällen nach Hinweis bei Patient\*innen konkret nachgefragt wurde, ist damit zu rechnen, dass hier einige Ereignisse für die Dokumentation unerreichbar geblieben sind.

### **7.3.2. Stärken der Studie**

Die Einschlusskriterien sind nicht wie bei randomisiert-placebokontrollierten Doppelblindstudien in engem Spektrum gehalten, sondern es werden alle Patient\*innen mit der Diagnose ATTR-CM, unabhängig von der klinischen Verfassung analysiert. Dies schafft sogenannte reale Bedingungen (*Real-World-Kohorte*). Ein weiterer Pluspunkt ist der Miteinbezug der krankheitsspezifischen Therapie mit Tafamidis. Damit bekommt die Hypothese eine wissenschaftlich aktuelle Fußnote. Für die Zulassung des Medikaments publizierte Daten konnten belegen, dass mit Tafamidis bezogen auf Gesamtmortalität und kardiovaskulären Hospitalisierungen ein Vorteil für die Patient\*innen entsteht [57, 68]. Dass IL-6 unabhängig von der Behandlung mit Tafamidis Einfluss auf das klinische Outcome nimmt, deutet darauf hin, dass pathophysiologisch-inflammatorische Prozesse bei ATTR-CM zwar eine Folge von TTR-Aggregation im Gewebe sein können, allerdings sicherlich nicht einzig allein dadurch getriggert werden und entstehen.

Außerdem ist positiv zu erwähnen, dass die untersuchte Kohorte zum Basiszeitpunkt umfassend charakterisiert wurde. Demographische, klinische, laborchemische, bildgebende und therapeutische Parameter sorgen dafür, dass die Vergleichbarkeit und Reproduzierbarkeit der Kohorte steigen.

#### **7.4. Ausblick auf weitere Forschungsperspektiven**

Das Monitoring der Krankheitsprogression ist bei ATTR-CM ein immer wichtiger werdendes Thema. Betroffene Patient\*innen sollten an ein tertiäres Herzzentrum angebunden sein und regelmäßige halbjährliche bis jährliche Kontrollen haben. Um ein Krankheitsmonitoring übersichtlich über längere Zeit zu gewährleisten, gibt es ein Konsensus-Papier von internationalen Experten zu diesem Thema, welches 11 verschiedene Parameter aus den Kategorien Klinik, Labor und Bildgebung miteinbezieht [82] (siehe Kap.1.5). Dieses Modell erweist sich jedoch allenfalls in einem tertiären Zentrum, wo sämtliche erforderlichen Untersuchungsmodalitäten verfügbar sind, als praktikabel. Für außerplanmäßige Kontrollen in nicht-spezialisierten Zentren ist dieses System jedoch nicht umsetzbar. Die Bestimmung von IL-6 schafft daher zusätzlich zum vorgeschlagenen System eine einfache Möglichkeit, Aussagen über den Krankheitsverlauf bei ATTR-CM zu tätigen. Wie bereits erwähnt sollte das inflammatorische Profil der ATTR-CM Patient\*innen jedoch noch genauer charakterisiert werden.

Anhand dieser Arbeit sollte explizit keine Aussage bezüglich IL-6 als einem etwaigen therapeutischen Target getätigt werden. In der Vergangenheit gab es bereits in der Herzinsuffizienz-Forschung einige Versuche, mit monoklonaler Antikörper-Therapie gegen die Signalkaskaden der pro-inflammatorischen Zytokine TNF $\alpha$  und IL-6 vorzugehen, welche in sämtlichen Fällen keinen positiven therapeutischen Effekt erbrachten [43, 44]. Bei der Serum Amyloid-A Amyloidose konnte die Therapie mit Tocilizumab, einem IL-6-Inhibitor positive Erfolge sowohl in Bezug auf die Senkung der Serum Amyloid-A (SAA) Menge, als auch auf den klinischen Allgemeinzustand der Patient\*innen erzielen [89]. Bei der ATTR-CM gibt es aufgrund einiger noch fehlender grundlagenbezogener Informationen noch keine therapeutischen Studien mit dem Ziel der IL-6-Inhibierung. Dennoch wurde in-vitro gezeigt, dass TTR-Aggregate und IL-6 sich gegenseitig

beeinflussen [77]. Weiters konnte bereits in mehreren Studien gezeigt werden, dass nach oben ausgelenktes IL-6 zu kardialer Dysfunktion bei Herzinsuffizienz führt [32, 36, 51-53]. Dennoch ist die Indikation für eine Therapiestudie mit dem Ziel der Blockade der IL-6 Signalkaskade bei ATTR-CM noch nicht gegeben. Es gibt noch zu wenige konkrete Hinweise aus in vitro und in vivo Forschungsmodellen, welche etwaigen Effekte die tatsächliche Blockade dieser Signalwege in den Kardiomyozyten mit sich brächte. IL-6 kommt zudem im ganzen Körper vor und ist an vielen wichtigen physiologischen Immunprozessen beteiligt. Außerdem wäre durch die Inhibierung von IL-6 separat in Kardiomyozyten und kardialen Fibroblasten nur ein Teil des Problems gelöst. Während die zelltoxischen Prozesse und Remodelling-Prozesse eingedämmt sein mögen, wird auf den Prozess der fortlaufenden TTR-Fehlfaltung und Ablagerung nicht Einfluss genommen. Darüber hinaus hat das Thema gesundheitspolitische und volkswirtschaftliche Relevanz: Antikörpertherapien mit dem Ziel IL-6 sind derzeit sehr kostenintensiv und werden selbst bei Krankheitsbildern des immunologischen Formenkreises, wo diese Therapeutika schon lange etabliert ist, selten als *First-Line* Therapien eingesetzt.

## 7.5. Conclusio

Ziel dieser Studie war es, geringgradige systemische Inflammation anhand von IL-6 als prädiktiven Biomarker für kardiovaskuläres Outcome bei Patient\*innen mit ATTR-CM zu evaluieren. Die Hypothese, dass IL-6 Plasmaspiegel im Sinne einer *low-grade chronic inflammation* negativen Einfluss auf Mortalität und HF-Events nimmt, konnte statistisch mithilfe der uni- und multivariaten Cox-Regressionsanalyse unter Miteinbezug weiterer prognostisch relevanten Parameter bestätigt werden. Dies impliziert IL-6 als einen prognostischen Parameter bei Patient\*innen mit ATTR-CM. Welche Rolle systemische Inflammation im Krankheitsmonitoring sowie im therapeutischen Spektrum einnimmt, bleibt Gegenstand weiterer Forschung.

## 8. Literaturverzeichnis

- [1] Savarese G, Becher PM, Lund LH, Seferovic P, Rosano GMC, Coats AJS. Global burden of heart failure: a comprehensive and updated review of epidemiology. *Cardiovasc Res.* 2023 Jan 18;118(17):3272-3287. doi: 10.1093/cvr/cvac013. Erratum in: *Cardiovasc Res.* 2023 Jun 13;119(6):1453. PMID: 35150240.
- [2] Seferovic PM, Vardas P, Jankowska EA, Maggioni AP, Timmis A, Milinkovic I et al. National Heart Failure Societies of the ESC member countries. The Heart Failure Association Atlas: Heart Failure Epidemiology and Management Statistics 2019. *Eur J Heart Fail* 2021; 23:906–914.
- [3] Heidenreich PA, Albert NM, Allen LA, Bluemke DA, Butler J, Fonarow GC et al. American Heart Association Advocacy Coordinating Committee, Council on Arteriosclerosis Thrombosis, Vascular Biology, Council on Cardiovascular Radiology, Intervention, Council on Clinical Cardiology, Council on Epidemiology, Prevention, Stroke Council. Forecasting the impact of heart failure in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circ Heart Fail* 2013;6:606–619.
- [4] Huffman MD, Prabhakaran D. Heart failure: epidemiology and prevention in India. *Natl Med J India* 2010;23:283–288.
- [5] Guo Y, Lip GY, Banerjee A. Heart failure in East Asia. *Curr Cardiol Rev* 2013; 9:112–122.
- [6] Hao G, Wang X, Chen Z, Zhang L, Zhang Y, Wei B et al. China Hypertension Survey Investigators. Prevalence of heart failure and left ventricular dysfunction in China: the China Hypertension Survey, 2012-2015. *Eur J Heart Fail* 2019; 21:1329–1337.
- [7] Konishi M, Ishida J, Springer J, von Haehling S, Akashi YJ, Shimokawa H et al. Heart failure epidemiology and novel treatments in Japan: facts and numbers. *ESC Heart Fail* 2016; 3:145–151.
- [8] Public Health Agency of Canada. Report from the Canadian Chronic Disease Surveillance System: Heart Disease in Canada, 2018.

- [9] Reyes EB, Ha JW, Firdaus I, Ghazi AM, Phrommintikul A, Sim D et al. Heart failure across Asia: same healthcare burden but differences in organization of care. *Int J Cardiol* 2016; 223:163–167.
- [10] Sahle BW, Owen AJ, Mutowo MP, Krum H, Reid CM. Prevalence of heart failure in Australia: a systematic review. *BMC Cardiovasc Disord* 2016;16:32.
- [11] Ciapponi A, Alcaraz A, Calderon M, Matta MG, Chaparro M, Soto N, Bardach A. Burden of heart failure in Latin America: a systematic review and meta-analysis. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)* 2016;69:1051–1060.
- [12] Crespo-Leiro MG, Anker SD, Maggioni AP, Coats AJ, Filippatos G, Ruschitzka F et al., on behalf of the Heart Failure Association (HFA) of the European Society of Cardiology (ESC). European Society of Cardiology Heart Failure Long-Term Registry (ESC-HF-LT): 1-year follow-up outcomes and differences across regions. *Eur J Heart Fail* 2016;18:613–625.
- [13] MacDonald MR, Tay WT, Teng TK, Anand I, Ling LH, Yap J et al. Investigators dagger A-F. Regional variation of mortality in heart failure with reduced and preserved ejection fraction across Asia: outcomes in the ASIAN-HF registry. *J Am Heart Assoc* 2020;9:e012199.
- [14] Dokainish H, Teo K, Zhu J, Roy A, AlHabib KF, ElSayed A et al; INTER-CHF Investigators. Global mortality variations in patients with heart failure: results from the International Congestive Heart Failure (INTER-CHF) prospective cohort study. *Lancet Glob Health* 2017;5:e665–e672.
- [15] Al-Omary MS, Davies AJ, Evans TJ, Bastian B, Fletcher PJ, Attia J et al. Mortality and readmission following hospitalisation for heart failure in Australia: a systematic review and meta-analysis. *Heart Lung Circ* 2018;27:917–927.
- [16] Jones NR, Roalfe AK, Adoki I, Hobbs FDR, Taylor CJ. Survival of patients with chronic heart failure in the community: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Heart Fail* 2019;21:1306–1325.
- [17] McDonagh TA, Metra M, Adamo M, Gardner RS, Baumbach A, Böhm M et al. 2021 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: Developed by the Task Force for the diagnosis and treatment of acute and

- chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). With the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail.* 2022 Jan;24(1):1-131. doi: 10.1002/ejhf.2333. PMID: 35083827.
- [18] Lund LH, Claggett B, Liu J, Lam CS, Jhund PS, Rosano GM et al. Heart failure with mid-range ejection fraction in CHARM: characteristics, outcomes and effect of candesartan across the entire ejection fraction spectrum. *Eur J Heart Fail* 2018;20:1230-1239
- [19] Solomon SD, Claggett B, Lewis EF, Desai A, Anand I, Sweitzer NK et al. Influence of ejection fraction on outcomes and efficacy of spironolactone in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J* 2016;37:455-462
- [20] Abdul-Rahim AH, Shen L, Rush CJ, Jhund PS, Lees KR, McMurray JJV et al. Effect of digoxin in patients with heart failure and mid-range (borderline) left ventricular ejection fraction. *Eur J Heart Fail* 2018;20:1139-1145.
- [21] Cleland JGF, Bunting KV, Flather MD, Altman DG, Holmes J, Coats AJS et al. Beta-blockers for heart failure with reduced, mid-range, and preserved ejection fraction: an individual patient-level analysis of double-blind randomized trials. *Eur Heart J* 2018;39:26-35
- [22] Solomon SD, McMurray JJV, Anand IS, Ge J, Lam CSP, Maggioni AP et al. Angiotensin-neprilysin inhibition in heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med* 2019;381:1609-1620.
- [23] Bragazzi NL, Zhong W, Shu J, Abu Much A, Lotan D, Grupper A et al. Burden of heart failure and underlying causes in 195 countries and territories from 1990 to 2017. *Eur J Prev Cardiol.* 2021 Dec 29;28(15):1682-1690. doi: 10.1093/eurjpc/zwaa147. PMID: 33571994.
- [24] Chioncel O, Lainscak M, Seferovic PM, Anker SD, Crespo-Leiro MG, Harjola VP et al. Epidemiology and one-year outcomes in patients with chronic heart failure and preserved, mid-range and reduced ejection fraction: an analysis of the ESC Heart Failure Long-Term Registry. *Eur J Heart Fail.* 2017 Dec;19(12):1574-1585. doi: 10.1002/ejhf.813. Epub 2017 Apr 6. PMID: 28386917.

- [25] Fonarow GC, Stough WG, Abraham WT, Albert NM, Gheorghiade M, Greenberg BH et al. Characteristics, treatments, and outcomes of patients with preserved systolic function hospitalized for heart failure: a report from the OPTIMIZE-HF Registry. *J Am Coll Cardiol*. 2007 Aug 21;50(8):768-77. doi: 10.1016/j.jacc.2007.04.064. Epub 2007 Aug 6. PMID: 17707182.
- [26] Brouwers FP, de Boer RA, van der Harst P, Voors AA, Gansevoort RT, Bakker SJ et al. Incidence and epidemiology of new onset heart failure with preserved vs. reduced ejection fraction in a community-based cohort: 11-year follow-up of PREVEND. *Eur Heart J*. 2013 May;34(19):1424-31.
- [27] Dolgin Martin and New York Heart Association Criteria Committee. 1994. *Nomenclature and Criteria for Diagnosis of Diseases of the Heart and Great Vessels*. 9th ed. Boston: Little Brown.
- [28] Dick SA, Epelman S. Chronic Heart Failure and Inflammation: What Do We Really Know? *Circ Res*. 2016 Jun 24;119(1):159-76. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.308030. PMID: 27340274.
- [29] Torre-Amione G, Kapadia S, Lee J, Durand JB, Bies RD, Young JB, Mann DL. Tumor necrosis factor-alpha and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. *Circulation*. 1996; 93:704–711.
- [30] Vasan RS, Sullivan LM, Roubenoff R, Dinarello CA, Harris T, Benjamin EJ, Sawyer DB et al. Framingham Heart Study. Inflammatory markers and risk of heart failure in elderly subjects without prior myocardial infarction: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2003; 107:1486–1491.
- [31] Edelmann F, Holzendorf V, Wachter R, et al. Galectin-3 in patients with heart failure with preserved ejection fraction: results from the Aldo-DHF trial. *Eur J Heart Fail*. 2015; 17:214–223. doi: 10.1002/ejhf.203.
- [32] Mann DL. Innate immunity and the failing heart: the cytokine hypothesis revisited. *Circ Res*. 2015; 116:1254–1268. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.116.302317.
- [33] Epelman S, Liu PP, Mann DL. Role of innate and adaptive immune mechanisms in cardiac injury and repair. *Nat Rev Immunol*. 2015 Feb;15(2):117-29. doi: 10.1038/nri3800. PMID: 25614321; PMCID: PMC4669103.

- [34] Sanguiliano B, Perez NM, Moreira DF, Belizario JE. Cell death-associated molecular-pattern molecules: inflammatory signaling and control. *Mediators. Inflamm.* 2014;2014:821043.
- [35] Surbatovic M, Popovic N, Vojvodic D, Milosevic I, Acimovic G, Stojicic M, et al. Cytokine profile in severe Gram-positive and Gram-negative abdominal sepsis. *Sci Rep.* 2015 Jun 16;5:11355. doi: 10.1038/srep11355. PMID: 26079127; PMCID: PMC4468818.
- [36] Seta Y, Shan K, Bozkurt B, Oral H, Mann DL. Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis. *J Card Fail.* 1996 Sep;2(3):243-9. doi: 10.1016/s1071-9164(96)80047-9. PMID: 8891862.
- [37] Kelly RA, Eid H, Kramer BK, O'Neill M, Liang BT, Reers M, et al.: Endothelin enhances the contractile responsiveness of adult rat ventricular myocytes to calcium by a pertussis toxin-sensitive pathway. *J Clin Invest* 1990;86: 1164-71. Erratum: *J Clin Invest* 1991;87: following 1477
- [38] Weber KT, Sun Y, Guarda E: Structural remodeling in hypertensive heart disease and the role of hormones. *Hypertension* 1994;23:869-77
- [39] Mann DL. Inflammatory mediators and the failing heart: past, present, and the foreseeable future. *Circ Res.* 2002; 91:988–998.
- [40] Franco F, Thomas GD, Giroir B, Bryant D, Bullock MC, Chwialkowski MC, et al. Magnetic resonance imaging and invasive evaluation of development of heart failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha. *Circulation.* 1999; 99:448–454.
- [41] Tzeng HP, Evans S, Gao F, Chambers K, Topkara VK, Mann DL, et al. Dysferlin mediates the cytoprotective effects of TRAF2 following myocardial ischemia reperfusion injury. *J Am Heart Assoc.* 2014; 3:e000662. doi: 10.1161/JAHA.113.000662.
- [42] Bozkurt B, Kribbs SB, Clubb FJ, Michael LH, Didenko VV, Mann DL, et al. Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor-alpha promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. *Circulation.* 1998; 97:1382–1391.

- [43] Mann DL, McMurray JJV, Packer M, et al. Targeted anti-cytokine therapy in patients with chronic heart failure: results of the Randomized Efficacy and Safety of the Worldwide Evaluation of RENEWAL. *Circulation* 2004; *109*:1594–1602. doi: 10.1161/01.CIR.0000124490.27666.B2.
- [44] Chung ES, Packer M, Lo KH, Fasanmade AA, Willerson JT; Anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure Investigators. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor- $\alpha$ , in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation*. 2003; *107*:3133–3140. doi: 10.1161/01.CIR.0000077913.60364. D2.
- [45] Rose-John S. Interleukin-6 signalling in health and disease. *F1000Res*. 2020 Aug 20;9:F1000 Faculty Rev-1013. doi: 10.12688/f1000research.26058.1. PMID: 32864098; PMCID: PMC7443778.
- [46] Hoge J, Yan I, Jänner N, et al.: IL-6 controls the innate immune response against *Listeria monocytogenes* via classical IL-6 signaling. *J Immunol*. 2013;190(2):703–11. doi: 10.4049/jimmunol.1201044
- [47] D’Elia E, Vaduganathan M, Gori M, Gavazzi A, Butler J, Senni M. Role of biomarkers in cardiac structure phenotyping in heart failure with preserved ejection fraction: critical appraisal and practical use. *Eur J Heart Fail*. 2015; *17*:1231–1239. doi: 10.1002/ejhf.430.
- [48] Torre-Amione G, Kapadia S, Benedict C, Oral H, Young JB, Mann DL: Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol* 1996;27:1201-6
- [49] Tsutamoto T, Hisanaga T, Wada A, Maeda Y, Fukui D: Plasma concentration of interleukin-6 as a marker of prognosis in patients with chronic congestive heart failure. *Circulation* 1994;90:I-381
- [50] Markousis-Mavrogenis G, Tromp J, Ouwerkerk W, Devalaraja M, Anker SD, van der Meer P, et al. The clinical significance of interleukin-6 in heart failure: results from the BIOSTAT-CHF study. *Eur J Heart Fail*. 2019 Aug;21(8):965-973. doi: 10.1002/ejhf.1482. Epub 2019 May 14. PMID: 31087601.

- [51] Entman ML, et al. Neutrophil induced oxidative injury of cardiac myocytes. A compartmented system requiring CD11b/CD18-ICAM-1 adherence. *J. Clin. Invest.* 1992; 90:1335–1345.
- [52] Plenz G, Song ZF, Tjan TD, Koenig C, Baba HA, Deng MC, et al. Activation of the cardiac interleukin-6 system in advanced heart failure. *Eur J Heart Fail.* 2001; 3:415–421. doi: 10.1016/s1388-9842(01)00137-4
- [53] Finkel MS, Hoffman RA, Shen L, Oddis CV, Simmons RL, Hattler BG. Interleukin-6 (IL-6) as a mediator of stunned myocardium. *Am J Cardiol.* 1993 May 15;71(13):1231-2. doi: 10.1016/0002-9149(93)90654-u. PMID: 8480654.
- [54] Prabhu SD, Chandrasekar B, Murray DR, Freeman GL. beta-adrenergic blockade in developing heart failure: effects on myocardial inflammatory cytokines, nitric oxide, and remodeling. *Circulation.* 2000 May 2;101(17):2103-9. doi: 10.1161/01.cir.101.17.2103. Erratum in: *Circulation* 2000 Jul 4;102(1):141. PMID: 10790354.
- [55] Oral H, Dorn GW 2nd, Mann DL. Sphingosine mediates the immediate negative inotropic effects of tumor necrosis factor-alpha in the adult mammalian cardiac myocyte. *J Biol Chem.* 1997 Feb 21;272(8):4836-42. doi: 10.1074/jbc.272.8.4836. PMID: 9030540.
- [56] Ruberg FL, Grogan M, Hanna M, Kelly JW, Maurer MS. Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol.* 2019 Jun 11;73(22):2872-2891. doi: 10.1016/j.jacc.2019.04.003. PMID: 31171094; PMCID: PMC6724183.
- [57] Brito D, Albrecht FC, de Arenaza DP, Bart N, Better N, Pinto FJ et al. World Heart Federation Consensus on Transthyretin Amyloidosis Cardiomyopathy (ATTR-CM). *Global Heart.* 2023; 18(1): 59. DOI: <https://doi.org/10.5334/gh.1262>
- [58] Palma JA, Gonzalez-Duarte A, Kaufmann H. Orthostatic hypotension in hereditary transthyretin amyloidosis: epidemiology, diagnosis and management. *Clin Auton Res.* 2019; 29(Suppl 1): 33–44. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10286-019-00623-x>
- [59] Kittleson MM, Maurer MS, Ambardekar AV, Bullock-Palmer RP, Chang PP, Eisen HJ, et al. Cardiac Amyloidosis: Evolving Diagnosis and Management: A Scientific

Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2020; 142(1):e7-e22.  
DOI: <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000792>

- [60] Kittleson MM, Ruberg FL, Ambardekar AV, Brannagan TH, Cheng RK, Clarke JO, et al. 2023 ACC Expert Consensus Decision Pathway on Comprehensive Multidisciplinary Care for the Patient With Cardiac Amyloidosis: A Report of the American College of Cardiology Solution Set Oversight Committee. *J Am Coll Cardiol*. 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2022.11.022>
- [61] Emdin M, Aimo A, Rapezzi C, Fontana M, Perfetto F, Seferović PM, et al. Treatment of cardiac transthyretin amyloidosis: an update. *Eur Heart J*. 2019; 40(45): 3699–706. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz298>
- [62] Dobner S, Bernhard B, Asatryan B, Windecker S, Stortecky S, Pilgrim T, et al. SGLT2 inhibitor therapy for transthyretin amyloid cardiomyopathy: early tolerance and clinical response to dapagliflozin. *ESC Heart Fail*. 2023; 10(1): 397–404. DOI: <https://doi.org/10.1002/ehf2.14188>
- [63] Wieczorek E, Ozyhar A. Transthyretin: From Structural Stability to Osteoarticular and Cardiovascular Diseases. *Cells*. 2021; 10(7):1768.  
<https://doi.org/10.3390/cells10071768>
- [64] Westermark P, Bergström J, Solomon A, Murphy C, Sletten K. Transthyretin-derived senile systemic amyloidosis: clinicopathologic and structural considerations. *Amyloid*. 2003 Aug;10 Suppl 1:48-54. PMID: 14640042.
- [65] Feng D, Edwards WD, Oh JK, Chandrasekaran K, Grogan M, Martinez MW, et al. Intracardiac thrombosis and embolism in patients with cardiac amyloidosis. *Circulation*. 2007; 116(21): 2420–6. DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.107.697763>
- [66] Emdin M, Aimo A, Rapezzi C, Fontana M, Perfetto F, Seferović PM, et al. Treatment of cardiac transthyretin amyloidosis: an update. *Eur Heart J*. 2019; 40(45): 3699–706. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehz298>
- [67] Kittleson MM, Maurer MS, Ambardekar AV, Bullock-Palmer RP, Chang PP, Eisen HJ, et al. Cardiac Amyloidosis: Evolving Diagnosis and Management: A Scientific

Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2020; 142(1):e7-e22.  
DOI: <https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000792>

- [68] Maurer MS, Schwartz JH, Gundapaneni B, Elliott PM, Merlini G, Waddington-Cruz M, et al. Tafamidis Treatment for Patients with Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2018; 379(11): 1007–16. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1805689>
- [69] Gillmore JD, Judge DP, Cappelli F, Fontana M, Garcia-Pavia P, Fox JC, et al ATTRIBUTE-CM Investigators. Efficacy and Safety of Acoramidis in Transthyretin Amyloid Cardiomyopathy. *N Engl J Med*. 2024 Jan 11;390(2):132-142. doi: 10.1056/NEJMoa2305434. PMID: 38197816.
- [70] Ibrahim M, Saint Croix GR, Lacy S, Fattouh M, Barillas-Lara MI, Mechanic O et al. The use of diflunisal for transthyretin cardiac amyloidosis: a review. *Heart Fail Rev*. 2022 Mar;27(2):517-524. doi: 10.1007/s10741-021-10143-4. Epub 2021 Jul 16. PMID: 34272629.
- [71] Adams D, Gonzalez-Duarte A, O’Riordan WD, Yang CC, Ueda M, Kristen AV, et al. Patisiran, an RNAi Therapeutic, for Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med*. 2018; 379(1): 11–21. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1716153>
- [72] Maurer MS, Kale P, Fontana M, Berk JL, Grogan M, Gillmore JD et al. APOLLO-B Trial Investigators. Patisiran Treatment in Patients with Transthyretin Cardiac Amyloidosis. *N Engl J Med*. 2023 Oct 26;389(17):1553-1565. doi: 10.1056/NEJMoa2300757. PMID: 37888916; PMCID: PMC10757426.
- [73] Adams D, Tournev IL, Taylor MS, Coelho T, Planté-Bordeneuve V, Berk JL, et al. Efficacy and safety of vutrisiran for patients with hereditary transthyretin-mediated amyloidosis with polyneuropathy: a randomized clinical trial. *Amyloid*. 2022: 1–9. DOI: <https://doi.org/10.1080/13506129.2022.2091985>
- [74] Benson MD, Waddington-Cruz M, Berk JL, Polydefkis M, Dyck PJ, Wang AK, et al. Inotersen Treatment for Patients with Hereditary Transthyretin Amyloidosis. *N Engl J Med*. 2018; 379(1): 22–31. DOI: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1716793>

- [75] Coelho T, Waddington Cruz M, Chao CC, Parman Y, Wixner J, Weiler M, et al. Characteristics of Patients with Hereditary Transthyretin Amyloidosis-Polyneuropathy (ATTRv-PN) in NEURO-TTRansform, an Open-label Phase 3 Study of Eplontersen. *Neurol Ther.* 2023; 12(1): 267–87. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40120-022-00414-z>
- [76] Knoll K, Fuchs P, Trenkwalder T. Kardiale Amyloidose: Aktuelle und zukünftige Therapieoptionen. *CV.* 2023;23(2):39–43. German. doi: 10.1007/s15027-023-2968-y. Epub 2023 Mar 31. PMID: PMC10063327.
- [77] Magaud C, Harnois T, Sebillé S, Chatelier A, Faivre JF, Gellen B et al. Pro-inflammatory cytokine secretion induced by amyloid transthyretin in human cardiac fibroblasts. *Biochem Biophys Res Commun.* 2023 Jan 29;642:83-89. doi: 10.1016/j.bbrc.2022.12.027. Epub 2022 Dec 17. PMID: 36566566.
- [78] Tanaka, K.; Essick, E.E.; Doros, G.; Tanriverdi, K.; Connors, L.H.; Sam, F. et al.; Circulating Matrix Metalloproteinases and Tissue Inhibitors of Metalloproteinases in Cardiac Amyloidosis. *J. Am. Heart Assoc.* 2013, 2, e005868.
- [79] Sartiani, L.; Bucciantini, M.; Spinelli, V.; Leri, M.; Natalello, A.; Giorgetti, S.; et al. Biochemical and Electrophysiological Modification of Amyloid Transthyretin on Cardiomyocytes. *Biophys. J.* 2016, 111, 2024–2038.
- [80] Grogan M, Scott CG, Kyle RA, Zeldenrust SR, Gertz MA, Dispenzieri A et al. Natural History of Wild-Type Transthyretin Cardiac Amyloidosis and Risk Stratification Using a Novel Staging System. *J Am Coll Cardiol.* 2016 Sep 6;68(10):1014-20. doi: 10.1016/j.jacc.2016.06.033. Erratum in: *J Am Coll Cardiol.* 2017 Jun 13;69(23):2882. PMID: 27585505.
- [81] Gillmore JD, Damy T, Fontana M, Hutchinson M, Lachmann HJ, Hawkins PN et al. A new staging system for cardiac transthyretin amyloidosis. *Eur Heart J.* 2018 Aug 7;39(30):2799-2806. doi: 10.1093/eurheartj/ehx589. PMID: 29048471.
- [82] Garcia-Pavia P, Bengel F, Brito D, Damy T, Duca F, Elliott PM et al. Expert consensus on the monitoring of transthyretin amyloid cardiomyopathy. *Eur J Heart Fail.* 2021 Jun;23(6):895-905. doi: 10.1002/ejhf.2198. Epub 2021 May 24. PMID: 33915002; PMID: PMC8239846.

- [83] Hicks K, Mahaffey K, Mehran R, Nissen S et al. 2017 Cardiovascular and Stroke Endpoint Definitions for Clinical Trials – Consensus Report. *Circulation*. 27.02.2018. 137: S. 961-972
- [84] Ziegler A, Lange S, Bender R. Überlebenszeitanalyse: Die COX-Regression. *Dtsch Med Wochenschr* 2007. 132: e42-e44
- [85] Luchner A, Weidemann A, Willenbock R, Philipp S, Heinicke N, Rambausek M, et al. Improvement of the cardiac marker N-terminal-pro brain natriuretic peptide through adjustment for renal function: a stratified multicenter trial. *Clin Chem Lab Med*. 2010; 48:121-128.
- [86] Ostendorf N. DocCheck Flexikon. 2023. Abrufbar unter: [https://flexikon.doccheck.com/de/Receiver\\_Operating\\_Characteristic](https://flexikon.doccheck.com/de/Receiver_Operating_Characteristic). Zugriff am 16.01.2024
- [87] Hein SJ, Knoll M, Aus dem Siepen F, Furkel J, Schoenland S, Konstandin M et al. Elevated interleukin-6 levels are associated with impaired outcome in cardiac transthyretin amyloidosis. *World J Cardiol*. 2021 Mar 26;13(3):55-67. doi: 10.4330/wjc.v13.i3.55. PMID: 33791079; PMCID: PMC7988596.
- [88] Forcina L, Franceschi C, Musarò A. The hormetic and hermetic role of IL-6. *Ageing Res Rev*. 2022 Sep;80:101697. doi: 10.1016/j.arr.2022.101697. Epub 2022 Jul 16. PMID: 35850167.
- [89] Okuda Y. AA amyloidosis - Benefits and prospects of IL-6 inhibitors. *Mod Rheumatol*. 2019 Mar;29(2):268-274. doi: 10.1080/14397595.2018.1515145. Epub 2018 Oct 2. PMID: 30132351.