

Diplomarbeit

**Outcome der inflammatorischen Cardiomyopathie
Eine retrospektive Analyse der Endomyokardbiopsiedaten der
Jahre 2008 bis 2017**

eingereicht von

Christian Stephan Fischer

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an

der Abteilung für Kardiologie des LKH Universitätsklinikums Graz

unter der Anleitung von

Univ.-Prof. Dr. med. univ. Friedrich Fruhwald

Dr. med. univ. Klemens Ablasser

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.

Graz, am 24.01.2019

Christian Stephan Fischer eh

Danksagungen

Einen besonderen Dank möchte ich an dieser Stelle meinem Betreuer, Univ.-Prof. Dr. med. univ. Friedrich Fruhwald, aussprechen, der mir bei Fragen und Problemen stets blitzschnell mit Rat und Tat zur Seite stand, sich dafür immer die nötige Zeit und Geduld nahm und mich über den Zeitraum meiner ganzen Diplomarbeit mit höchster Zuverlässigkeit kompetent und fundiert betreute.

Ein weiterer Dank gilt meinen Eltern, ohne deren finanzielle Unterstützung dieses Studium und damit diese Arbeit nicht möglich gewesen wären. Besonders bei meiner Mutter möchte ich mich auch für das uneingeschränkte Vertrauen und den bedingungslosen Beistand beim Studium und bei dieser Diplomarbeit bedanken.

Vielen Dank auch an meine beiden Schwestern, auf deren Rat und tatkräftige Hilfe ich mich stets verlassen konnte.

Ein großer Dank geht auch an meine Freundin Ricarda, auf deren Rückhalt und fähige Beratung ich in der Zeit meines Studiums und dieser Arbeit immer zählen konnte und die mir auch beim Korrekturlesen sehr behilflich war.

Zu guter Letzt möchte ich mich noch bei meinen Freunden bedanken, für die Hilfe im Studium und für die lustige und schöne Freizeitgestaltung als Ausgleich zum Lernen.

Zusammenfassung

Einleitung: Die Myokarditis ist eine entzündliche Erkrankung des Myokards. Die häufigste Ursache sind virale Infektionen und post-virale immunvermittelte Prozesse, die zu einer postinfektiösen inflammatorischen Cardiomyopathie führen können. Die meisten PatientInnen mit inflammatorischer Cardiomyopathie sprechen gut auf eine 6-monatige immunsuppressive Therapie mit Azathioprin und Cortison an, leider jedoch nicht alle. Diese Arbeit beschäftigt sich damit, wie häufig eine Besserung bzw. Heilung nach dieser Immunsuppression ist, wie PatientInnen mit nicht ausreichendem Therapieansprechen charakterisiert sind und ob diese PatientInnen mit einem 2. Zyklus Immunsuppression gebessert werden können. Weiters wird eine zentrale Hypothese, dass ein Grund für das Ausbleiben des Therapieerfolgs bei einem Teil der PatientInnen eine relative Unterdosierung bezogen auf das Körpergewicht bei Personen mit höherem Körpergewicht bzw. BMI ist, überprüft.

Methoden und Ergebnisse: Im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden die Archivdaten von allen 245 PatientInnen, die seit Einführung der Endomyokardbiopsie an der Kardiologie des LKH Universitätsklinikums Graz im Jahr 2008 biopsiert wurden und deren 1. Biopsie bis inklusive 15.03.2017 durchgeführt wurde, erhoben. 33 PatientInnen davon wurden mittels PCR und immunhistologischem Befund als „Virusnegativ mit Entzündung“ (entspricht inflammatorischer Cardiomyopathie) klassifiziert, mit obiger Therapie behandelt und anschließend kontrollbiopsiert. Davon wurden 22 (66,67%) als gebessert (keine weitere immunsuppressive Therapie mit Azathioprin plus Cortison und mindestens ein Immunhistochemieparameter regredient) und 11 (33,33%) als nicht gebessert klassifiziert. Die nicht gebesserten PatientInnen hatten eine signifikant geringere Azathioprin- und Cortisonosis/Körpergewicht bekommen. Von den 11 nicht gebesserten PatientInnen wurden 10 mit einem 2. Zyklus Immunsuppression behandelt, 5 davon wurden ein zweites Mal kontrollbiopsiert. In einem Fall wurde eine Riesenzellmyokarditis diagnostiziert, die 4 anderen Personen wurden als gebessert klassifiziert. Somit konnten 4 (80%) der 5 Personen, die eine 2. Kontrollbiopsie durchliefen, gebessert werden. Aufgrund der geringen Fallzahl ist jedoch keine allgemeine Aussage bezüglich einer möglichen Besserung durch einen 2. Zyklus Immunsuppression möglich.

Schlussfolgerung: Die 6-monatige Immunsuppression mit Azathioprin und Cortison ist eine wertvolle Therapiesäule bei der inflammatorischen Cardiomyopathie, die häufig zur Ausheilung der Entzündung führt. Die Ergebnisse dieser Arbeit sprechen stark für die zentrale Hypothese, dass ein Grund für einen ausbleibenden Therapieerfolg bei einem Teil

der PatientInnen eine relative Unterdosierung der Wirkstoffe bezogen auf das Körpergewicht bei Personen mit höherem Gewicht bzw. BMI ist.

Abstract

Introduction: Myocarditis is an inflammatory disease of the myocardium. The most common causes are viral infections and post-viral immune-mediated processes, which can lead to postinfectious (virus-negative) inflammatory cardiomyopathy. Most patients with (virus-negative) inflammatory cardiomyopathy improve after a 6 months' immunosuppressive therapy with azathioprine and cortisone. However, some do not. This thesis examines how often patients improve with the mentioned therapy, how non-responders are characterised and if the latter improve with a second cycle of immunosuppression. Another goal is to examine the central hypothesis that one reason for non-responding to the immunosuppressive therapy is too low a dose of the agents in relation to the bodyweight in patients with higher body weight and, respectively, body mass index.

Methods and results: Archive data of all 245 patients that have been biopsied since myocardial biopsy was introduced at the Dept. of Cardiology, University hospital Graz, in 2008 and whose first biopsy was not later than 15th March 2017 were collected. Of these 33 patients were diagnosed as "virus-negative with inflammation" [equals (virus-negative) inflammatory cardiomyopathy] by means of polymerase chain reaction and immunohistochemistry and underwent immunosuppressive therapy mentioned above followed by a control biopsy. 22 (66,67%) of these patients were considered improved (no further immunosuppressive therapy with azathioprine plus cortisone and at least one decreased immunohistochemical parameter) whereas 11 (33,33%) patients were considered not improved. The azathioprine and cortisone dose/body weight of the not improved group was significantly lower. Of those 11 patients not improved 10 were treated with a second cycle of immunosuppression. 5 of these underwent control biopsy a second time. Giant cell myocarditis was diagnosed in one case and 4 patients were classified as improved. Therefore, 4 (80%) of the 5 patients that underwent a second control biopsy improved. However, due to the small sample size, it isn't possible to make a general statement regarding the possibility of improvement through a second cycle of immunosuppression.

Conclusion: Immunosuppression with azathioprine and cortisone for 6 months is an important therapeutic strategy for the treatment of (virus-negative) inflammatory cardiomyopathy and leads to improvement in most cases. The results of this thesis support the central hypothesis, that one reason for non-responding to the immunosuppressive therapy is too low a dose of the agents in relation to the bodyweight in patients with higher body weight and, respectively body mass index.

Inhaltsverzeichnis

DANKSAGUNGEN	II
ZUSAMMENFASSUNG	III
ABSTRACT	V
INHALTSVERZEICHNIS	VI
GLOSSAR UND ABKÜRZUNGEN	IX
ABBILDUNGSVERZEICHNIS	X
TABELLENVERZEICHNIS	XI
1 EINLEITUNG	12
1.1 Myokarditis	12
1.1.1 Ätiologie.....	12
1.1.2 Pathophysiologie (der viral bedingten Myokarditis).....	13
1.1.3 Einteilung der viral bedingten Myokarditis.....	13
1.1.4 Klinisches Erscheinungsbild.....	14
1.1.5 Diagnose und Prognose.....	14
1.1.5.1 Labor und Serologie.....	14
1.1.5.2 Elektrokardiogramm.....	15
1.1.5.3 Echokardiographie.....	15
1.1.5.4 Kardiale Magnetresonananzuntersuchung.....	16
1.1.5.5 Nuklearmedizinische Diagnostik.....	16
1.1.5.6 Endomyokardbiopsie.....	17
1.1.6 Therapie.....	18
1.1.6.1 Konventionelle Therapie.....	18
1.1.6.2 Spezifische Therapie.....	19
1.1.6.2.1 Antivirale Therapie.....	19
1.1.6.2.2 Immunglobuline.....	19
1.1.6.2.3 Immunadsorption.....	20
1.1.6.2.4 Immunsuppression.....	20

1.2	Forschungsfrage und Zielsetzung der Diplomarbeit	21
2	MATERIAL UND METHODEN	23
2.1	Datenerhebung.....	23
2.1.1	Grunddaten	23
2.1.2	EKG Daten zum Zeitpunkt der 1. Biopsie.....	24
2.1.3	Echokardiographie zum Zeitpunkt der 1. Biopsie \pm 3 Monate	24
2.1.4	Endomyokardbiopsien.....	24
2.1.4.1	1. Biopsie.....	24
2.1.4.1.1	Labordaten zum Zeitpunkt der 1. Biopsie	25
2.1.4.1.2	PCR Virusstatus	25
2.1.4.1.3	Histologie	25
2.1.4.1.4	Immunhistologie	25
2.1.4.1.5	Diagnose.....	26
2.1.4.1.6	Immunsuppressive und antivirale Therapie nach 1. Biopsie.....	26
2.1.4.1.7	Herzinsuffizienztherapie nach 1. Biopsie	27
2.1.4.2	Folgebiopsien (2., 3. und 4. Biopsie)	27
2.2	Statistik	27
2.2.1	Charakterisierung verschiedener Kollektive.....	27
2.2.2	Weitere Statistik.....	29
2.2.3	Wahl des statistischen Testverfahrens.....	30
3	ERGEBNISSE.....	31
3.1	Charakterisierung therapierte PatientInnen mit und ohne 2. Endomyokardbiopsie	31
3.1.1	1. Therapie.....	31
3.1.2	2. (=Kontroll-) Biopsie.....	32
3.1.3	Anteil gebesserter und nicht gebesserter PatientInnen	33
3.2	Charakterisierung gebesserte und nicht gebesserte PatientInnen	33
3.2.1	1. Biopsie	36
3.2.1.1	Labor	36
3.2.1.2	Histologie	37
3.2.1.3	Immunhistologie.....	37
3.2.2	1. Therapie.....	38
3.2.3	2. (=Kontroll-) Biopsie.....	39
3.2.3.1	Labor	39
3.2.3.2	Histologie	40

3.2.3.3	Immunhistologie	40
3.2.3.4	Diagnose	42
3.2.3.5	Besserung der Immunhistochemiewerte bei gebesserten aber nicht völlig entzündungsfreien PatientInnen	42
3.2.4	Heilung/Besserung nicht gebesserter PatientInnen durch 2. Zyklus Immunsuppression möglich?..	43
3.3	Vergleich der Besserung der Immunhistochemiewerte bei Therapie mit Dosis/kg KG \geq gegenüber < Median	46
3.3.1	Besserung der Immunhistochemiewerte bei PatientInnen mit Azathiopridosis/kg KG \geq und < Median.....	46
3.3.2	Besserung der Immunhistochemiewerte bei PatientInnen mit Cortisondosis/kg KG \geq und < Median.....	49
4	DISKUSSION	52
4.1	Signifikante Ergebnisse in Bezug auf Unterdosierungshypothese	52
4.2	Interpretation und Vergleich der Ergebnisse, Ausblick.....	52
4.2.1	Besserung der Immunhistochemiewerte bei therapierten PatientInnen mit 2. (=Kontroll-) Biopsie.....	52
4.2.2	Anteil gebesserter und nicht gebesserter PatientInnen	53
4.2.3	Charakterisierung nicht gebesserter PatientInnen	54
4.2.4	Besserung der Immunhistochemiewerte bei PatientInnen mit Azathioprin- bzw. Cortisondosis/Körpergewicht \geq Median im Vergleich zu < Median	56
4.3	Limitationen dieser Studie	57
4.4	Schlussfolgerung.....	57
5	LITERATURVERZEICHNIS.....	59

Glossar und Abkürzungen

ACE	Angiotensin Converting Enzyme
ARB	AT ₁ -Rezeptor-Blocker
ARNI	Angiotensin-Rezeptor-Nepriylisin-Inhibitor
AT ₁	Angiotensin-II-Rezeptor Subtyp 1
BMI	Body-Mass-Index
bzw.	beziehungsweise
ca.	circa
EKG	Elektrokardiogramm
ESC	European society of cardiology
et al.	et alii/aliae/alia (und andere)
IQR	Interquartilsabstand
kg KG	Kilogramm Körpergewicht
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
MAX	Maximum
MED	Median
MIN	Minimum
MR-Antagonist	Mineralokortikoidrezeptor-Antagonist
MW	Mittelwert
n	Anzahl, bei denen Wert erhoben werden konnte
n.s.	nicht signifikant
NP	nichtparametrisches Testverfahren: Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei einer Stichprobe bzw. bei verbundenen Stichproben, Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben
NT-proBNP	N-terminal pro Brain Natriuretic peptide
NYHA	New York Heart Association
P	parametrisches Testverfahren: Einstichproben T Test, T Test bei verbundenen Stichproben, T Test bei unabhängigen Stichproben
RR	Riva Rocci, arterieller Blutdruck
RR Dias.	diastolischer Blutdruck
RR Sys.	systolischer Blutdruck
STAW	Standardabweichung
z.B.	zum Beispiel

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: EINTEILUNG DER VIRAL BEDINGTEN MYOKARDITIS NACH MYOKARDIALER FUNKTIONSEINSCHRÄNKUNG, ENTZÜNDUNGS- UND VIRUSAKTIVITÄT	14
ABBILDUNG 2: ÜBERSICHT KOLLEKTIVE	27
ABBILDUNG 3: KOLLEKTIVE "GEBESSERTE PATIENTINNEN" UND "NICHT GEBESSERTE PATIENTINNEN"	28
ABBILDUNG 4: KOLLEKTIVE "AZATHIOPRINDOSIS/KG KG \geq MEDIAN" UND "AZATHIOPRINDOSIS/KG KG < MEDIAN"	28
ABBILDUNG 5: KOLLEKTIVE "CORTISONDOSIS/KG KG \geq MEDIAN" UND "CORTISONDOSIS/KG KG < MEDIAN"	28
ABBILDUNG 6: ENTWICKLUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE (MITTELWERTE) VON 1. ZU 2. BIOPSIE BEI THERAPIERTEN PATIENTINNEN MIT 2. ENDOMYOKARDBIOPSIE.....	33
ABBILDUNG 7: VERTEILUNG NYHA STADIEN GEBESSERTE PATIENTINNEN.....	35
ABBILDUNG 8: VERTEILUNG NYHA STADIEN NICHT GEBESSERTE PATIENTINNEN.....	35
ABBILDUNG 9: ENTWICKLUNG DES NT-PROBNP (MEDIANE) VON 1. ZU 2. BIOPSIE BEI GEBESSERTEN UND NICHT GEBESSERTEN PATIENTINNEN	40
ABBILDUNG 10: ENTWICKLUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE (MITTELWERTE) VON 1. ZU 2. BIOPSIE BEI GEBESSERTEN PATIENTINNEN	41
ABBILDUNG 11: ENTWICKLUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE (MITTELWERTE) VON 1. ZU 2. BIOPSIE BEI NICHT GEBESSERTEN PATIENTINNEN	41
ABBILDUNG 12: VERTEILUNG DER DIAGNOSEN DER GEBESSERTEN PATIENTINNEN.....	42
ABBILDUNG 13: ENTWICKLUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE (MITTELWERTE) VON 1. ZU 2. BIOPSIE BEI DEN GEBESSERTEN PATIENTINNEN, DIE NICHT VOLLSTÄNDIG ENTZÜNDUNGSFREI WURDEN	43
ABBILDUNG 14: ENTWICKLUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE (MITTELWERTE) VON 2. ZU 3. BIOPSIE BEI NICHT GEBESSERTEN PATIENTINNEN (AUßER RIESENZELLMYOKARDITIS).....	45
ABBILDUNG 15: ENTWICKLUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE (MITTELWERTE) VON 1. ZU 2. BIOPSIE BEI PATIENTINNEN MIT AZATHIOPRINDOSIS/KG KG \geq MEDIAN	48
ABBILDUNG 16: ENTWICKLUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE (MITTELWERTE) VON 1. ZU 2. BIOPSIE BEI PATIENTINNEN MIT AZATHIOPRINDOSIS/KG KG < MEDIAN	48
ABBILDUNG 17: ENTWICKLUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE (MITTELWERTE) VON 1. ZU 2. BIOPSIE BEI PATIENTINNEN MIT CORTISONDOSIS/KG KG \geq MEDIAN	50
ABBILDUNG 18: ENTWICKLUNG DER IMMUNHISTOCHEMIE (MITTELWERTE) VON 1. ZU 2. BIOPSIE BEI PATIENTINNEN MIT CORTISONDOSIS/KG KG < MEDIAN	51

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: FÜR SEMIQUANTITATIVE IMMUNHISTOCHEMIEDATEN EINGETRAGENE WERTE	25
TABELLE 2: ALGORITHMUS DIAGNOSESTELLUNG	26
TABELLE 3: GRENZWERTE DER IMMUNHISTOCHEMIE	26
TABELLE 4: AZATHIOPRIN- PLUS CORTISONTHERAPIE THERAPIERTE PATIENTINNEN	32
TABELLE 5: AZATHIOPRIN- PLUS CORTISONTHERAPIE THERAPIERTE PATIENTINNEN MIT 2. ENDOMYOKARDBIOPSIE	32
TABELLE 6: GRUNDDATEN GEBESSERTE PATIENTINNEN.....	34
TABELLE 7: GRUNDDATEN NICHT GEBESSERTE PATIENTINNEN.....	34
TABELLE 8: ECHOKARDIOGRAPHIE GEBESSERTE UND NICHT GEBESSERTE PATIENTINNEN	36
TABELLE 9: VERGLEICH LABOR GEBESSERTE UND NICHT GEBESSERTE PATIENTINNEN 1. BIOPSIE	36
TABELLE 10: IMMUNHISTOLOGIE GEBESSERTE PATIENTINNEN.....	37
TABELLE 11:IMMUNHISTOLOGIE NICHT GEBESSERTE PATIENTINNEN	38
TABELLE 12: AZATHIOPRINTHERAPIE GEBESSERTE UND NICHT GEBESSERTE PATIENTINNEN (1. THERAPIE)	38
TABELLE 13: CORTISONTHERAPIE GEBESSERTE UND NICHT GEBESSERTE PATIENTINNEN (1. THERAPIE)	39
TABELLE 14: VERGLEICH LABOR GEBESSERTE UND NICHT GEBESSERTE PATIENTINNEN 2. BIOPSIE	39
TABELLE 15: 2. AZATHIOPRIN- PLUS CORTISONTHERAPIE NICHT GEBESSERTE PATIENTINNEN	43
TABELLE 16: GEWICHT UND BMI PATIENTINNEN MIT AZATHIOPRINDOSIS/KG KG >= BZW. < MEDIAN (=1,16 MG/KG KG).....	46
TABELLE 17: AZATHIOPRINTHERAPIE BEI PATIENTINNEN MIT AZATHIOPRINDOSIS/KG KG >= UND < MEDIAN (=1,16 MG/KG KG)	47
TABELLE 18: CORTISONTHERAPIE BEI PATIENTINNEN MIT AZATHIOPRINDOSIS/KG KG >= UND < MEDIAN (=1,16 MG/KG KG)	47
TABELLE 19: GEWICHT UND BMI PATIENTINNEN MIT CORTISONDOSIS/KG KG >= BZW. < MEDIAN	49
TABELLE 20: AZATHIOPRINTHERAPIE BEI PATIENTINNEN MIT CORTISONDOSIS/KG KG >= UND < MEDIAN ..	49
TABELLE 21: CORTISONTHERAPIE BEI PATIENTINNEN MIT CORTISONDOSIS/KG KG >= UND < MEDIAN	50

1 Einleitung

1.1 Myokarditis

Die WHO definierte die Myokarditis 1995 als entzündliche Erkrankung des Myokards. (1) Im Jahr 2013 betrug die Inzidenz der Myokarditis 22 pro 100.000 Personen, was ungefähr 1.500.000 Fällen in der Weltbevölkerung entspricht. (2) Der Anteil der Myokarditis an der Prävalenz der Herzinsuffizienz beträgt, abhängig von Alter und Region, 0,5% bis 4,0%. (3) 2016 starben ungefähr 340.000 PatientInnen an Myokarditis und Cardiomyopathien, wobei die altersstandardisierte Mortalität 5,2 pro 100.000 Personen betrug. (4) Die Myokarditis ist für den plötzlichen Herztod in ungefähr 2% der plötzlichen Todesfälle der Neugeborenen und Säuglinge, 5% der Kinder und 6% der jungen Athleten verantwortlich. (5–8) In Japan konnte bei 6 von 200 (3%) histologisch abgeklärten plötzlichen Herztoden eine Myokarditis nachgewiesen werden. (8, 9)

1.1.1 Ätiologie

Eine Myokarditis kann durch viele unterschiedliche infektiöse und nicht-infektiöse Agenzien ausgelöst werden:

Die häufigste Ursache sind virale Infektionen und post-virale immunvermittelte Prozesse, die zu einer postinfektiösen inflammatorischen Cardiomyopathie führen können. (10–13)

Zu diesen cardiotropen Viren gehören unter anderem Parvovirus B19 (Gattung: Erythrovirus), Coxsackie B Virus (Gattung: Enterovirus), Humanes Herpesvirus 6 (HHV6), Adenovirus und Epstein Barr Virus (EBV). (14–20)

Nichtvirale infektiöse Auslöser der Myokarditis sind Bakterien, wie *Borrelia burgdorferi* und *Corynebacterium diphtheriae*, Parasiten, wie zum Beispiel *Trypanosoma cruzi*, und Pilze. (12, 13, 21, 22) Auch eine nicht erfolgreich antibiotisch behandelte Streptokokkeninfektion kann über Autoimmunität in einer rheumatischen Carditis enden. (23)

Zu den nichtinfektiösen Ursachen zählen unter anderem Medikamente, wie Antipsychotika (z.B. Clozapin), Antibiotika (z.B. Ampicillin, Amoxicillin) oder Antiphlogistika (z.B. Mesalazin), die eine hypersensitive eosinophile Myokarditis induzieren können. (24–27) Weiters konnte die Pockenimpfung mit der Myokarditis assoziiert werden. (28, 29) Eine Myokarditis kann auch im Zusammenhang mit systemischen Erkrankungen, wie dem Churg-Strauss Syndrom, der Sarkoidose oder dem hypereosinophilen Syndrom, auftreten.

(30–32) Eine noch zu erwähnende seltene Form der myokardialen Entzündung ist die Riesenzellmyokarditis. (33)

1.1.2 Pathophysiologie (der viral bedingten Myokarditis)

Die Pathophysiologie der viral bedingten Myokarditis ist komplex und umfasst zwei Phasen.

In der ersten Phase kommt es je nach Virus zur Infektion von Cardiomyozyten, Fibroblasten und/oder Endothelzellen durch rezeptorvermittelte Endozytose und das angeborene Immunsystem (Makrophagen, NK-Zellen, Zytokine) wird aktiviert. (13, 34–39) Schäden in dieser Phase können sowohl durch direkt viral-vermittelte lytische Prozesse als auch durch die antivirale Immunantwort entstehen. (13, 40–42) Die Infektion des Endothels ist mit endothelialer Dysfunktion assoziiert und damit mit langfristiger Krankheitsprogression. (43, 44)

In der zweiten Phase kommt es zur Aktivierung der spezifischen Immunabwehr (T-Zellen, B-Zellen, Antikörper), die zwar wichtig für die Eliminierung der Viren ist, jedoch auch weitere Schäden am Myokard bedingen kann, wenn beispielsweise B-Zellen Antikörper produzieren, die Cardiomyozyten verletzen. (13, 45, 46) Nicht in allen Fällen kann das Immunsystem die Viren eliminieren, sodass es auch zu einer Viruspersistenz kommen kann. (14) Im gesunden Immunsystem wird die Entzündungsreaktion nach Eliminierung des infektiösen Pathogens heruntergefahren. Es kann unter Umständen jedoch zu einer chronischen Immunstimulation und Autoimmunreaktion durch inkomplette Viruselimination oder als Reaktion auf virus- und immunvermittelte chronische Gewebsschäden kommen. (13, 47)

Falls die Viren eliminiert werden und der eventuell vorhandene Autoimmunprozess abklingt, hängt der weitere Krankheitsverlauf vom Ausmaß des verbleibenden Gewebes Schadens ab. (13, 48)

1.1.3 Einteilung der viral bedingten Myokarditis

Je nach myokardialer Funktionseinschränkung, Entzündungs- und Virusaktivität können folgende Formen der viral bedingten Myokarditis, die sich aus der akuten viralen Myokarditis entwickeln, unterschieden werden: (siehe Abbildung 1 unten)

- Das Immunsystem eliminiert die Viren und die Entzündungsreaktion klingt rasch ab. Bei einer Restitutio ad integrum spricht man von einer abgeheilten Myokarditis. Gibt es jedoch entzündungs- oder virusbedingte Schäden am Myokard, die zu einer

Ventrikeldilatation und eingeschränkter linksventrikulärer Funktion führen, so spricht man von einer dilatativen Cardiomyopathie.

- Das Immunsystem eliminiert die Viren, die Entzündung besteht jedoch weiter. Abhängig davon, ob eine myokardiale Funktionseinschränkung besteht, handelt es sich um eine chronische Myokarditis (keine wesentlichen myokardialen Einschränkungen) oder eine inflammatorische Cardiomyopathie (chronisch eingeschränkte Funktion des linken Ventrikels).
- Kann das Immunsystem die Viren nicht eliminieren, kommt es zu einer Viruspersistenz und man spricht von einer viralen Herzmuskelerkrankung. Dabei handelt es sich um eine chronische Virusinfektion, die mit oder ohne begleitender Herzmuskelentzündung und mit oder ohne Einschränkung der myokardialen Funktion ablaufen kann. (49)

Virus eliminiert				Virus persistiert
Entzündung heilt aus		Entzündung besteht fort		Herzmuskelentzündung vorhanden oder nicht vorhanden
<i>Keine myokardialen Schäden</i>	<i>Linksventrikuläre Funktion eingeschränkt</i>	<i>Keine myokardiale Einschränkung</i>	<i>Linksventrikuläre Funktion eingeschränkt</i>	<i>Myokardiale Funktion eingeschränkt oder normal</i>
Abgeheilte Myokarditis	Dilatative Cardiomyopathie	Chronische Myokarditis	Inflammatorische Cardiomyopathie	Virale Herzmuskelerkrankung

Abbildung 1: Einteilung der viral bedingten Myokarditis nach myokardialer Funktionseinschränkung, Entzündungs- und Virusaktivität

1.1.4 Klinisches Erscheinungsbild

Die Intensität der Beschwerden bei einer Myokarditis kann stark variieren und reicht von asymptomatischen Verläufen über milde Symptome bis hin zum lebensbedrohlichen kardiogenen Schock und nicht weniger gefährlichen ventrikulären Arrhythmien. Weitere Symptome sind Brustschmerzen, Palpitationen, sowie Zeichen einer akuten oder chronischen Herzinsuffizienz wie Dyspnoe, Erschöpfung und periphere Ödeme. Oft ist in der Anamnese ein gastrointestinaler oder respiratorischer Infekt einige Wochen vor Beginn der Beschwerden erhebbbar. (50)

1.1.5 Diagnose und Prognose

1.1.5.1 Labor und Serologie

Marker für kardiale Schädigung wie Troponine und Creatinkinase sind nur bei einem kleinen Teil aller MyokarditispatientInnen im Labor erhöht, können jedoch bei der Bestätigung der Diagnose helfen. Troponin I hat eine hohe Spezifität (89%) aber geringe

Sensitivität (34%). Troponin I und/oder Troponin T sind bei Myokarditis häufiger erhöht als Creatinkinase MB. (51, 52)

Auch unspezifische Entzündungsmarker im Serum wie CRP,

Blutsenkungsgeschwindigkeit und Leukozytenzahl können erhöht sein. (13)

Die Virusserologie hat aufgrund der geringen Sensitivität (9%) und des geringen positiven prädiktiven Werts (25%) keine Bedeutung für die Diagnose einer viralen Myokarditis. (53)

1.1.5.2 Elektrokardiogramm

Das EKG ist bei einer Myokarditis in vielen Fällen abnormal, jedoch sind die Veränderungen weder sehr spezifisch noch sensitiv. Vorkommende EKG Veränderungen sind unter anderem Sinusarrest, supraventrikuläre und ventrikuläre Tachykardien, Vorhof- und Kammerflimmern, Asystolie, AV-Blöcke, verbreiterte QRS Komplexe und Schenkelblöcke, ST-Strecken Hebungen und Senkungen, T-Wellen Negativierungen, pathologische Q-Zacken, Niedervoltage, Extrasystolen und Verkleinerungen der R-Zacke. (50, 54, 55)

Ob das Vorhandensein einer pathologischen Q-Zacke prognostischen Wert besitzt, ist unklar. Während eine pathologisch breite Q-Zacke ($>40\text{ms}$) in der Studie von Nakashima et al. mit einer höheren Inzidenz für kardiogenen Schock und einer höheren Letalität während des Krankenhausaufenthalts vergesellschaftet war (56), konnten Ukena und Kollegen keinen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von pathologischen Q-Zacken und der Zeit bis zum Herztod bzw. zur Herztransplantation nachweisen. (55)

Eine verlängerte QRS-Dauer $\geq 120\text{ms}$ bei PatientInnen mit vermuteter Myokarditis ist ein unabhängiger Prognosefaktor für Herztod oder Herztransplantation. (55)

1.1.5.3 Echokardiographie

Es gibt keine spezifischen echokardiographischen Zeichen für Myokarditis. (57) Die Echokardiographie kann jedoch hilfreich beim Ausschluss nichtentzündlicher Herzerkrankungen, wie Klappenvitien, sein. Außerdem kann sie zur Beurteilung der Dimensionen der Herzhöhlen, Ventrikelfunktion und Wanddicke, sowie zum Ausschluss bzw. zur Feststellung eines Perikardergusses bei PatientInnen mit Myokarditis verwendet werden. (50)

Unter anderem können bei Myokarditis globale ventrikuläre Dysfunktion, regionale Wandbewegungsstörungen und diastolische Dysfunktion bei erhaltener Ejektionsfraktion auftreten. (50, 57, 58) Eine histologisch gesicherte Myokarditis kann echokardiographisch

einer dilatierten, hypertrophen oder restriktiven Cardiomyopathie gleichen oder eine koronare Herzkrankheit simulieren. (57)

Eine fulminante Myokarditis präsentiert sich oft mit nahezu normalen linksventrikulären Dimensionen und verdicktem Septum durch myokardiale Ödeme, wohingegen sich die akute Myokarditis eher mit dilatiertem linken Ventrikel und normaler Septumdicke zeigt. Da sich die Ventrikelfunktion nach 6 Monaten bei fulminanter Myokarditis stärker bessert als bei akuter Myokarditis, könnte die Echokardiographie prognostischen Wert für das Outcome haben. (58)

1.1.5.4 Kardiale Magnetresonanztomographie

Die Kardiale Magnetresonanztomographie (cMRT) Diagnostik erlaubt durch unterschiedliche Sequenzen die Darstellung verschiedener pathophysiologischer Prozesse im Myokard wie beispielsweise Ödeme, Hyperämie, Fibrose und Nekrose. (59–63)

Die Lake Louise Kriterien besagen, dass zwei von drei Kriterien (**Ödeme** - T2 weighted Imaging. **Hyperämie und kapillare Leakage** - Early Gadolinium Enhancement. **Nekrose und Fibrose** - Late Gadolinium Enhancement) für eine Myokarditis vorliegen müssen, damit eine radiologische Diagnose der Myokarditis erfolgen kann. (63) Bei PatientInnen mit Verdacht auf akute Myokarditis (Symptome \leq 14 Tage) schnitten diese Kriterien mit einer Sensitivität von 81% und einer Spezifität von 71% gut ab. Bei Verdacht auf chronische Myokarditis (Symptome $>$ 14 Tage) waren die Lake Louise Kriterien mit einer Sensitivität von 63% und einer Spezifität von 40% jedoch weniger zufriedenstellend. (64) Neuere T1 und T2 Mapping Techniken erlauben die direkte quantitative Messung der Relaxationszeit und konnten vor allem für PatientInnen mit Symptomen \leq 14 Tage teils bessere Ergebnisse liefern als die Lake Louise Kriterien. Bei Personen mit länger bestehenden Symptomen erreichte nur T2 Mapping eine akzeptable Area under the ROC (=Receiver Operating Characteristics) curve (AUC). (8, 65)

Die Nichtinvasivität der cMRT ist der wichtigste Vorteil. Ein großer Nachteil der cMRT Diagnostik ist jedoch, dass diese allein das Vorhandensein von cardiotropen Viren nicht zeigt, was für die Entscheidung, welche Art von Therapie der/die PatientIn erhält jedoch essentiell ist. (66)

1.1.5.5 Nuklearmedizinische Diagnostik

Nuklearmedizinische Methoden spielen vor allem bei der Diagnose der kardialen Sarkoidose eine Rolle. Die Kombination der Fluorodeoxyglucose-Positronen-Emissions-Tomographie (FDG-PET) mit der Myokardperfusionsszintigraphie detektiert aktive

Entzündungen und Narbengewebe. Zu Beginn der kardialen Sarkoidose zeigt sich eine FDG-Anreicherung ohne Perfusionsdefekt, während fortgeschrittene Stadien eine FDG-Anreicherung mit Perfusionsdefekt zeigen. Nach Ausbrennen der Granulome oder der therapeutischen Unterdrückung der Entzündung kann der Perfusionsdefekt persistieren, ohne dass eine aktive Entzündung vorhanden ist. Mithilfe der FDG-PET können außerdem extrakardiale entzündete Lymphknoten, die einer Biopsie gut zugänglich sind, geortet werden. (8, 67–69)

Die Kombination der Untersuchungen FDG-PET plus Myokardperfusionsszintigraphie hat aber auch prognostischen Wert. PatientInnen, die sowohl eine abnormale FDG Anreicherung als auch eine abnormale Perfusion zeigten, und Personen mit abnormaler FDG Anreicherung im rechten Ventrikel, hatten ein signifikant höheres Risiko für ventrikuläre Tachykardien und Tod. (70)

1.1.5.6 Endomyokardbiopsie

Die Endomyokardbiopsie ist der Goldstandard in der Diagnostik der Myokarditis, da nur diese Methode neben einer histologischen Untersuchung die qualitative und quantitative Beurteilung der Entzündung mithilfe der Immunhistochemie, sowie einen direkten Erregernachweis mit molekularbiologischen Methoden erlaubt. (12, 15, 71) Diese Untersuchungen stellen die Grundlage für eine krankheitsspezifische (z.B. bei Riesenzellmyokarditis) bzw. erregerspezifische kausale Therapie. (72, 73) Durch die Unterscheidung der verschiedenen Formen der Myokarditis durch die Biopsie und das unterschiedliche Outcome dieser Erkrankungen, hat die Endomyokardbiopsie auch prognostischen Wert. (72)

Mindestens 3, bzw. laut anderen Quellen mindestens 5 Proben, meist vom interventrikulären Septum des rechten Ventrikels, sollten entnommen werden, um den Probenentnahmefehler („Sampling Error“) möglichst gering zu halten und damit die Sensitivität dieser Methode zu erhöhen. Seltener wird auch der linke Ventrikel biopsiert. (50, 74–78) Die Sensitivität der Endomyokardbiopsie kann durch Probenentnahme beider Ventrikel weiter gesteigert werden. (79)

Schwere Komplikationen treten in unter 1% der Fälle auf. (79, 80)

Die Dallas Kriterien ermöglichen eine histologische Diagnose der Myokarditis. Sind ein entzündliches Infiltrat sowie damit assoziierte Myokardzellnekrosen oder –schäden vorhanden, kann die Diagnose Myokarditis gestellt werden. Bei nur geringem

entzündlichem Infiltrat und fehlenden Myokardzellnekrosen/-schäden spricht man von einer Borderline-Myokarditis. Aufgrund der im Vergleich zur Immunhistologie geringeren Sensitivität und fehlendem prognostischem Wert rücken die Dallas Kriterien aktuell jedoch immer mehr in den Hintergrund. (81–83)

In der Immunhistochemie werden verschiedene Zelltypen mittels Antikörpern identifiziert und gezählt, was eine qualitative und quantitative Beurteilung des inflammatorischen Infiltrats erlaubt. Unter anderem werden CD3-, CD45-, HLA-1-, CD2-, Perforin-, LFA-1-, CD45R0- und Mac-1-positive Zellen bewertet. (71, 84, 85) Typische Grenzwerte für die Diagnose der Myokarditis sind 14 Leukozyten/mm² bzw. 7 CD3-positive-Zellen/mm². (50, 71, 84, 86) Wie schon oben erwähnt konnte die immunhistologische Analyse die Sensitivität der Endomyokardbiopsie erhöhen. Außerdem ist eine immunhistologisch nachgewiesene Entzündung mit einer schlechteren Prognose vergesellschaftet. (83)

Ein weiterer großer Vorteil der Endomyokardbiopsie ist die Möglichkeit potentiell vorhandene virale DNA bzw. RNA aus den Biopsaten zu extrahieren und mittels PCR bzw. Reverse-Transkriptase-PCR zu amplifizieren. Auf diese Weise kann die virale Herzmuskelerkrankung diagnostiziert werden und einer spezifischen antiviralen Therapie zugeführt werden. Außerdem kann mit dieser Methode eine Viruspersistenz vor Beginn einer immunsuppressiven Therapie ausgeschlossen werden. Typische cardiotrope Viren, auf deren DNA/RNA untersucht wird, sind unter anderem Adenovirus, Enterovirus, Humanes Herpesvirus 6, Epstein Barr Virus und Parvovirus B19. (15, 71, 73) Die Quantifizierung der Viruslast sowie die Bestimmung der Virusreplikation liefern weitere diagnostische Informationen. (87)

1.1.6 Therapie

Die Therapie der Myokarditis setzt sich aus der konventionellen Therapie der Herzinsuffizienz und von Arrhythmien, sowie, wo vorhanden, gezielten ursachenspezifischen Therapien zusammen. (50)

1.1.6.1 Konventionelle Therapie

Die Therapie der Herzinsuffizienz mit Diuretika, ACE-Hemmern und ARBs, Beta-Blockern, MR-Antagonisten, ARNIs und Ivabradin erfolgt nach den aktuellen ESC Guidelines. (88)

Bei hämodynamisch instabilen PatientInnen kann ein ventrikulärer Assist Device oder eine extrakorporale Membranoxygenation als Überbrückung bis zur Erholung oder potentiell erforderlichen Herztransplantation notwendig werden. (50, 88–91)

Ein kompletter atrioventrikulärer Block kann den temporären Einsatz eines Schrittmachers erforderlich machen. (50, 92) Da die Myokarditis auch komplett ausheilen kann, ist die Indikationsstellung für die Implantation eines implantierbaren Kardioverter-Defibrillators (ICD) kontrovers. Bridging mittels eines tragbaren externen ICD bei PatientInnen mit schweren ventrikulären Arrhythmien (Ventrikuläre Tachykardie, Kammerflimmern) könnte eine Lösung dieses transienten Problems sein. (50, 93)

Sport sollte während der akuten Phase der Myokarditis und für mindestens 6 Monate vermieden werden. (50, 94, 95)

1.1.6.2 Spezifische Therapie

1.1.6.2.1 Antivirale Therapie

Aciclovir, Ganaciclovir und Valaciclovir könnten in der Therapie von PatientInnen mit Myokarditis mit nachgewiesener myokardialer Herpesinfektion erwogen werden, jedoch ist die Wirksamkeit dieser Medikamente bei Myokarditis nicht bewiesen. (50, 96)

Eine Behandlung von PatientInnen mit linksventrikulärer Dysfunktion und Nachweis von Enterovirus- oder Adenovirus-Genom im Myokard mit Interferon-beta zeigte eine Elimination der Virusgenome bei allen PatientInnen sowie eine Abnahme der linksventrikulären Dimensionen und eine Zunahme der linksventrikulären Ejektionsfraktion. (73) Weiters konnte gezeigt werden, dass eine Interferon-beta Therapie, sowie generell eine Enteroviruselimination, bei Enterovirus-assoziiierter Cardiomyopathie mit einer besseren 10 Jahres Prognose assoziiert ist. (97) Außerdem führt die Interferon-beta Therapie bei der Entero-, Adeno- und/oder Parvovirus B19-positiven viralen Herzmuskelerkrankung zu einer Reduktion der Parvovirus B19 Viruslast und zu einer Besserung der NYHA Klasse. (98)

1.1.6.2.2 Immunglobuline

Die Daten bezüglich der Wirksamkeit der intravenösen Gabe von Immunglobulinen bei Myokarditis widersprechen sich. (99–106) Ob, bei welchen Formen der Myokarditis (z.B. nur viruspositive oder virusnegative Formen) und bei welchen PatientInnen (z.B. nur Kinder) diese Therapie wirksam ist, werden zukünftige, groß angelegte, kontrollierte und randomisierte Studien noch zeigen müssen.

1.1.6.2.3 Immunadsorption

Ziel der Immunadsorption ist die Eliminierung von antikardialen Antikörpern, die bei PatientInnen mit Myokarditis und dilatativer Cardiomyopathie identifiziert worden sind. (12, 107) Es konnte gezeigt werden, dass die Entfernung zirkulierender Antikörper durch Immunadsorption bei dilatativer Cardiomyopathie humorale Marker der Schwere der Herzinsuffizienz (NT-proBNP), körperliche Belastbarkeit und hämodynamische Parameter (Herz- und Schlagindex, totaler peripherer Widerstand, linksventrikuläre Ejektionsfraktion) bessert. (107–110) Auch bei PatientInnen mit inflammatorischer Cardiomyopathie konnte durch Therapie mit Immunadsorption die linksventrikuläre Ejektionsfraktion gebessert werden, weiters verringerte sich der enddiastolische Durchmesser des linken Ventrikels. (111) Derzeit läuft eine multizentrische, randomisierte, doppelblinde, prospektive Studie über die Effekte der Immunadsorption auf die kardiale Funktion bei 200 PatientInnen mit dilatativer Cardiomyopathie ([NCT00558584](https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT00558584)).

1.1.6.2.4 Immunsuppression

Die kardiale Sarkoidose wird oft mit Steroiden therapiert. Weitere verwendete Immunsuppressiva sind unter anderem Azathioprin und Methotrexat. Bei PatientInnen mit schwer eingeschränkter linksventrikulärer Funktion (Ejektionsfraktion < 35%) kann eine Steroidtherapie die Ejektionsfraktion verbessern. Bei 20% der PatientInnen mit komplettem atrioventrikulärem Block führt eine Steroidtherapie zur Erholung der kardialen Überleitung. Jedoch sind all dies Ergebnisse retrospektiver Studien und es besteht dringender Bedarf für prospektive, kontrollierte Studien, um die Therapie der kardialen Sarkoidose zu verbessern. (112)

Die Therapie der Riesenzellmyokarditis mit Cyclosporin plus Steroiden (teilweise in Kombination mit Azathioprin bzw. Muromonab-CD3) konnte in einer retrospektiven Studie das mediane Überleben (bis zu Tod, Transplantation oder Ende des Follow-Up) auf 12,6 Monate verlängern. Bei PatientInnen ohne Immunsuppression betrug diese Zeitspanne im Median nur 3,0 Monate. (72) Bei histologischen Untersuchungen konnte festgestellt werden, dass die Kombinationstherapie aus Cyclosporin, Steroiden und teils Muromonab-CD3 die myokardiale Entzündung mildert. (113) Das Beenden oder Reduzieren der Immunsuppression kann zu einem teils fatalen Relaps der Riesenzellmyokarditis führen. (113, 114)

Die virusnegative inflammatorische Cardiomyopathie spricht gut auf eine Kombinationstherapie aus Azathioprin plus Cortison an. Bei einer Cortisonstartdosis von 1mg/kg KG/Tag und einer Azathioprinosis von 2mg/kg KG/Tag besserten sich bei der prospektiven, randomisierten, doppelblinden TIMIC Studie die linksventrikuläre Ejektionsfraktion, sowie die linksventrikulären Dimensionen und Volumina. Bei der mit Placebo therapierten Kontrollgruppe verschlechterten sich diese Parameter hingegen. Genauer gesagt zeigten 88% der mit Azathioprin plus Cortison therapierten PatientInnen eine Besserung der kardialen Funktion und Dimensionen, definiert als Erhöhung der linksventrikulären Ejektionsfraktion >10% und Verringerung des enddiastolischen linksventrikulären Durchmessers oder Volumens $\geq 10\%$. Der Anteil der therapierten Personen, die sich um mindestens 1 NYHA Stadium besserten, betrug 49%. In der Kontrollgruppe besserte sich das NYHA Stadium nicht. (71)

Escher und Kollegen zeigten, dass die linksventrikuläre Ejektionsfraktion bei gleicher Therapie und Dosis nach Therapieende auch langfristig gebessert bleibt und dass bei immunhistologischen Untersuchungen durch die Therapie die CD3-, CD2- und Perforin-positiven Zellen, sowie das Zelladhäsionsmolekül HLA-1 abnehmen. (84)

1.2 Forschungsfrage und Zielsetzung der Diplomarbeit

Diese Diplomarbeit beschäftigt sich speziell mit der (virusnegativen) inflammatorischen Cardiomyopathie. Wie oben beschrieben, sprechen die meisten dieser PatientInnen auf eine 6-monatige Immunsuppression mit Azathioprin und Cortison an, jedoch leider nicht alle. Ziel dieser Diplomarbeit ist es herauszuarbeiten, wie häufig eine Besserung bzw. Heilung nach den ersten 6 Monaten Immunsuppression (an der Kardiologie des LKH Universitätsklinikums Graz) ist, wie typische PatientInnen mit einem nicht ausreichenden Ansprechen auf die Immunsuppression charakterisiert sind und ob diese nach einem 2. Zyklus dann gebessert/geheilt werden können.

Eine zentrale Hypothese dieser Arbeit ist, dass ein Grund für das Ausbleiben des Therapieerfolgs bei einem Teil der PatientInnen eine relative Unterdosierung der Wirkstoffe bezogen auf das Körpergewicht bei PatientInnen mit höherem Körpergewicht bzw. BMI ist. Ein weiteres Ziel ist die Überprüfung dieser Hypothese.

Der Nutzen dieser Arbeit für die klinische Praxis liegt darin, dass in weiterer Folge in zukünftigen Fällen je nach Charakterisierung des Patienten/der Patientin eine Prognose für das Ansprechen auf Immunsuppression gegeben werden kann, sowie, sollte die oben

beschriebene Hypothese zutreffen, gegebenenfalls die Dosierung entsprechend angepasst werden kann.

2 Material und Methoden

Im Rahmen dieser als retrospektive Datenanalyse aufgebauten Diplomarbeit wurden Archivdaten von 245 PatientInnen erhoben. Die Daten stammen sowohl aus OpenMEDOCS als auch aus Pathologiebefunden der Endomyokardbiopsien und inkludieren alle weiblichen und männlichen PatientInnen, die seit Einführung der Endomyokardbiopsie an der Kardiologie des LKH Universitätsklinikums Graz im Jahr 2008 biopsiert wurden und deren 1. Biopsie bis inklusive 15.03.2017 durchgeführt wurde. Potentiell durchgeführte weitere Kontrollbiopsien dieser PatientInnen wurden bis inklusive Biopsiedatum 16.10.2017 erhoben. Das Patientengut wurde nicht nach Alter, Geschlecht oder Vorerkrankungen selektiert.

Die Archivdaten stammen von der Kardiologie des LKH Universitätsklinikums Graz. Die Diagnose der virusnegativen Myokarditis bzw. der inflammatorischen Cardiomyopathie und die Kontrolle auf Therapieansprechen nach 6-monatiger Immunsuppression erfolgte mittels Endomyokardbiopsie und wurde bereits durch die Kardiologie des LKH Universitätsklinikums Graz unabhängig von dieser Diplomarbeit durchgeführt.

Hauptzielgröße dieser Arbeit ist das Auftreten bzw. Ausbleiben einer Heilung/Besserung nach erster 6-monatiger immunsuppressiver Therapie bei therapierten und kontrollbiopsierten PatientInnen. Weitere Zielgrößen sind die CD3-, LFA-1-, CD45R0-, Perforin- und Mac-1-positiven Zellen/mm² bei der 1., 2. und 3. Biopsie, die Veränderung dieser Immunhistochemiewerte zwischen den Biopsien, sowie das Auftreten einer Besserung nach einem 2. Zyklus Immunsuppression bei Personen, die ein zweites Mal therapiert und kontrollbiopsiert wurden.

2.1 Datenerhebung

Die im Zuge der Diplomarbeit erhobenen Archivdaten wurden in eine Datenverarbeitungstabelle (MS Excel, Microsoft Corp.) eingetragen. Dabei wurden folgende Daten erfasst:

2.1.1 Grunddaten

Es wurden Geschlecht, Geburtsdatum, Körpergröße in cm, Gewicht in kg, systolischer und diastolischer Blutdruck in mmHg, Symptombeginn in Monaten vor der 1. Biopsie sowie NYHA Stadium zum Zeitpunkt der 1. Biopsie erhoben. Bei in der medizinischen Dokumentation angegeben NYHA-„Zwischenstadien“ (wie zum Beispiel I bis II) wurde das schlechtere Stadium in die Exceltabelle eingetragen (in diesem Beispiel II).

Weiters wurde der BMI in kg/m² aus Gewicht und Körpergröße sowie das Alter in Jahren zum Zeitpunkt der 1. Biopsie aus Biopsiedatum und Geburtsdatum berechnet.

2.1.2 EKG Daten zum Zeitpunkt der 1. Biopsie

Frequenz in Schlägen pro Minute sowie Rhythmus wurden erhoben.

Für die in Archivdaten teils semiquantitativ angegebenen Frequenzdaten „bradycard“ wurden 50 Schläge/min und für „normocard“ 70 Schläge/min in die Tabelle eingetragen. Der Rhythmus wurde in folgende Kategorien eingeteilt: Sinusrhythmus, Vorhofflattern, Vorhofflimmern und Schrittmacherrhythmus.

2.1.3 Echokardiographie zum Zeitpunkt der 1. Biopsie ± 3 Monate

Hier wurde die Ejektionsfraktion des linken Ventrikels in Prozent sowie der Durchmesser von rechtem und linkem Ventrikel in mm erhoben.

Für die in den Archivdaten teils semiquantitativ angegebene linksventrikuläre Ejektionsfraktion wurde für „normal“ 65%, für „grenzwertig“ 55%, für „leicht reduziert“ 50% und für „höhergradig reduziert“ 30% in die Tabelle eingetragen.

Auch die Durchmesser von rechtem und linkem Ventrikel wurden im Archiv teilweise nur semiquantitativ angegeben. Hierbei wurden für den rechten Ventrikel für „normal“ 25mm, für „grenzwertig“ 30mm, für „leicht vergrößert“/„gering dilatiert“ 35mm und für „(mittelgradig) dilatiert“/„(mittelgradig) vergrößert“ 40mm in die Tabelle eingetragen. Für Zwischenangaben (wie zum Beispiel „gering bis mittelgradig dilatiert“) wurde stets der schlechtere Wert übernommen (in diesem Beispiel „mittelgradig dilatiert“ = 40mm).

Für den linken Ventrikel (enddiastolischer Diameter) wurden für „normal“ 45mm, „grenzwertig“ 50mm, für „gering vergrößert“/„gering dilatiert“ 55mm, für „(mittelgradig) vergrößert“/„(mittelgradig) dilatiert“ 60mm und für „deutlich vergrößert“/„deutlich dilatiert“ 65mm übernommen. Auch für den Durchmesser des linken Ventrikels wurde bei Zwischenangaben stets der schlechtere Wert übernommen.

2.1.4 Endomyokardbiopsien

2.1.4.1 1. Biopsie

Das Datum der Biopsie wurde erhoben.

2.1.4.1.1 Labordaten zum Zeitpunkt der 1. Biopsie

NT-proBNP (absoluter Wert und nicht adjustiert auf GFR) in pg/ml, Leukozyten in G/l, Hb in g/dl, CRP in mg/l, Kreatinin in mg/dl und Lymphozyten in G/l wurden erhoben. Für Werte außerhalb des Messbereichs wurden für NT-proBNP für <5pg/ml 1pg/ml und für >35000pg/ml 35000pg/ml und für CRP für <0,6mg/l 0,6mg/l eingetragen.

2.1.4.1.2 PCR Virusstatus

Für Erythrovirus, Humanes Herpesvirus 6 (HHV6), Epstein Barr Virus, Enterovirus und Adenovirus wurde jeweils erhoben, ob in der Endomyokardbiopsie ein Virusnachweis möglich war und, falls dies der Fall war, ob bzw. wie viele virale Kopien/ μ g myokardialer Nukleinsäure vorhanden waren und wie hoch die virale Aktivität, gemessen in mRNA Kopien/ μ g myokardialer Nukleinsäure, war. Für virale Kopien/ μ g myokardialer Nukleinsäure < Level of Detection wurde 1 Kopie/ μ g myokardialer Nukleinsäure eingetragen.

2.1.4.1.3 Histologie

Die Histologie der Biopsie wurde hinsichtlich normalem oder erhöhtem Zellgehalt, keiner oder vermehrter Fibrose und keinen oder vorhandenen frischen Nekrosen beurteilt.

2.1.4.1.4 Immunhistologie

Die Anzahl der CD3-, LFA-1-, CD45R0-, Perforin- sowie Mac-1-positiven Zellen/mm² im Biopsiepräparat wurde erhoben.

Falls nur semiquantitative Archivdaten vorhanden waren, wurden folgende Werte in die Tabelle eingetragen:

	CD3	LFA-1	CD45R0	Perforin	Mac-1
Semiquantitative vorhandene Daten	In Tabelle eingetragener Wert (in positive Zellen/mm²)				
„normal“ Biopsiedatum bis inkl. 27.07.2015	5	5		5	20
„normal“ Biopsiedatum nach 27.07.2015	10	10		1	20
„(fokal) erhöht“ Biopsiedatum bis inkl. 27.07.2015	8	10	8	10	36

Tabelle 1: für semiquantitative Immunhistochemiedaten eingetragene Werte

2.1.4.1.5 Diagnose

Die Biopsieergebnisse wurden in folgende Diagnosegruppen aufgeteilt: „Keine therapiepflichtige Pathologie“, „Viruspositiv mit Entzündung“, „Viruspositiv ohne Entzündung“, „Virusnegativ mit Entzündung“ (entspricht inflammatorischer Cardiomyopathie), „Amyloidose“, „Riesenzellmyokarditis“ und „Sarkoidose“.

Die Diagnosen „Amyloidose“, „Riesenzellmyokarditis“ und „Sarkoidose“ wurden dabei aus den Pathologiebefunden der Biopsien übernommen. Die restlichen Diagnosen wurden aus Viren PCR Daten und Immunhistologie, wie in folgender Tabelle gezeigt, gestellt:

	Keine Virus mRNA > 0 Kopien/µg myokardialer Nukleinsäure	Mindestens 1 Virus mRNA > 0 Kopien/µg myokardialer Nukleinsäure
Kein Immunhistochemieparameter (CD3, LFA-1, CD45R0, Perforin, Mac-1) > Grenzwert	„Keine therapiepflichtige Pathologie“	„Viruspositiv ohne Entzündung“
Mindestens 1 Immunhistochemieparameter (CD3, LFA-1, CD45R0, Perforin, Mac-1) > Grenzwert	„Virusnegativ mit Entzündung“	„Viruspositiv mit Entzündung“

Tabelle 2: Algorithmus Diagnosestellung

Als Grenzwerte für die Immunhistochemie gelten für Biopsien, die bis inkl. 27.07.2015 durchgeführt wurden, die alten Grenzwerte, für alle Biopsien danach gelten die neuen Grenzwerte:

	CD3	LFA-1	CD45R0	Perforin	Mac-1
Alte Grenzwerte (in positive Zellen/mm ²)	7	9	7	7	35
Neue Grenzwerte (in positive Zellen/mm ²)	14	14	40	2,9	40

Tabelle 3: Grenzwerte der Immunhistochemie

2.1.4.1.6 Immunsuppressive und antivirale Therapie nach 1. Biopsie

Es wurde erhoben, ob und wie lange (in Monaten) Azathioprin, Cortison, Cyclosporin, Muromonab-CD3 (anti-CD3-AK), Interferon-beta, Valaciclovir und Telbivudine eingenommen wurden. Für Azathioprin, Cortison, Muromonab-CD3, Valaciclovir und Telbivudine wurde außerdem die Starttagesdosis in mg erfasst sowie die Starttagesdosis/Körpergewicht in mg/kg KG berechnet. Für Cyclosporin wurde hingegen

der minimale Zieltalspiegel in ng/ml in die Tabelle eingetragen, für Interferon-beta die Starttagesdosis in Millionen Einheiten sowie die Starttagesdosis/Körpergewicht in Millionen Einheiten/kg KG.

2.1.4.1.7 Herzinsuffizienztherapie nach 1. Biopsie

Zusätzlich wurde in der Tabelle vermerkt, ob Beta-Blocker, ACE-Hemmer, ARNIs, AT2-Blocker, Aldosteron-Antagonisten und/oder Diuretika eingenommen wurden oder nicht.

2.1.4.2 Folgebiopsien (2., 3. und 4. Biopsie)

Für eventuell durchgeführte weitere Endomyokardbiopsien wurden genau dieselben Daten erfasst wie bei der 1. Biopsie. Für einige PatientInnen wurden zusätzlich dieselben Echokardiographiewerte wie unter „Echokardiographie zum Zeitpunkt der 1. Biopsie ± 3 Monate“ beschrieben zum Zeitpunkt der weiteren Biopsien ± 3 Monate erhoben. Außerdem wurde die medikamentöse Therapie nach der 4. Biopsie nicht mehr erhoben.

2.2 Statistik

Der Großteil der Statistik wurde mittel Microsoft Excel durchgeführt. Einige Tests auf statistische Signifikanz wurden der Einfachheit halber mit dem Statistikprogramm SPSS vollzogen.

2.2.1 Charakterisierung verschiedener Kollektive

Um, wie in der Zielsetzung dieser Arbeit festgelegt, verschiedene Kollektive an PatientInnen charakterisieren zu können, wurden die Personen anhand von Kriterien in unterschiedliche Gruppen aufgeteilt:

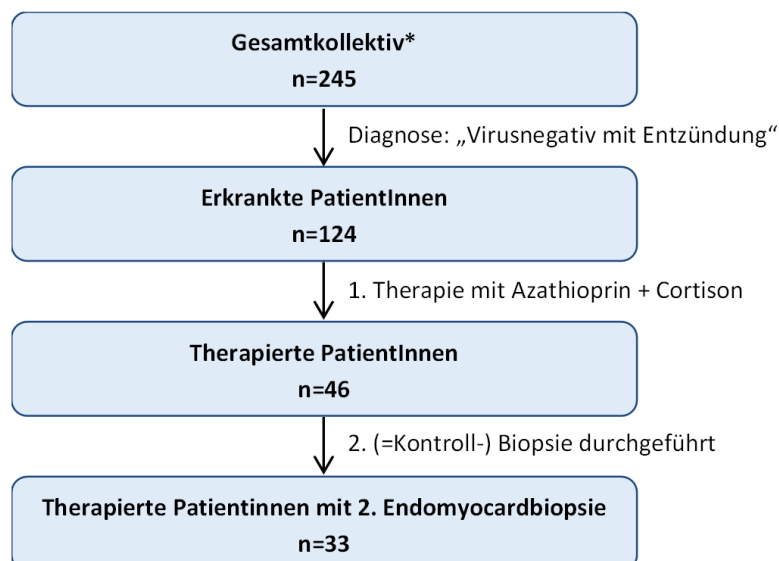


Abbildung 2: Übersicht Kollektive

Bemerkung: *alle in der Datenerhebung erfassten PatientInnen

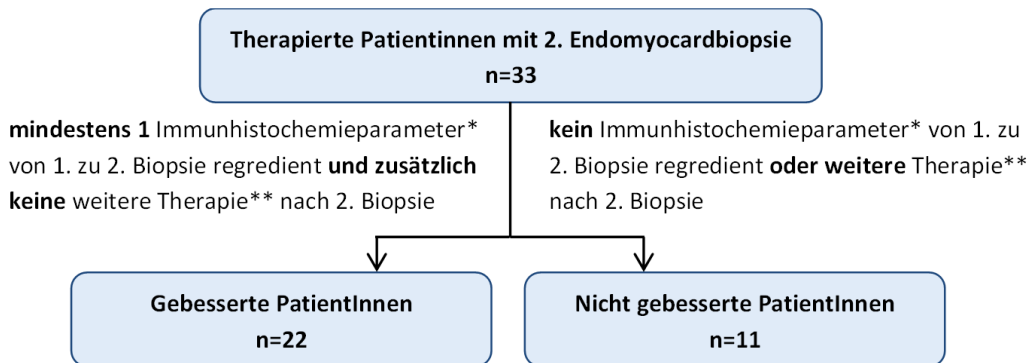


Abbildung 3: Kollektive "Gebesserte PatientInnen" und "Nicht gebesserte PatientInnen"

Bemerkung: *CD3, LFA-1, CD45R0, Perforin, Mac-1; **mit Azathioprin + Cortison

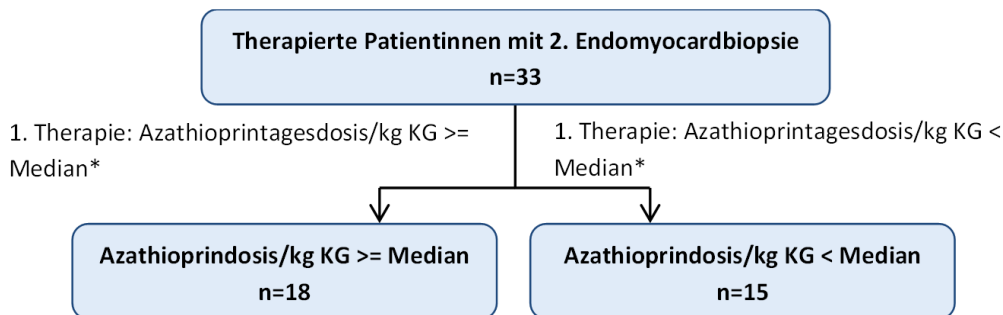


Abbildung 4: Kollektive "Azathioprintdosis/kg KG >= Median" und "Azathioprintdosis/kg KG < Median"

Bemerkung: *des Kollektivs „Therapierte PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie“

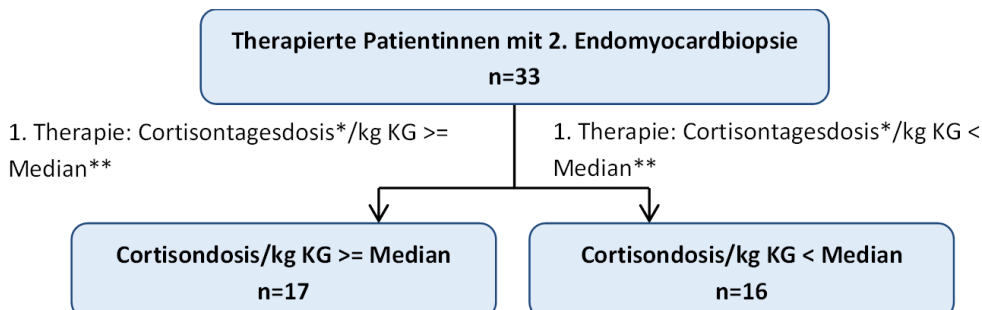


Abbildung 5: Kollektive "Cortisondosis/kg KG >= Median" und "Cortisondosis/kg KG < Median"

Bemerkung: *Aufgrund der regredient verordneten Cortisontherapie ist hier die Startdosis gemeint. **des Kollektivs „Therapierte PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie“

Für jede dieser Gruppen wurde eine grundlegende Statistik berechnet: Für nominal- oder ordinalskalierte Merkmale (z.B. Geschlecht, NYHA Stadium, EKG-Rhythmus, Zellgehalt normal – erhöht, Diagnose, Medikamenteneinnahme ja – nein) wurde die Anzahl der für dieses Merkmal insgesamt erfassten Daten sowie die absolute und teilweise auch relative Häufigkeit der unterschiedlichen Merkmalsausprägungen bestimmt.

Für kardinalskalierte Merkmale (z.B. Alter, Blutdruckwerte, EKG-Frequenz, Echokardiographiewerte, Laborwerte, Immunhistochemiewerte, Medikamenteneinnahmedauer und –dosis) wurde die Anzahl der für dieses Merkmal insgesamt erfassten Daten, Mittelwert, Standardabweichung, Minimum, Maximum, Median und Interquartilsabstand berechnet.

Für einige Merkmale wurden statistische Tests durchgeführt, ob sich die für diese Merkmale gemessenen Werte zwischen den einzelnen Kollektiven unterscheiden. Hierbei lag das Hauptaugenmerk vor allem beim Gewicht und BMI der Gruppen mit Azathioprin- bzw. Cortisondosis/Körpergewicht \geq Median im Vergleich zu den Kollektiven mit Dosis/Körpergewicht $<$ Median, sowie bei der Azathioprin- bzw. Cortisondosis/Körpergewicht der gebesserten im Vergleich zu den nicht gebesserten PatientInnen.

2.2.2 Weitere Statistik

Ein zu erwartendes Ergebnis dieser Diplomarbeit ist der Anteil an PatientInnen, die mit dem 1. Zyklus einer immunsuppressiven (Azathioprin + Cortison) Therapie gebessert sind sowie demgegenüber der Anteil an PatientInnen, die nach dem 1. Zyklus keine relevante Änderung in der Entzündung zeigen. Auf diese beiden Werte kann aus der oben beschriebenen grundlegenden Statistik geschlossen werden.

Eine Analyse galt der Veränderung der Immunhistochemiewerte (CD3, LFA-1, CD45R0, Perforin und Mac-1) von der 1. zur 2. (=Kontroll-) Biopsie bei den gebesserten und nicht gebesserten PatientInnen sowie einer Untergruppe der „gebesserten PatientInnen“. Bei dieser Untergruppe handelt es sich um diejenigen Personen, bei denen bei der 2. Biopsie nicht alle Immunhistochemiewerte unter den Grenzwerten waren.

Ferner wurde die Veränderung der Immunhistochemiewerte von der 2. zur 3. Biopsie (=2. Kontrollbiopsie) bei den „nicht gebesserten PatientInnen“, die einen 2. Zyklus Immunsuppression und eine 2. Kontrollbiopsie durchliefen und bei denen bei dieser 2. Kontrollbiopsie keine Riesenzellmyokarditis diagnostiziert wurde, analysiert.

Für jede Immunhistochemiewerteänderung bzw. -abnahme dieser Gruppen wurde getestet, ob sie statistisch signifikant ist.

Weiters wurde untersucht, ob bzw. bei wie viel Prozent der „nicht gebesserten PatientInnen“, die einen 2. Zyklus der Azathioprin- und Cortisonkombinationstherapie erhielten und ein 2. Mal kontrollbiopsiert wurden, eine Besserung erfolgte.

Zudem wurde die Änderung der Mittelwerte der Immunhistochemiewerte von der 1. zur 2. Biopsie bei den Gruppen „therapierte PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie“, „Azathiopridosis/kg KG \geq Median“, „Azathiopridosis/kg KG $<$ Median“, „Cortisonosis/kg KG \geq Median“ und „Cortisonosis/kg KG $<$ Median“ beurteilt sowie diese Änderung der Mittelwerte zwischen diesen Gruppen verglichen.

Zu guter Letzt wurde mittels statistischer Tests auf Signifikanz geprüft, ob die einzelnen Immunhistochemiewerte in der Gruppe „therapierte PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie“ von der 1. zur 2. Biopsie signifikant abnehmen und ob die Abnahme der Immunhistochemiewerte von der 1. zur 2. Biopsie der Gruppen „Azathiopridosis/kg KG \geq Median“ bzw. „Cortisonosis/kg KG \geq Median“ signifikant größer ist als in den Gruppen „Azathiopridosis/kg KG $<$ Median“ bzw. „Cortisonosis/kg KG $<$ Median“.

2.2.3 Wahl des statistischen Testverfahrens

Bei der Auswahl des Testverfahrens zur Überprüfung auf statistische Signifikanz wurde in dieser Arbeit immer wie folgt vorgegangen:

Für parametrische Daten wurde bei einer Stichprobe ein Einstichproben T Test, bei zwei verbundenen Stichproben ein T Test bei verbundenen Stichproben und bei zwei unabhängigen Stichproben ein T Test bei unabhängigen Stichproben durchgeführt.

Für nichtparametrische Daten wurde bei einer Stichprobe ein Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei einer Stichprobe, bei zwei verbundenen Stichproben ein Wilcoxon-Vorzeichenrangtest bei verbundenen Stichproben und bei zwei unabhängigen Stichproben ein Mann-Whitney-U-Test bei unabhängigen Stichproben durchgeführt. Ob das parametrische oder nichtparametrische Testverfahren gewählt wurde, ist jeweils beim Testergebnis angegeben (P oder NP).

Das Signifikanzniveau α wurde bei allen Tests mit 0,05 angesetzt.

3 Ergebnisse

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Archivdaten von allen 245 PatientInnen, die seit der Einführung der Endomyokardbiopsie an der Kardiologie des LKH Universitätsklinikums Graz im Jahr 2008 biopsiert wurden und ihre 1. Biopsie bis zum 15.03.2017 hatten, erhoben.

Eine Diagnose konnte für 242 der PatientInnen gestellt werden. Dabei wurden 124 (51,24%) als „Virusnegativ mit Entzündung“ (=Kollektiv „erkrankte PatientInnen“, entspricht inflammatorischer Cardiomyopathie) klassifiziert.

Ob Azathioprin und/oder Cortison eingenommen wurde, konnte von 119 dieser 124 erkrankten PatientInnen erhoben werden. 46 Personen erhielten eine Kombinationstherapie der beiden Wirkstoffe (=Kollektiv „therapierte PatientInnen“). Bei den anderen 73 (= 119 – 46) erkrankten PatientInnen wurde von einer immunsuppressiven Kombinationstherapie aus Azathioprin plus Cortison zur Behandlung der inflammatorischen Cardiomyopathie abgesehen. Anlass dafür waren unter anderem eine sich zum Zeitpunkt des Eintreffens des Biopsieergebnisses bereits deutlich gebesserte Klinik bzw. ein deutlich gebesserter Echokardiographiebefund oder Ablehnung der Therapie durch den Patienten/die Patientin.

3.1 Charakterisierung therapierte PatientInnen mit und ohne 2. Endomyokardbiopsie

Zur Klärung der Zielsetzung dieser Diplomarbeit, wie häufig eine Besserung bzw. Heilung der inflammatorischen Cardiomyopathie nach 6-monatiger Immunsuppression mit Azathioprin plus Cortison ist, sind die oben beschriebenen 46 PatientInnen (=Kollektiv „therapierte PatientInnen“), die eben diese Kombinationstherapie erhielten, im Fokus des Interesses. Im Folgenden soll näher auf diese Therapie und die Gruppe dieser „therapierten PatientInnen“ eingegangen werden:

3.1.1 1. Therapie

Wie schon erwähnt wurden alle diese 46 Personen mit Azathioprin und Cortison therapiert. Die untenstehende Tabelle zeigt mehr Details zu dieser Kombinationstherapie der „therapierten PatientInnen“: (Alle Dosisangaben entsprechen der Starttagesdosis.)

Einheit	Azathioprin			Cortison		
	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG
n	46	46	46	46	46	46
MW	5,91	107,61	1,25	5,89	81,07	0,92
STAW	0,54	20,77	0,29	0,43	17,31	0,13
MIN	4	50	0,52	4	40	0,64
MAX	8	150	2,00	6	150	1,14
MED	6,00	100,00	1,20	6,00	80,00	0,93
IQR	0,00	0,00	0,38	0,00	0,00	0,16

Tabelle 4: Azathioprin- plus Cortisontherapie therapierte PatientInnen

Keine der 46 therapierten Personen nahm Cyclosporin, Muromonab-CD3, Interferon-beta, Valaciclovir oder Telbivudine ein.

Die grundlegende Herzinsuffizienztherapie konnte von allen 46 therapierten PatientInnen erhoben werden:

41 Personen (89,1%) bekamen Beta-Blocker, 35 (76,1%) ACE Hemmer, 0 ARNI, 6 (13,0%) AT2-Blocker, 37 (80,4%) Aldosteron-Antagonisten und 29 (63,0%) Diuretika.

3.1.2 2. (=Kontroll-) Biopsie

Von diesen 46 therapierten PatientInnen unterzogen sich 33 einer 2. (=Kontroll-) Biopsie. Gründe für das Fehlen der Kontrollbiopsie waren: Abbruch der Immunsuppression wegen GI-Blutung (n=1), Abbruch wegen Pneumonie (n=1), Nicht-Erscheinen zur Kontrollbiopsie trotz mehrfacher Aufforderung (n=11).

Die folgende Tabelle zeigt die genauen Daten der Azathioprin- plus Cortisontherapie dieser 33 therapierten PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie: (Alle Dosisangaben entsprechen der Starttagesdosis.)

Einheit	Azathioprin			Cortison		
	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG
n	33	33	33	33	33	33
MW	5,94	107,58	1,20	5,91	82,55	0,91
STAW	0,55	21,75	0,28	0,38	16,42	0,12
MIN	4	50	0,52	4	60	0,64
MAX	8	150	1,67	6	150	1,11
MED	6,00	100,00	1,16	6,00	80,00	0,92
IQR	0,00	0,00	0,37	0,00	0,00	0,17

Tabelle 5: Azathioprin- plus Cortisontherapie therapierte PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie

Das folgende Diagramm zeigt die Entwicklung der Immunhistochemiewerte der therapierten PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie von der 1. zur 2. Biopsie: (alle Werte in positive Zellen/mm²)

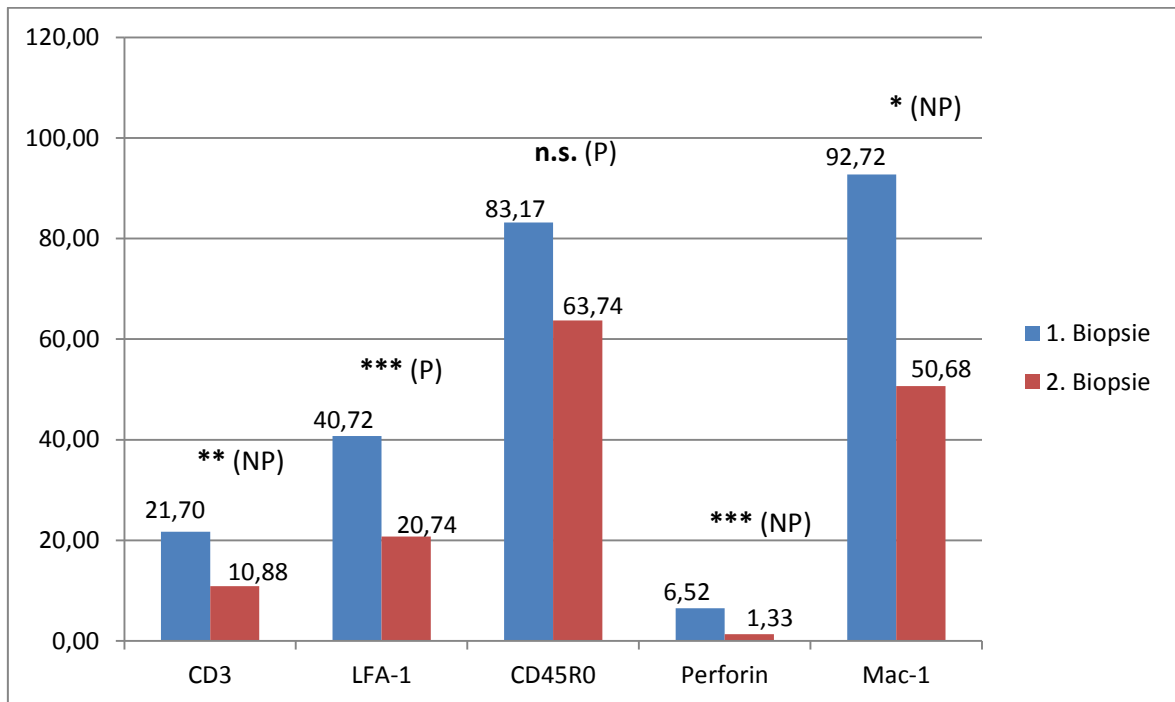


Abbildung 6: Entwicklung der Immunhistochemie (Mittelwerte) von 1. zu 2. Biopsie bei therapierten PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie

*Bemerkung: Abnahme von 1. zu 2. Biopsie: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$*

3.1.3 Anteil gebesserter und nicht gebesserter PatientInnen

Von diesen 33 kontrollbiopsierten Personen wurden 22 (66,67%) als gebessert klassifiziert und 11 (33,33%) als nicht gebessert.

3.2 Charakterisierung gebesserte und nicht gebesserte PatientInnen

Im Folgenden sollen die Kollektive der gebesserten und nicht gebesserten PatientInnen genauer analysiert werden. Weiters sollen die beiden Gruppen miteinander verglichen und Unterschiede bzw. Gemeinsamkeiten aufgezeigt werden:

Die gebesserten Personen gliedern sich in 16 (73%) Männer und 6 (27%) Frauen.

Das nicht gebesserte Kollektiv teilt sich wie folgt: 9 (82%) Männer und 2 (18%) Frauen.

Die folgenden Tabellen zeigen weitere Grunddaten der gebesserten und nicht gebesserten Gruppe: (Alter: zum Zeitpunkt der 1. Biopsie, Symptombeginn: in Monaten vor 1. Biopsie)

Einheit	Alter Jahre	Größe cm	Gewicht kg	BMI kg/m ²	RR Sys. mmHg	RR Dias. mmHg	Symptombeginn Monate
n	22	22	22	22	20	20	13
MW	48,36	175,05	89,05	29,17	130,95	83,45	6,70
STAW	13,88	6,82	19,70	6,91	13,87	11,39	12,58
MIN	19	159	62	21,45	110	62	0
MAX	77	187	143	46,69	160	108	48
MED	46,50	176,00	88,50	27,32	125,50	80,00	1,00
IQR	17,00	8,50	16,00	7,22	14,75	14,25	8,50

Tabelle 6: Grunddaten gebesserte PatientInnen

Einheit	Alter Jahre	Größe cm	Gewicht kg	BMI kg/m ²	RR Sys. mmHg	RR Dias. mmHg	Symptombeginn Monate
n	11	11	11	11	11	11	6
MW	43,27	179,18	97,64	30,44	131,82	84,45	4,21
STAW	12,97	9,31	13,20	3,65	14,25	12,16	3,07
MIN	21	163	79	24,93	110	65	1
MAX	64	195	125	37,45	159	109	9
MED	43,00	176,00	93,00	29,73	130,00	81,00	4,50
IQR	10,50	13,00	16,50	5,64	15,00	16,50	4,69

Tabelle 7: Grunddaten nicht gebesserte PatientInnen

Vergleicht man das Alter bei der 1. Biopsie der beiden Kollektive, so fällt auf, dass die nicht gebesserten PatientInnen im Mittel 5,09 Jahre jünger sind als die gebesserten. Des Weiteren sind die nicht gebesserten Personen im Durchschnitt 4,13cm größer. Im nicht gebesserten Kollektiv ist das Gewicht im Mittel um 8,59 kg höher und der durchschnittliche BMI um 1,27 kg/m² größer als in der gebesserten Vergleichsgruppe. Die Blutdruckwerte hingegen unterscheiden sich in beiden Gruppen nicht wirklich. Der Symptombeginn in Monaten vor der 1. Biopsie unterscheidet sich zwar zwischen den beiden Gruppen, jedoch kann man aufgrund der nur bei etwas mehr als der Hälfte der PatientInnen erhobenen Daten und des so stark vom Median divergierenden Mittelwertes bei den gebesserten Personen nicht wirklich eine Aussage treffen.

Das NYHA Stadium zum Zeitpunkt der 1. Biopsie konnte von 16 Personen des gebesserten Kollektivs erhoben werden. Bei der nicht gebesserten Gruppe war das NYHA Stadium bei 10 PatientInnen dokumentiert worden.

Die folgenden Diagramme verdeutlichen die Verteilung der NYHA Stadien in beiden Gruppen:

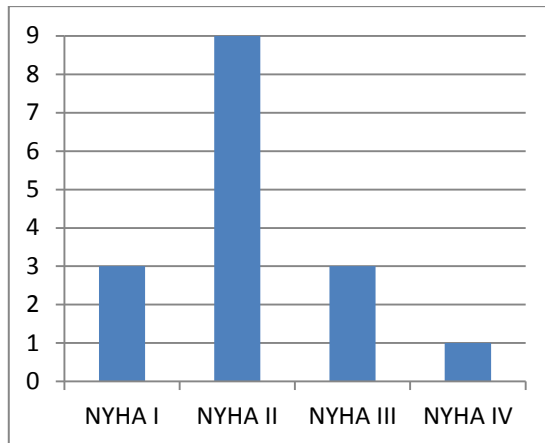


Abbildung 7: Verteilung NYHA Stadien gebesserte PatientInnen

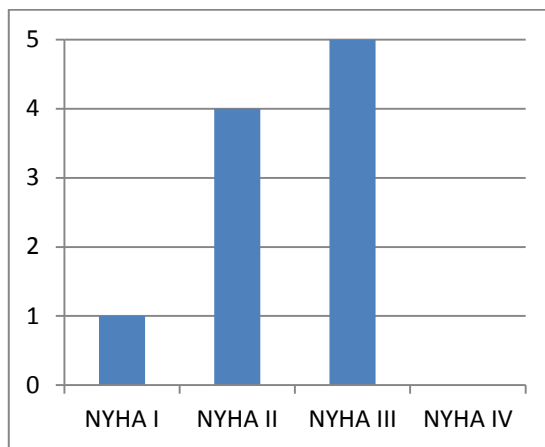


Abbildung 8: Verteilung NYHA Stadien nicht gebesserte PatientInnen

Die Herzfrequenz um den Zeitpunkt der 1. Biopsie konnte sowohl beim gebesserten als auch beim nicht gebesserten Kollektiv bei allen PatientInnen erhoben werden.

Bei den 22 gebesserten Personen betrug sie im Mittel 80,64 (\pm 17,47) pro Minute, wobei das Minimum bei 53, das Maximum bei 116, der Median bei 79,00 und der Interquartilsabstand bei 25,50 pro Minute lagen.

Im Falle der nicht gebesserten PatientInnen lässt sich mit einem Mittelwert von 85,45 (\pm 17,16), einem Minimum von 63, einem Maximum von 115, einem Median von 88,00 und einem Interquartilsabstand von 27,50 pro Minute kein großer Unterschied (n.s. NP) zur gebesserten Gruppe feststellen.

Auch beim EKG Rhythmus um den Zeitpunkt der 1. Biopsie, der bei beiden Gruppen für alle PatientInnen dokumentiert worden war, unterscheiden sich die Kollektive nicht wesentlich: Alle 22 gebesserten Personen hatten einen Sinusrhythmus. Bei den 11 nicht gebesserten PatientInnen wurde in einem Fall ein Vorhofflimmern diagnostiziert, die restlichen 10 EKGs zeigten einen Sinusrhythmus.

Die folgende Tabelle zeigt die Werte aus der Echokardiographie zum Zeitpunkt der 1. Biopsie (\pm 3 Monate) beider Gruppen: (re. Ventrikel = Durchmesser des rechten Ventrikels, li. Ventrikel = Durchmesser des linken Ventrikels)

Einheit	gebesserte			nicht gebesserte		
	LVEF %	re. Ventrikel mm	li. Ventrikel mm	LVEF %	re. Ventrikel mm	li. Ventrikel mm
n	20	20	20	11	11	11
MW	28,60	32,15	62,00	28,00	33,91	65,27
STAW	11,11	9,03	9,53	11,60	9,18	6,58
MIN	15	19	45	15	17	55
MAX	51	50	78	54	48	78
MED	26,00	30,00	64,50	27,00	34,00	65,00
IQR	17,25	14,50	15,50	12,50	10,50	7,00

Tabelle 8: Echokardiographie gebesserte und nicht gebesserte PatientInnen

Die Echokardiographie der beiden Kollektive unterscheidet sich kaum.

3.2.1 1. Biopsie

3.2.1.1 Labor

Beim Labor wurden NT-proBNP und Kreatinin untersucht, da NT-proBNP prognostische Aussagekraft für das Outcome von Herzinsuffizienz-PatientInnen besitzt und eine bestehende Niereninsuffizienz ein Prognosefaktor für ein schlechteres Outcome bei dekompensierter Herzinsuffizienz ist. (115–117)

Die untenstehende Tabelle zeigt die Laborwerte beider Kollektive zum Zeitpunkt der 1. Biopsie:

Einheit	gebesserte		nicht gebesserte	
	NT-proBNP ¹ n.s. (NP) pg/ml	Kreatinin ² n.s. (P) mg/dl	NT-proBNP ¹ n.s. (NP) pg/ml	Kreatinin ² n.s. (P) mg/dl
n	21	22	9	11
MW	2272,71	1,01	3831,44	1,11
STAW	2772,12	0,16	4531,26	0,22
MIN	36	0,73	133	0,71
MAX	11253	1,46	15365	1,55
MED	688,00	0,99	1526,00	1,09
IQR	3218,00	0,18	4035,00	0,18

Tabelle 9: Vergleich Labor gebesserte und nicht gebesserte PatientInnen 1. Biopsie

Bemerkung: Laborwerte bei gebesserten PatientInnen niedriger als bei nicht gebesserten PatientInnen: verglichen wurden die Parameter mit derselben Hochzahl (1, 2)

Vergleicht man die NT-proBNP Werte der beiden Gruppen so fällt auf, dass der Mittelwert der nicht gebesserten Personen bei mehr als dem eineinhalbfachen und der Median bei mehr als dem doppelten der Werte der gebesserten liegt.

Auch das Kreatinin war bei der nicht gebesserten Gruppe sowohl beim Mittelwert als auch beim Median um 0,1mg/dl höher als bei den gebesserten PatientInnen.

3.2.1.2 Histologie

Die Ergebnisse der histologischen Untersuchung der Biopsiepräparate wurden sowohl in der gebesserten als auch in der nicht gebesserten Gruppe für alle Personen dokumentiert. In keinem einzigen Fall der beiden Kollektive war ein erhöhter Zellgehalt oder eine frische Nekrose nachweisbar.

10 der 22 (45%) gebesserten Biopsate wiesen eine vermehrte Fibrose auf. Bei den nicht Gebesserten waren es 8 von 11 (73%) Präparaten, bei denen eine vermehrte Fibrosierung festgestellt wurde. Der in den Klammern angegebene relative Anteil der vermehrt fibrosierten Biopsate an der gesamten Gruppe ist also beim nicht gebesserten Kollektiv höher.

3.2.1.3 Immunhistologie

Die folgenden zwei Tabellen zeigen die Ergebnisse der Immunhistologie beider Kollektive:

	CD3¹ n.s. (NP)	LFA-1² n.s. (NP)	CD45RO³ n.s. (NP)	Perforin⁴ n.s. (NP)	Mac-1⁵ n.s. (NP)
Einheit	-positive Zellen/mm ²				
n	22	22	12	22	22
MW	23,14	44,50	89,16	8,44	109,78
STAW	22,95	27,97	34,03	8,81	199,36
MIN	1,20	8,00	50,40	0,00	27,80
MAX	86,20	114,00	177,00	24,90	1013,00
MED	14,30	42,40	78,08	4,45	59,18
IQR	18,48	39,83	42,83	17,80	46,77

Tabelle 10: Immunhistologie gebesserte PatientInnen

	CD3 ¹ n.s. (NP)	LFA-1 ² n.s. (NP)	CD45R0 ³ n.s. (NP)	Perforin ⁴ n.s. (NP)	Mac-1 ⁵ n.s. (NP)
Einheit	-positive Zellen/mm ²				
n	11	11	7	11	11
MW	18,80	33,17	72,89	2,67	58,62
STAW	10,61	19,31	20,50	3,01	24,13
MIN	4,60	4,40	47,16	0,00	23,40
MAX	39,80	80,71	112,00	11,10	95,60
MED	15,20	29,60	68,10	2,35	65,06
IQR	13,73	16,32	25,38	2,31	40,96

Tabelle 11: Immunhistologie nicht gebesserte PatientInnen

Bemerkung: Unterschied zwischen Immunhistologie der gebesserten und nicht gebesserten PatientInnen: verglichen wurden die Parameter mit derselben Hochzahl (1, 2, 3, 4, 5)

Vergleicht man die immunhistologischen Befunde beider Gruppen miteinander, so ist ersichtlich, dass die gebesserte Gruppe durchschnittlich bei allen 5 Entzündungszellmarkern (CD3, LFA-1, CD45R0, Perforin und Mac-1) höhere Zellzahlen/mm² aufweist. Auch der Median ist bei 3 (LFA-1, CD45R0, Perforin) der 5 Marker höher als in der nicht gebesserten Gruppe.

3.2.2 1. Therapie

Alle 33 PatientInnen beider Kollektive erhielten eine Kombinationstherapie aus Azathioprin plus Cortison. (Cyclosporin, Muromonab-CD3, Interferon-beta, Valaciclovir und Telbivudine wurden in keinem einzigen Fall verabreicht.)

Die untenstehenden zwei Tabellen zeigen mehr Details zur Kombinationstherapie beider Gruppen und ermöglichen einen Vergleich: (Alle Dosisangaben entsprechen der Starttagesdosis.)

	gebesserte			nicht gebesserte		
	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG ¹ * (P) mg/kg KG	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG ¹ * (P) mg/kg KG
n	22	22	22	11	11	11
MW	5,95	109,09	1,27	5,91	104,55	1,08
STAW	0,64	19,28	0,26	0,29	25,71	0,26
MIN	4	100	0,70	5	50	0,52
MAX	8	150	1,67	6	150	1,61
MED	6,00	100,00	1,24	6,00	100,00	1,11
IQR	0,00	0,00	0,39	0,00	0,00	0,23

Tabelle 12: Azathioprintherapie gebesserte und nicht gebesserte PatientInnen (1. Therapie)

*Bemerkung: Azathioprinosis/kg KG bei nicht gebesserten PatientInnen geringer als bei gebesserten: * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001; verglichen wurden die Parameter mit derselben Hochzahl (1)*

Einheit	gebesserte			nicht gebesserte		
	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG ¹ * (P) mg/kg KG	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG ¹ * (P) mg/kg KG
n	22	22	22	11	11	11
MW	5,86	83,14	0,94	6,00	81,36	0,85
STAW	0,46	19,62	0,11	0,00	6,06	0,12
MIN	4	60	0,68	6	75	0,64
MAX	6	150	1,11	6	100	1,03
MED	6,00	80,00	0,95	6,00	80,00	0,88
IQR	0,00	0,00	0,11	0,00	0,00	0,16

Tabelle 13: Cortisontherapie gebesserte und nicht gebesserte PatientInnen (1. Therapie)

Bemerkung: Cortisondosis/kg KG bei nicht gebesserten PatientInnen geringer als bei gebesserten: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; verglichen wurden die Parameter mit derselben Hochzahl (1)

Die begleitende Herzinsuffizienztherapie konnte von allen 33 PatientInnen beider Kollektive erhoben werden:

20 (90,9%) der 22 gebesserten Personen bekamen Beta-Blocker, 17 (77,3%) ACE Hemmer, 0 ARNI, 2 (9,1%) AT2-Blocker, 18 (81,8%) Aldosteron-Antagonisten und 14 (63,6%) Diuretika.

Bei den 11 nicht gebesserten PatientInnen sah es wie folgt aus: 9 (81,8%) Personen erhielten Beta-Blocker, 10 (90,9%) ACE-Hemmer, 0 ARNI, 0 AT2-Blocker, 9 (81,8%) Aldosteron-Antagonisten und 8 (72,7%) Diuretika.

3.2.3 2. (=Kontroll-) Biopsie

3.2.3.1 Labor

Die folgende Tabelle zeigt die Laborwerte der beiden Gruppen zum Zeitpunkt der 2. (=Kontroll-) Biopsie: (Δ = Veränderung zu 1. Biopsie)

Einheit	gebesserte		nicht gebesserte	
	NT-proBNP pg/ml	Kreatinin mg/dl	NT-proBNP pg/ml	Kreatinin mg/dl
n	17	21	9	11
MW	660,00	1,01	1723,00	1,10
Δ	-1612,71	0,00	-2108,44	-0,01
STAW	1216,44	0,25	1893,61	0,22
MIN	10	0,63	42	0,75
MAX	5382	1,65	6686	1,45
MED	361,00	0,95	1125,00	1,10
IQR	266,00	0,25	962,00	0,35

Tabelle 14: Vergleich Labor gebesserte und nicht gebesserte PatientInnen 2. Biopsie

Vergleicht man die obenstehenden Laborwerte mit den Werten vor der Therapie (zum Zeitpunkt der 1. Biopsie) so fällt schnell auf, dass das NT-proBNP deutlich gesunken ist. Relativ zu den Werten vor der Therapie ist das NT-proBNP bei den gebesserten PatientInnen mehr gesunken, wie das folgende Diagramm anhand der Mediane verdeutlicht:

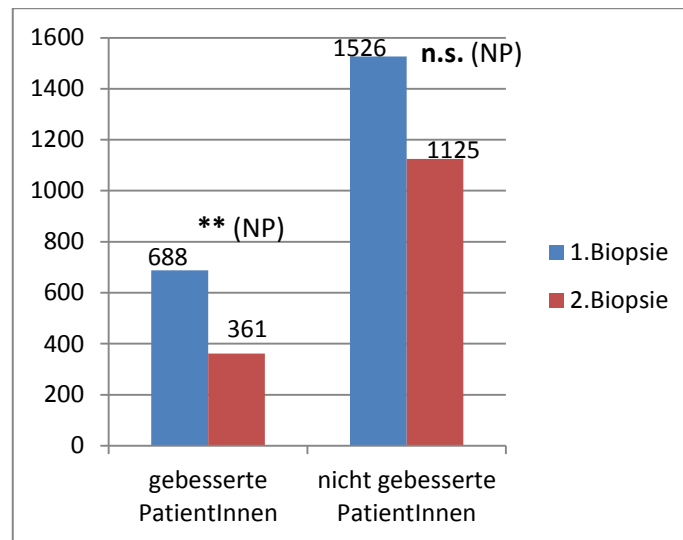


Abbildung 9: Entwicklung des NT-proBNP (Mediane) von 1. zu 2. Biopsie bei gebesserten und nicht gebesserten PatientInnen

*Bemerkung: Abnahme von 1. zu 2. Biopsie: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$*

Für Kreatinin ist keine wirkliche Tendenz erkennbar.

3.2.3.2 Histologie

Die Histologie war für alle 33 PatientInnen beider Gruppen dokumentiert worden. Ein erhöhter Zellgehalt oder eine vorhandene frische Nekrose konnten in keinem einzigen Fall nachgewiesen werden.

Bei den gebesserten Personen war in 13 Biopsien eine vermehrte Fibrose feststellbar, bei der nicht gebesserten Gruppe in 6 Präparaten.

3.2.3.3 Immunhistologie

Die folgenden zwei Diagramme zeigen die Entwicklung der immunhistologischen Untersuchung beider Kollektive von der 1. zur 2. Biopsie: (alle Werte in positive Zellen/mm²)

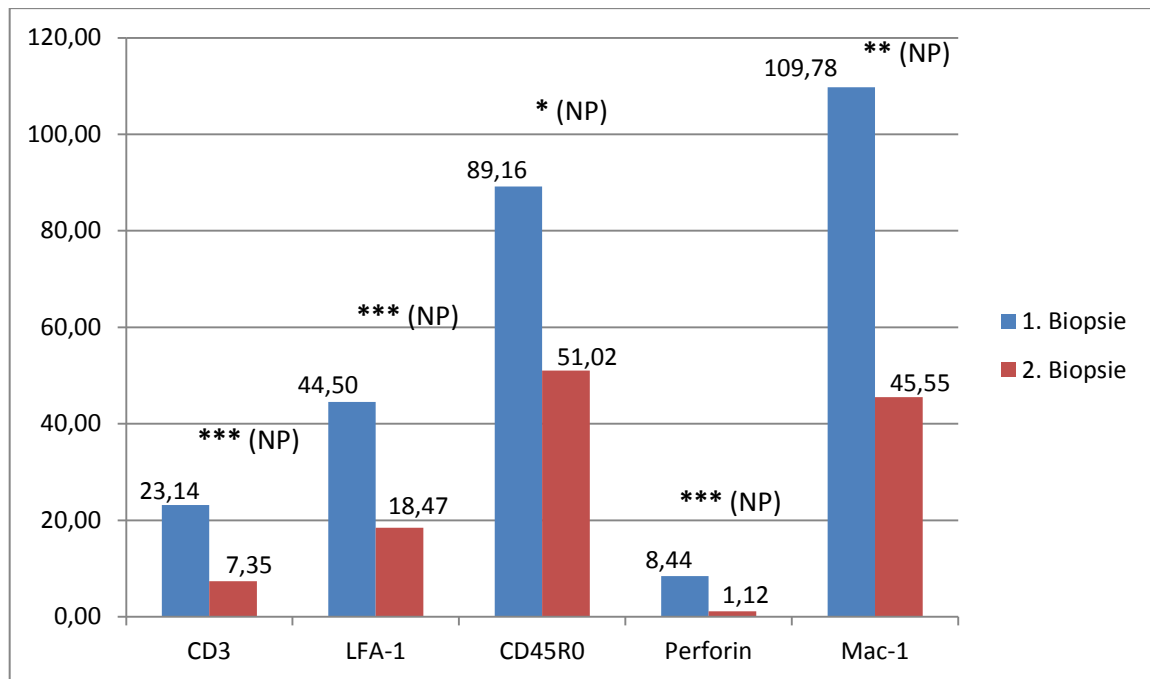


Abbildung 10: Entwicklung der Immunhistochemie (Mittelwerte) von 1. zu 2. Biopsie bei gebesserten PatientInnen

*Bemerkung: Abnahme von 1. zu 2. Biopsie: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$*

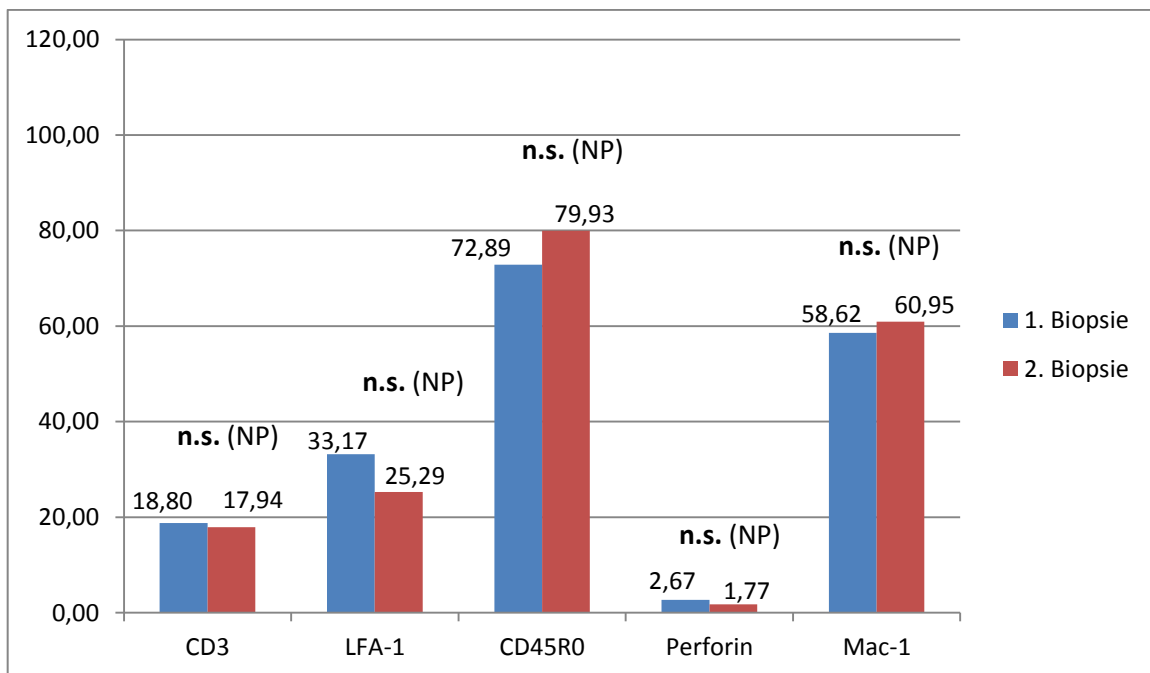


Abbildung 11: Entwicklung der Immunhistochemie (Mittelwerte) von 1. zu 2. Biopsie bei nicht gebesserten PatientInnen

Bemerkung: Unterschied zwischen 1. und 2. Biopsie: nicht signifikant

Der Vergleich beider Gruppen miteinander zeigt, dass die Mittelwerte aller 5 Entzündungszellmarker (CD3, LFA-1, CD45R0, Perforin, Mac-1) der gebesserten Personen deutlich unter jenen der nicht gebesserten liegen.

Außerdem haben die Mittelwerte der 5 Entzündungsmarker von der 1. bis zur 2. Biopsie in der gebesserten Gruppe deutlich stärker abgenommen als in der nicht gebesserten. Hier sind die Werte teilweise sogar angestiegen.

3.2.3.4 Diagnose

Das folgende Diagramm zeigt die Aufteilung der Diagnosen gestellt aus der 2. Biopsie bei den 22 gebesserten PatientInnen: (abgebildete Zahlen = absolute Anzahl der jeweiligen Diagnose, Anteil in Prozent in Klammer)

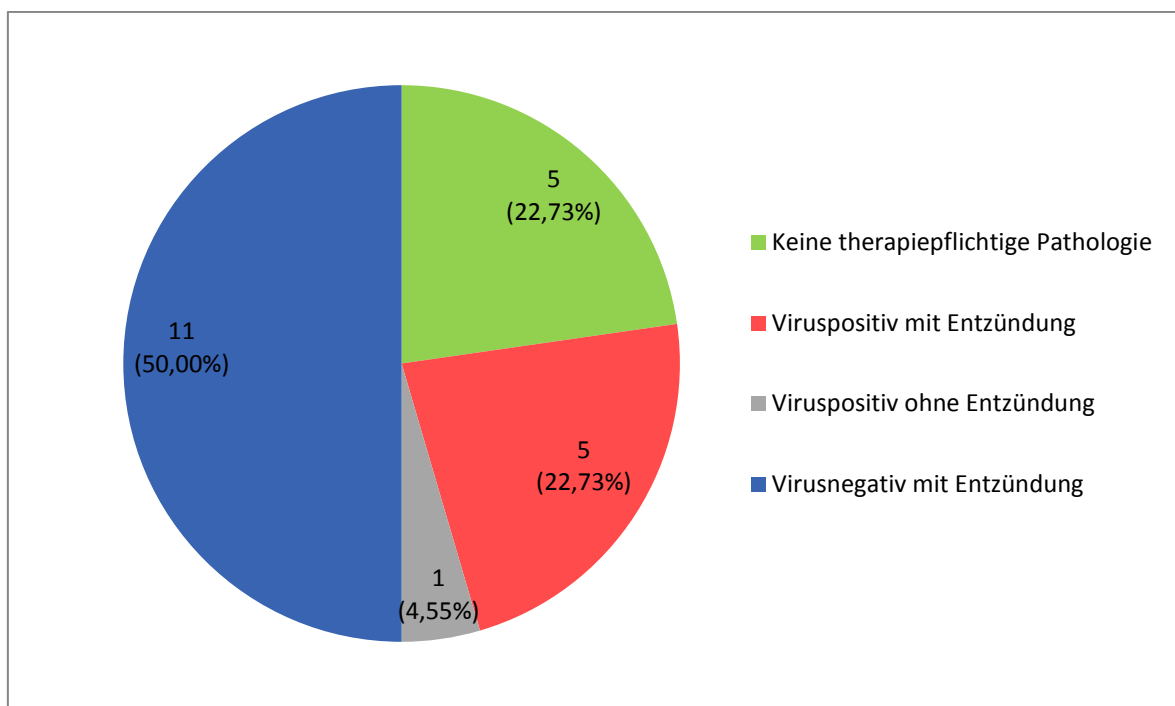


Abbildung 12: Verteilung der Diagnosen der gebesserten PatientInnen

Von den 11 nicht gebesserten Personen wurde 1 (9,09%) als „Viruspositiv mit Entzündung“ und die restlichen 10 (90,91%) als „Virusnegativ mit Entzündung“ klassifiziert.

3.2.3.5 Besserung der Immunhistochemiewerte bei gebesserten aber nicht völlig entzündungsfreien PatientInnen

Von den 22 gebesserten PatientInnen waren nur 5 bei der 2. Biopsie völlig geheilt („Keine therapiepflichtige Pathologie“) und 1 weitere Person entzündungsfrei („Viruspositiv ohne Entzündung“). 16 PatientInnen (11 „Virusnegativ mit Entzündung“ + 5 „Viruspositiv mit Entzündung“) waren nicht völlig entzündungsfrei, jedoch haben sich auch bei diesen

Personen die immunhistologischen Entzündungswerte stark gebessert, wie das nachstehende Diagramm zeigt: (alle Werte in Marker-positiven Zellen/mm²)

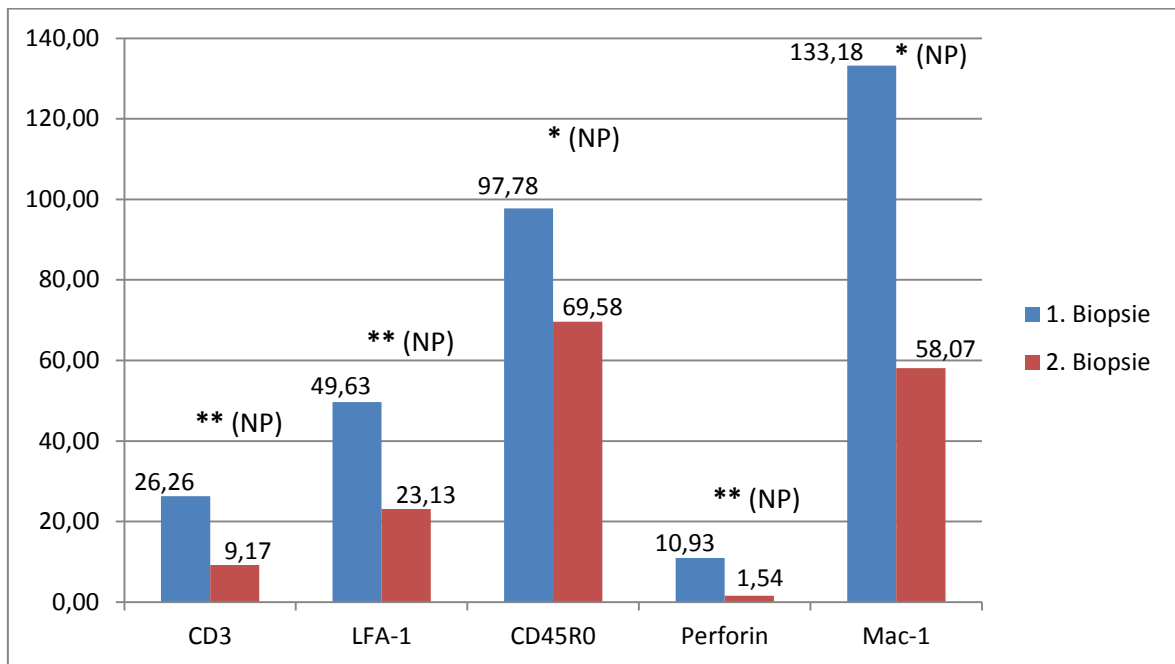


Abbildung 13: Entwicklung der Immunhistochemie (Mittelwerte) von 1. zu 2. Biopsie bei den gebesserten PatientInnen, die nicht vollständig entzündungsfrei wurden

*Bemerkung: Abnahme von 1. zu 2. Biopsie: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$*

3.2.4 Heilung/Besserung nicht gebesselter PatientInnen durch 2. Zyklus Immunsuppression möglich?

Von den 11 nicht gebesserten PatientInnen wurde bei einem Patienten aufgrund einer schon länger anstehenden Operation zur Korrektur einer Aortenstenose vorerst von einem 2. Zyklus Immunsuppression abgesehen. Alle anderen 10 nicht gebesserten PatientInnen erhielten einen 2. Durchgang der immunsuppressiven Azathioprin- plus Cortisonkombinationstherapie. Zu den Daten dieser Therapie siehe in folgender Tabelle: (Alle Dosisangaben entsprechen der Starttagesdosis.)

Einheit	Azathioprin			Cortison		
	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG
n	10	10	10	10	10	10
MW	6,00	130,00	1,31	6,00	80,00	0,82
STAW	0,00	33,17	0,20	0,00	21,91	0,22
MIN	6	100	1,08	6	20	0,21
MAX	6	200	1,72	6	100	1,01
MED	6,00	125,00	1,23	6,00	80,00	0,88
IQR	0,00	50,00	0,28	0,00	15,00	0,11

Tabelle 15: 2. Azathioprin- plus Cortisontherapie nicht gebesserte PatientInnen

Cyclosporin, Muromonab-CD3, Interferon-beta, Valaciclovir und Telbivudine wurden in keinem einzigen Fall gegeben.

Von den 11 nicht gebesserten Personen erhielten 9 (81,8%) Beta-Blocker, 7 (63,6%) ACE-Hemmer, 0 ARNI, 3 (27,3%) AT2-Blocker, 9 (81,8%) Aldosteron-Antagonisten und 7 (63,6%) Diuretika.

5 der 10 Personen, die einen 2. Zyklus Immunsuppression erhielten, wurden nochmals kontrollbiopsiert. Gründe für das Fehlen der Kontrollbiopsie waren: Verweigerung der Biopsie (n=1), Nicht-Erscheinen zur Kontrollbiopsie trotz mehrfacher Aufforderung (n=1), Versterben vor dem Biopsietermin (n=1), Biopsietermin zeitlich nach Ende der Datenerhebung (n=2).

Von diesen 5 kontrollbiopsierten PatientInnen wurde in 1 Fall eine Riesenzellmyokarditis diagnostiziert, 3 Fälle waren als „Virusnegativ mit Entzündung“ und 1 Fall als „Viruspositiv mit Entzündung“ zu klassifizieren. Dieser viruspositive Fall könnte praktisch auf Grund der minimalen Erythroviruslast von 1 viraler Kopie/ μg myokardialer Nukleinsäure und einer sehr geringen Virusaktivität von 2 viralen mRNA Kopien/ μg myokardialer Nukleinsäure jedoch auch als „Virusnegativ mit Entzündung“ gesehen werden.

Das folgende Diagramm zeigt die Entwicklung der immunhistologischen Mittelwerte von der 2. zur 3. Biopsie bei den 4 Personen, die bei der 3. Biopsie nicht als Riesenzellmyokarditis klassifiziert wurden: (alle Werte in Marker-positiven Zellen/ mm^2)

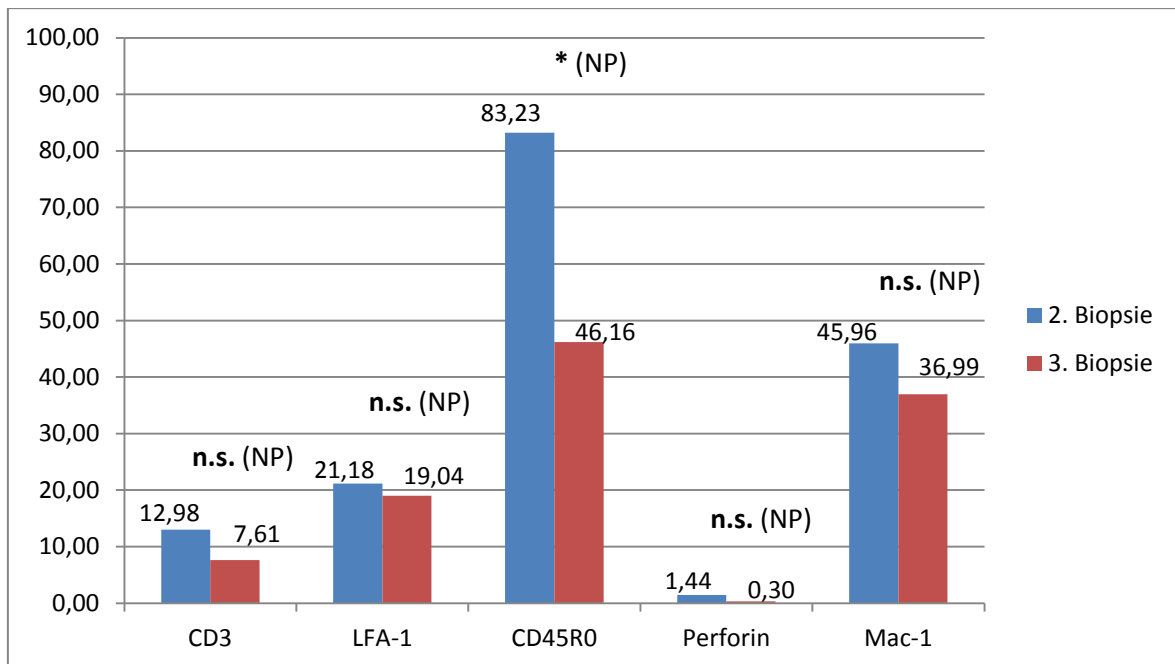


Abbildung 14: Entwicklung der Immunhistochemie (Mittelwerte) von 2. zu 3. Biopsie bei nicht gebesserten PatientInnen (außer Riesenzellmyokarditis)

*Bemerkung: Abnahme von 2. zu 3. Biopsie: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$*

Es zeigt sich im Durchschnitt eine Besserung der Werte, bei den CD45R0-positiven Zellen ist die Abnahme signifikant. Bei den LFA-1-positiven Zellen/mm² zeigt sich jedoch kaum eine Besserung.

Alle 4 dieser bei der 2. Kontrollbiopsie nicht als Riesenzellmyokarditis klassifizierten Personen wurden, entsprechend analoger Kriterien wie bei der 1. Kontrollbiopsie, als gebessert klassifiziert. Die Kriterien für eine Klassifikation als gebessert waren, dass die PatientInnen **keine** weitere (= 3.) Therapie mit Azathioprin + Cortison erhielten **und** dass **zusätzlich mindestens ein** Immunhistochemieparameter (CD3, LFA-1, CD45R0, Perforin, Mac-1) bei der 2. Kontrollbiopsie regredient im Vergleich zur 1. Kontrollbiopsie war. Es konnten also 4 (80%) der 5 Personen, die einen 2. Zyklus Immunsuppression und eine 2. Kontrollbiopsie erhielten, als gebessert klassifiziert werden.

Auf Grund der wenigen vorliegenden Kontrollbiopsien lässt sich jedoch keine allgemein gültige Aussage bezüglich der Möglichkeit einer Heilung/Besserung durch eine 2. immunsuppressive Therapie treffen.

3.3 Vergleich der Besserung der Immunhistochemiewerte bei Therapie mit Dosis/kg KG \geq gegenüber $<$ Median

In diesem Kapitel soll analysiert werden, ob sich die Höhe der eingenommenen Azathioprin- und/oder Cortisondosis/Körpergewicht auf das Ausmaß der Besserung der immunhistologischen Entzündungswerte (CD3, LFA-1, CD45R0, Perforin, Mac-1) von der 1. zur 2. Biopsie auswirkt.

3.3.1 Besserung der Immunhistochemiewerte bei PatientInnen mit Azathioprindosis/kg KG \geq und $<$ Median

Wie schon weiter oben beschrieben, gehören zu diesen Gruppen alle therapierten PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie, die in der 1. Therapie eine Azathioprindosis/kg KG größer oder gleich (18 Fälle) bzw. kleiner (15 Fälle) dem Median (=1,16 mg/kg KG) erhielten.

Die folgende Tabelle zeigt Körpergewicht und BMI beider Gruppen:

Einheit	Azathioprindosis/kg KG \geq Median		Azathioprindosis/kg KG $<$ Median	
	Gewicht ¹ ** (NP) kg	BMI ² * (NP) kg/m ²	Gewicht ¹ ** (NP) kg	BMI ² * (NP) kg/m ²
n	18	18	15	15
MW	84,17	27,42	101,20	32,21
STAW	17,01	4,99	15,09	6,17
MIN	62	21,45	87	25
MAX	125	39,55	143	47
MED	81,00	26,50	96,00	30,02
IQR	18,50	7,58	16,50	8,37

Tabelle 16: Gewicht und BMI PatientInnen mit Azathioprindosis/kg KG \geq bzw. $<$ Median (=1,16 mg/kg KG)

Bemerkung: Gewicht/BMI bei Azathioprindosis/kg KG \geq Median kleiner als bei Azathioprindosis/kg KG $<$ Median: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; verglichen wurden die Parameter mit derselben Hochzahl (1, 2)

Die folgenden zwei Tabellen beschreiben die Azathioprin- und Cortisontherapie beider Kollektive: (Alle Dosisangaben entsprechen der Starttagesdosis.)

Einheit	Azathioprindosis/kg KG \geq Median			Azathioprindosis/kg KG $<$ Median		
	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG
n	18	18	18	15	15	15
MW	6,11	116,67	1,40	5,73	96,67	0,97
STAW	0,46	23,57	0,18	0,57	12,47	0,18
MIN	6	100	1,16	4	50	0,52
MAX	8	150	1,67	6	100	1,15
MED	6,00	100,00	1,37	6,00	100,00	1,04
IQR	0,00	50,00	0,32	0,00	0,00	0,21

Tabelle 17: Azathioprintherapie bei PatientInnen mit Azathioprindosis/kg KG \geq und $<$ Median
(=1,16 mg/kg KG)

Einheit	Azathioprindosis/kg KG \geq Median			Azathioprindosis/kg KG $<$ Median		
	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG
n	18	18	18	15	15	15
MW	6,00	76,33	0,93	5,80	90,00	0,89
STAW	0,00	9,32	0,12	0,54	19,66	0,11
MIN	6	60	0,64	4	80	0,69
MAX	6	100	1,11	6	150	1,08
MED	6,00	80,00	0,95	6,00	80,00	0,89
IQR	0,00	8,75	0,11	0,00	10,00	0,15

Tabelle 18: Cortisontherapie bei PatientInnen mit Azathioprindosis/kg KG \geq und $<$ Median (=1,16
mg/kg KG)

Die folgenden zwei Diagramme zeigen die Entwicklung der immunhistologischen Werte beider Kollektive, sowie die Tests zur Überprüfung, ob die Abnahme der Immunhistochemiewerte von der 1. zur 2. Biopsie der Personen mit Azathioprindosis/kg KG \geq Median signifikant höher ist als bei der anderen Gruppe: (alle Werte in positive Zellen/mm²)

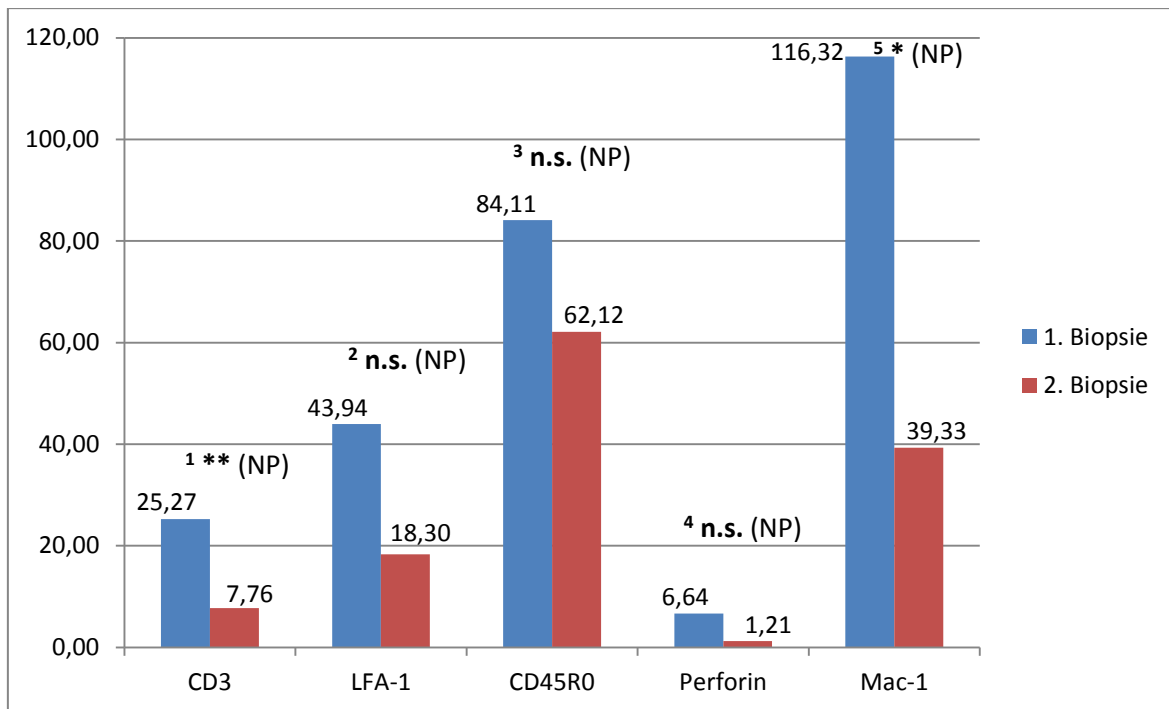


Abbildung 15: Entwicklung der Immunhistochemie (Mittelwerte) von 1. zu 2. Biopsie bei PatientInnen mit Azathioprinosis/kg KG \geq Median

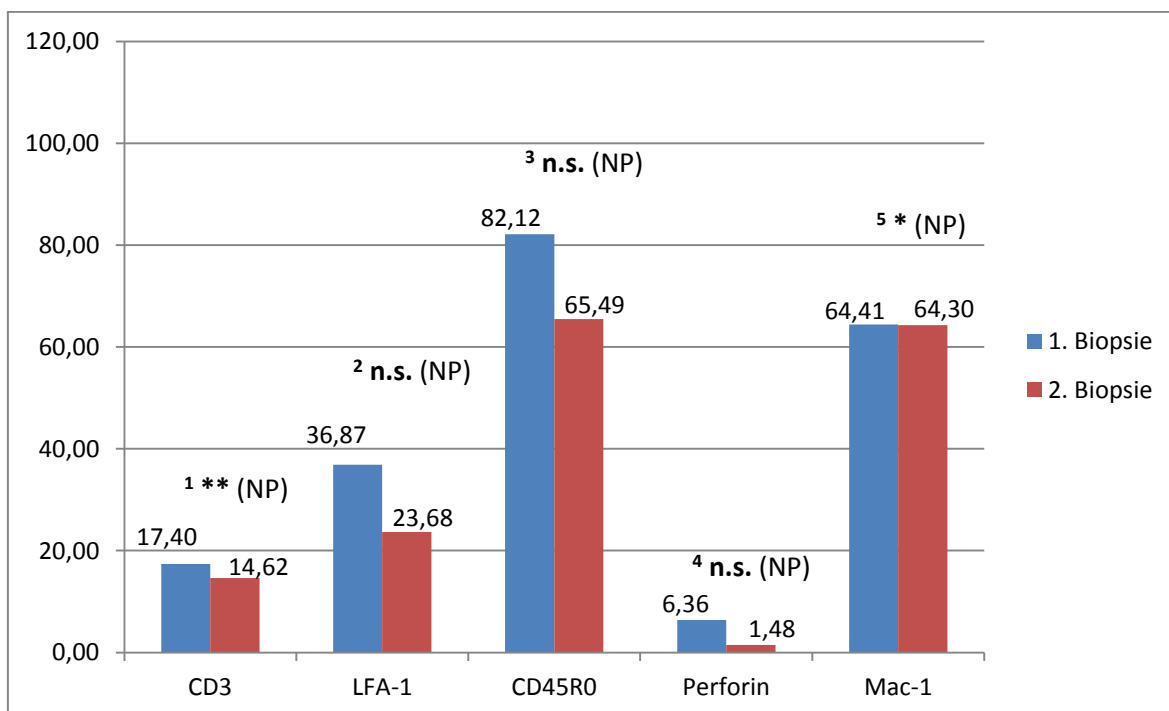


Abbildung 16: Entwicklung der Immunhistochemie (Mittelwerte) von 1. zu 2. Biopsie bei PatientInnen mit Azathioprinosis/kg KG < Median

Bemerkung: Abnahme von 1. zu 2. Biopsie bei Azathioprinosis/kg KG \geq Median höher als bei Azathioprinosis/kg KG < Median: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; verglichen wurden die Parameter mit derselben Hochzahl (1, 2, 3, 4, 5)

3.3.2 Besserung der Immunhistochemiewerte bei PatientInnen mit Cortisondosis/kg KG \geq und $<$ Median

In diese Kollektive fallen, wie schon weiter oben beschrieben, alle therapierten PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie, die in der 1. Therapie eine Cortisondosis/kg KG größer oder gleich (17 Fälle) bzw. kleiner (16 Fälle) dem Median ($=0,92$ mg/kg KG) erhielten.

In der folgenden Tabelle sind Gewicht und BMI beider Gruppen gezeigt:

Einheit	Cortisondosis/kg KG \geq Median		Cortisondosis/kg KG $<$ Median	
	Gewicht ¹ ** (NP) kg	BMI ² n.s. (P) kg/m ²	Gewicht ¹ ** (NP) kg	BMI ² n.s. (P) kg/m ²
n	17	17	16	16
MW	86,00	28,10	98,19	31,19
STAW	19,82	6,27	13,91	5,36
MIN	62	21,45	66	22,84
MAX	143	46,69	125	42,32
MED	81,00	27,17	94,50	30,53
IQR	11,00	6,61	16,25	7,07

Tabelle 19: Gewicht und BMI PatientInnen mit Cortisondosis/kg KG \geq bzw. $<$ Median

Bemerkung: Gewicht/BMI bei Cortisondosis/kg KG \geq Median kleiner als bei Cortisondosis/kg KG $<$ Median: * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$; verglichen wurden die Parameter mit derselben Hochzahl (1, 2)

Die folgenden Tabellen zeigen die Azathioprin- und Cortisontherapie beider Gruppen:
(Alle Dosisangaben entsprechen der Starttagesdosis.)

Einheit	Cortisondosis/kg KG \geq Median			Cortisondosis/kg KG $<$ Median		
	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG
n	17	17	17	16	16	16
MW	6,00	100,00	1,22	5,88	115,63	1,19
STAW	0,69	17,15	0,31	0,33	23,18	0,24
MIN	4	50	0,52	5	100	0,86
MAX	8	150	1,67	6	150	1,67
MED	6,00	100,00	1,23	6,00	100,00	1,12
IQR	0,00	0,00	0,30	0,00	50,00	0,30

Tabelle 20: Azathioprintherapie bei PatientInnen mit Cortisondosis/kg KG \geq und $<$ Median

Einheit	Cortison dosis/kg KG \geq Median			Cortison dosis/kg KG $<$ Median		
	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG	Dauer Monate	Dosis mg	Dosis/kg KG mg/kg KG
n	17	17	17	16	16	16
MW	5,88	86,41	1,00	5,94	78,44	0,81
STAW	0,47	21,67	0,05	0,24	4,91	0,09
MIN	4	60	0,92	5	60	0,64
MAX	6	150	1,11	6	80	0,91
MED	6,00	80,00	1,00	6,00	80,00	0,82
IQR	0,00	20,00	0,06	0,00	0,00	0,14

Tabelle 21: Cortisontherapie bei PatientInnen mit Cortison dosis/kg KG \geq und $<$ Median

Die folgenden zwei Diagramme zeigen die Entwicklung der immunhistologischen Werte beider Kollektive, sowie die Tests zur Überprüfung, ob die Abnahme der Immunhistochemiewerte von der 1. zur 2. Biopsie der Personen mit Cortison dosis/kg KG \geq Median signifikant höher ist als bei der anderen Gruppe: (alle Werte in positiven Zellen/mm²)

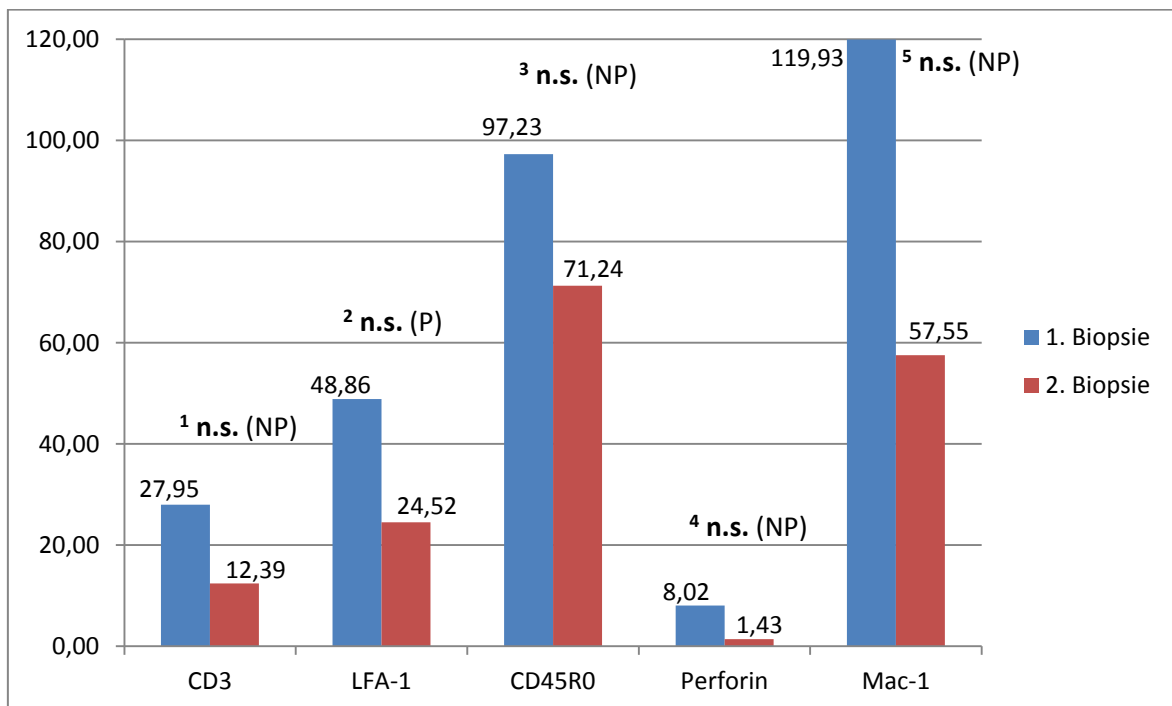


Abbildung 17: Entwicklung der Immunhistochemie (Mittelwerte) von 1. zu 2. Biopsie bei PatientInnen mit Cortison dosis/kg KG \geq Median

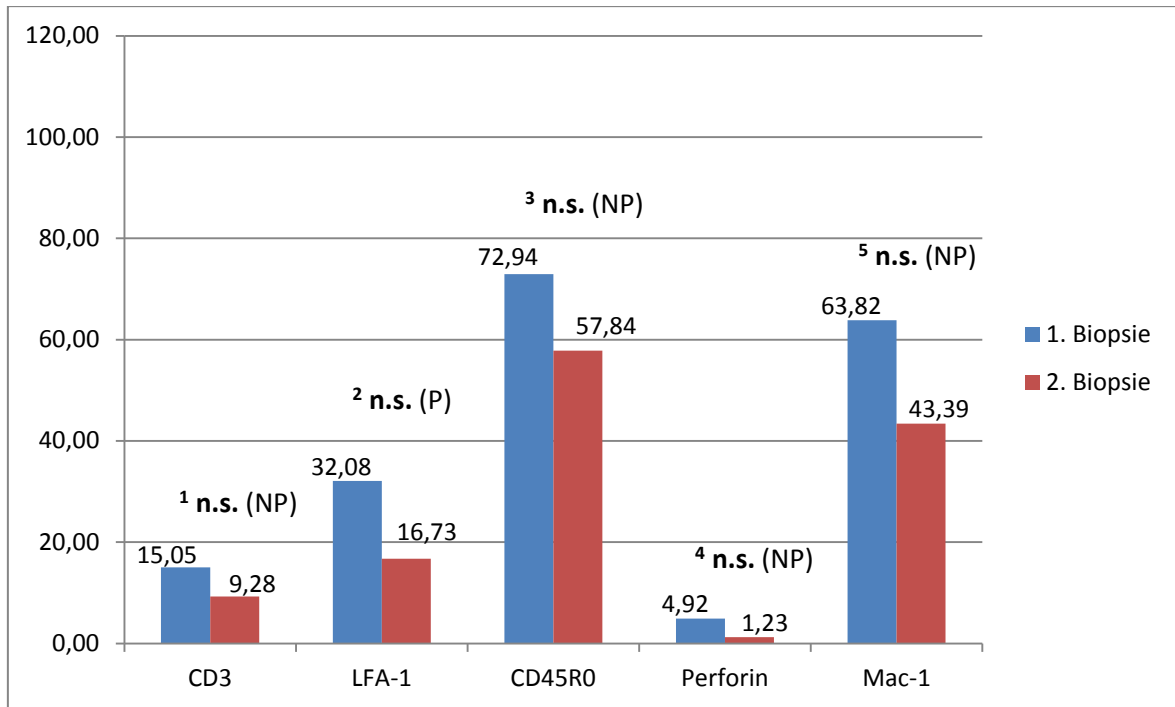


Abbildung 18: Entwicklung der Immunhistochemie (Mittelwerte) von 1. zu 2. Biopsie bei PatientInnen mit Cortisondosis/kg KG < Median

Bemerkung: Abnahme von 1. zu 2. Biopsie bei Cortisondosis/kg KG \geq Median höher als bei Cortisondosis/kg KG < Median: verglichen wurden die Parameter mit derselben Hochzahl (1, 2, 3, 4, 5)

4 Diskussion

4.1 Signifikante Ergebnisse in Bezug auf Unterdosierungshypothese

Die zentrale Hypothese dieser Diplomarbeit ist, dass ein Grund für Nichtansprechen auf Immunsuppression eine relative Unterdosierung der Medikamente bezogen auf das Körpergewicht bei PatientInnen mit höherem BMI bzw. Körpergewicht ist.

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass die Dosis/Körpergewicht sowohl von Azathioprin als auch Cortison in der gebesserten Gruppe signifikant höher war als im nicht gebesserten Kollektiv, dass Gewicht und BMI in der Gruppe mit kleinerer Azathioprinosis/Körpergewicht (als dem Median) und das Gewicht in der Gruppe mit kleinerer Cortisonosis/Körpergewicht (als dem Median) signifikant höher waren und dass es bei höherer Azathioprinosis/Körpergewicht (als dem Median) zu einer signifikant stärkeren Abnahme der CD3- und Mac-1-positiven Zellen/mm² in der Immunhistochemie kommt. All dies unterstützt bzw. belegt die Hypothese dieser Arbeit.

4.2 Interpretation und Vergleich der Ergebnisse, Ausblick

4.2.1 Besserung der Immunhistochemiewerte bei therapierten PatientInnen mit 2. (=Kontroll-) Biopsie

Die Abnahme der Immunhistochemiewerte der 33 therapierten PatientInnen mit vorhandener 2. (=Kontroll-) Biopsie von der 1. zur 2. Biopsie ist für alle Zellmarker (CD3, LFA-1, Perforin, Mac-1) außer CD45R0 statistisch signifikant und bestätigt damit die Ergebnisse von Escher et al., dass eine 6-monatige Azathioprin- plus Cortisontherapie zu einer signifikanten Abnahme von zuvor erhöhten CD3- und Perforin-positiven Zellen/mm² führt. (84)

Da es in dieser Diplomarbeit keine nicht immunsuppressiv therapierte Kontrollgruppe gab, besteht hier Potential für weiterführende Arbeiten: Diese könnten zeigen, wie sich der immunhistologische Befund eines mit Azathioprin plus Cortison therapierten Kollektivs von der 1. zur 2. (=Kontroll-) Biopsie quantitativ im Vergleich zu einer Kontrollgruppe verändert.

Mit im Durchschnitt 4,1 CD3-positiven Zellen/High Power Field, was 14,35 CD3-positiven Zellen/mm² entspricht, lag dieser immunhistologische Parameter vor der

Therapie in der TIMIC Studie etwas unter dem gemessenen Mittelwert dieser Arbeit von 21,70 CD3-positiven Zellen/mm². (71)

In der Arbeit von Escher et al. nahmen die CD3-positiven Zellen/mm² von im Mittel 16,03 vor Therapie auf 8,25 positive Zellen/mm² nach Therapie und die Perforin-positiven Zellen/mm² von 3,94 auf 1,03 positive Zellen/mm² ab. Damit waren die Mittelwerte von CD3 und Perforin also sowohl vor als auch nach Therapie etwas niedriger als in dieser Diplomarbeit, in der die CD3-positiven Zellen/mm² von 21,70 auf 10,88 positive Zellen/mm² und die Perforin-positiven Zellen/mm² von 6,52 auf 1,33 positive Zellen/mm² sanken. Die Abnahme der CD3 und Perforin Mittelwerte von der 1. zur 2. (=Kontroll-) Biopsie war in dieser Arbeit etwas größer als in der Studie von Escher und Kollegen. (84) Beim Vergleich der Ergebnisse ist zu beachten, dass sowohl die TIMIC Studie als auch die Arbeit von Escher und Kollegen nur PatientInnen einschloss, deren Herzinsuffizienz schon seit mindestens 6 Monate bestand, während in dieser Diplomarbeit auch Personen berücksichtigt wurden, deren Symptombeginn weniger als 6 Monate zurücklag. (71, 84)

4.2.2 Anteil gebesserter und nicht gebesserter PatientInnen

Mit 66,67% nicht gebesserten Personen liegt die Besserungsrate niedriger als in der TIMIC Studie mit 88%. (71) Dieser Unterschied könnte seine Ursache in der nicht unwesentlich niedrigeren Azathioprin- und Cortison dosis/Körpergewicht dieser Diplomarbeit haben. In der TIMIC Studie erhielten die PatientInnen 2mg/kg KG Azathioprin und 1mg/kg KG Cortison, während die 46 therapierten Personen dieser Arbeit im Durchschnitt 1,25 mg/kg KG Azathioprin und 0,92 mg/kg KG Cortison bekamen. Die 33 PatientInnen, von denen eine Kontrollbiopsie zur Feststellung des Therapieerfolgs vorhanden war, erhielten durchschnittlich sogar nur 1,20 mg/kg KG Azathioprin und 0,91 mg/kg KG Cortison. Dies würde die Hypothese der Diplomarbeit, dass eine niedrigere Dosis/kg KG eine Ursache für das Ausbleiben einer Besserung ist, unterstützen.

Eine weitere mögliche Ursache für die geringere Besserungsrate ist der hohe Anteil an PatientInnen, die zwar eine immunsuppressive Therapie erhielten, von denen aber keine Dokumentation zu einer Kontrollbiopsie zur Beurteilung des Therapieerfolgs vorhanden war. Einige von Ihnen konnten, trotz vor Beginn der Therapie gegebener Einwilligung, nicht zu einer Kontrollbiopsie motiviert werden. Hier könnten mehr gebesserte Personen als nicht gebesserte „verloren gegangen“ sein, da klinisch schlechtere PatientInnen bzw. Menschen mit größerer Krankheits- bzw. Symptombelastung meist eher bereit sind in

therapeutische und diagnostische Maßnahmen einzuwilligen als Personen mit geringer Krankheitsbelastung.

Des Weiteren sind die Ergebnisse dieser Arbeit aufgrund der Definitionen von Heilung/Besserung bzw. Ansprechen auf Therapie nicht ganz mit denen der TIMIC Studie vergleichbar. Während in der TIMIC Studie ein Ansprechen auf Therapie durch eine Steigerung der absoluten Ejektionsfraktion $> 10\%$ und eine Reduktion des linksventrikulären enddiastolischen Volumens oder Durchmessers $\geq 10\%$ definiert ist, wurden in dieser Diplomarbeit jene PatientInnen als gebessert betrachtet, bei denen keine 2. immunsuppressive Azathioprin- plus Cortisontherapie durchgeführt wurde und bei denen zudem mindestens einer der fünf erhobenen Immunhistochemieparameter bei der Kontrollbiopsie regredient war. Diese Definition sollte in potentiellen weiterführenden Arbeiten genauer spezifiziert werden, um eine bessere Vergleichbarkeit mit anderen Studien zu erzielen, zum Beispiel anhand der klinischen Besserung bzw. einer Besserung des NYHA Stadiums oder echokardiographischer Parameter.

Ein anderes Maß für die Heilung/Besserung war in der TIMIC Studie der Anteil an PatientInnen, die sich während der Therapiezeit um mindestens eine NYHA Klasse gebessert hatten. Dieser Anteil liegt mit 49% etwas unter den 66,67% gebesserten Patientinnen dieser Diplomarbeit, die sich aus den Entscheidungen für und wider eine zweite Immunsuppression ergeben, die sowohl Klinik als auch Echokardiographie und Kontrollbiopsiebefund berücksichtigten. Das heißt der Anteil an gebesserten PatientInnen dieser Diplomarbeit, der sich somit auch aus Klinik und Echokardiographie ergibt, liegt zwischen dem Anteil an NYHA-Klassen- (und somit klinisch-) gebesserten und echokardiographisch gebesserten Personen der TIMIC Studie.

Eine weitere Verminderung der Vergleichbarkeit ergibt sich dadurch, dass die TIMIC Studie nur PatientInnen einschloss, deren Herzinsuffizienz schon mindestens 6 Monate bestanden hatte, während in dieser Diplomarbeit auch Personen berücksichtigt wurden, deren Symptombeginn weniger als 6 Monate zurücklag.

4.2.3 Charakterisierung nicht gebesserter PatientInnen

Sowohl Körpergröße als auch Körpergewicht und BMI sind im Durchschnitt bei den nicht gebesserten Personen höher (n.s.) als in der gebesserten Gruppe. Die größere Körpergröße und damit ein Teil des höheren Körpergewichts der nicht gebesserten PatientInnen, kann durch den höheren Männeranteil dieses Kollektivs im Vergleich zu den gebesserten Personen und der bei Männern im Durchschnitt höheren Körpergröße als bei Frauen erklärt

werden. Der höhere BMI des nicht gebesserten Kollektivs lässt sich auf diese Weise allerdings nicht erklären und spricht, wie auch das höhere Körpergewicht dieser Gruppe, für die Hypothese dieser Arbeit, dass ein Grund für den ausbleibenden Therapieerfolg bei den nicht gebesserten Personen eine relative Underdosierung der Wirkstoffe bezogen auf das Körpergewicht bei PatientInnen mit höherem Körpergewicht bzw. BMI ist. Der unterschiedliche Männeranteil in beiden Gruppen könnte auf die geringe Fallzahl zurückzuführen sein.

Die NT-proBNP Werte der gebesserten Gruppe sanken von der 1. bis zur 2. Biopsie signifikant, während das NT-proBNP beim nicht gebesserten Kollektiv nur nicht signifikant abnahm. Da NT-proBNP ein Maß für den enddiastolischen Wandstress des linken Ventrikels durch Volumen- und/oder Drucküberlastung ist (118–120) und es nicht überrascht, dass bei einer Besserung/Heilung diese Überbelastung des Ventrikels abnimmt, ist dies nachvollziehbar.

Obwohl bei allen Präparaten der 1. Biopsie beider Kollektive immunhistochemisch eine Entzündung nachweisbar war, zeigten die histologischen Befunde beider Gruppen in keinem einzigen Fall einen erhöhten Zellgehalt oder eine vorhandene frische Nekrose sowie in nur 73% der nicht gebesserten und 45% der gebesserten PatientInnen eine vermehrte Fibrosierung. Dies führt vor Augen, dass die Dallas Kriterien zur Diagnose der (virusnegativen) Myokarditis aufgrund der geringen Sensitivität kaum geeignet sind. (81, 82)

Die absolute Dosierung der immunsuppressiven Therapie der nicht gebesserten Personen liegt im Durchschnitt sowohl bei Azathioprin als auch Cortison nur wenig unter derjenigen der gebesserten PatientInnen. Die Mediane der absoluten Dosierungen beider Medikamente unterscheiden sich zwischen beiden Kollektiven nicht. Der Hauptgrund für die statistisch signifikant niedrigere Dosis/Körpergewicht beider Medikamente muss also das höhere Körpergewicht bzw. der höhere BMI des nicht gebesserten Kollektivs sein. Dies bekräftigt die Hypothese dieser Arbeit, dass einer der Gründe für das teilweise Ausbleiben des Therapieerfolges der 6-monatigen Immunsuppression mit Azathioprin plus Cortison eine relative Underdosierung der Wirkstoffe bei PatientInnen mit höherem Körpergewicht bzw. BMI ist.

Zur Charakterisierung nicht gebesserter PatientInnen liegen derzeit leider kaum vergleichbare Studien vor, da die meisten Arbeiten, die die Unterschiede zwischen gebesserten und nicht gebesserten Personen aufzeigen wollen, PatientInnen mit aktiver myokardialer Virusinfektion nicht ausgeschlossen haben und somit nicht mit dem Kollektiv dieser Arbeit vergleichbar sind. (121) Die TIMIC Studie, dessen Kollektiv am ehesten mit dem dieser Studie vergleichbar ist, charakterisiert die Nonresponder nicht so genau, bzw. größtenteils nicht diejenigen Parameter, die in dieser Diplomarbeit charakterisiert wurden. (71)

4.2.4 Besserung der Immunhistochemiewerte bei PatientInnen mit Azathioprin- bzw. Cortison dosis/Körpergewicht \geq Median im Vergleich zu $<$ Median

Mittels statistischer Tests konnte nachgewiesen werden, dass Gewicht und BMI der Gruppe mit Azathioprin dosis/Körpergewicht $<$ Median signifikant höher sind als im Kollektiv mit Azathioprin dosis/Körpergewicht \geq Median. Zudem ergaben die Tests, dass auch das Gewicht der PatientInnen mit Cortison dosis/Körpergewicht $<$ Median signifikant größer und der BMI nur knapp nicht signifikant größer ist als bei den Personen mit Cortison dosis/Körpergewicht \geq Median. All dies zeigt, dass Hauptgründe für die niedrigere Dosis/Körpergewicht in den Kollektiven mit Dosis/kg KG $<$ Median ein höheres Körpergewicht bzw. ein größerer BMI sind.

Außerdem zeigte sich eine leichte Tendenz, dass diejenigen Personen, die eine Azathioprin dosis/Körpergewicht $<$ Median erhielten, auch eher weniger Cortison/Körpergewicht bekamen und umgekehrt. Eine Erklärung dieser Tendenz könnte sein, dass PatientInnen mit höherem Körpergewicht bzw. BMI generell relativ zum Körpergewicht eher niedriger dosiert wurden. Dies würde die Hypothese dieser Arbeit, dass ein Grund für das Nichtansprechen auf Immunsuppression eine relative Unterdosierung bei Personen mit höherem Körpergewicht bzw. BMI ist, unterstützen.

Die Abnahme der Immunhistochemiewerte von der 1. zur 2. Biopsie ist im Kollektiv mit Azathioprin dosis/Körpergewicht \geq Median für CD3 und Mac-1 signifikant stärker als in der Gruppe mit Azathioprin dosis/Körpergewicht $<$ Median. Dies belegt die Hypothese dieser Arbeit, dass ein Grund für den ausbleibenden Therapieerfolg eine relative Unterdosierung bezogen auf das Körpergewicht bei Personen mit höherem BMI bzw.

Körpergewicht ist. Die Abnahme von LFA-1 ist knapp nicht signifikant stärker. Hier könnte sich in zukünftigen Arbeiten mit höherer PatientInnenzahl eine Signifikanz zeigen.

Die Abnahme der CD3-positiven Zellen/mm² von der 1. zur 2. Biopsie ist in der Gruppe mit Cortison dosis/Körpergewicht \geq Median knapp nicht signifikant größer als im Kollektiv mit Cortison dosis/Körpergewicht $<$ Median. Weiterführende Arbeiten mit höherer Fallzahl könnten hier aber wahrscheinlich ein signifikantes Ergebnis liefern. Auch die Abnahme der anderen Immunhistochemieparameter unterscheidet sich nicht signifikant zwischen den beiden Gruppen. Grund dafür könnte sein, dass die Höhe der Cortison dosis/Körpergewicht einen nicht so wesentlichen Einfluss auf das Ausmaß der Abnahme der Immunhistochemiewerte hat und dass die Azathioprin dosis/Körpergewicht im Kollektiv mit Cortison dosis/kg KG \geq Median nicht weit genug über dem Vergleichskollektiv lag, um eine signifikant stärkere Abnahme der Immunhistochemiewerte zu bewirken.

4.3 Limitationen dieser Studie

Mit 46 therapierten PatientInnen, von denen sich nur 33 Personen einer Kontrollbiopsie unterzogen, ist das Drop-out nicht unwesentlich und schränkt somit die Aussagekraft dieser Studie etwas ein.

Eine weitere Limitation der Beweiskraft ergibt sich durch die eher niedrige Fallzahl von 33 therapierten PatientInnen mit 2. Endomyokardbiopsie, die sich bei Aufspaltung in Untergruppen noch weiter verringert.

Die Aussagekraft der Besserung der Immunhistochemiewerte bei den therapierten PatientInnen mit Kontrollbiopsie wird dadurch reduziert, dass es keine Kontrollgruppe gab, die keine immunsuppressive Therapie erhalten hat. Somit kann nicht gesagt werden, ob und um wie viel die immunhistologischen Werte von der 1. zur 2. Biopsie ohne Immunsuppression ab- oder zugenommen hätten.

Für einige Parameter (Herzfrequenz, Durchmesser rechter und linker Ventrikel, linksventrikuläre Ejektionsfraktion) konnten teilweise nur semiquantitative Daten erhoben werden, die dann wie unter „Material und Methoden“ beschrieben in quantitative Daten geändert wurden. Dies verringert den Stellenwert der Statistik dieser Parameter etwas.

4.4 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die 6-monatige Immunsuppression mit Azathioprin und Cortison eine wertvolle und zentrale Therapiesäule der inflammatorischen

Cardiomyopathie ist, die häufig zur Ausheilung der Myokarditis führt. Ferner sprechen die Resultate dieser Arbeit stark für die zentrale Hypothese, dass ein Grund für einen ausbleibenden Therapieerfolg bei einem Teil der PatientInnen eine relative Unterdosierung der Wirkstoffe bezogen auf das Körpergewicht bei Personen mit höherem Gewicht bzw. BMI ist. Vor allem bei Azathioprin scheint die Dosis/Körpergewicht für das positive Outcome der Therapie eine wichtige Rolle zu spielen. Als Schlussfolgerung für die Praxis ergibt sich somit die Dosierungen bei PatientInnen mit höherem Gewicht bzw. BMI entsprechend anzupassen. Zukünftige, weiterführende Studien sind notwendig um potentielle Prognosefaktoren für das Outcome der immunsuppressiven Therapie bei inflammatorischer Cardiomyopathie zu identifizieren und zu etablieren.

5 Literaturverzeichnis

1. Richardson P, McKenna W, Bristow M, Maisch B, Mautner B, O'Connell J et al. Report of the 1995 World Health Organization/International Society and Federation of Cardiology Task Force on the Definition and Classification of cardiomyopathies. *Circulation* 1996; 93(5):841–2.
2. Vos T, Barber RM, Bell B, Bertozzi-Villa A, Biryukov S, Bolliger I et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 301 acute and chronic diseases and injuries in 188 countries, 1990–2013: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet* 2015; 386(9995):743–800.
3. Cooper LT, Keren A, Sliwa K, Matsumori A, Mensah GA. The global burden of myocarditis: part 1: a systematic literature review for the Global Burden of Diseases, Injuries, and Risk Factors 2010 study. *Glob Heart* 2014; 9(1):121–9.
4. Naghavi M, Abajobir AA, Abbafati C, Abbas KM, Abd-Allah F, Abera SF et al. Global, regional, and national age-sex specific mortality for 264 causes of death, 1980–2016: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet* 2017; 390(10100):1151–210.
5. Weber MA, Ashworth MT, Risdon RA, Malone M, Burch M, Sebire NJ. Clinicopathological features of paediatric deaths due to myocarditis: an autopsy series. *Arch Dis Child* 2008; 93(7):594–8.
6. Maron BJ, Doerer JJ, Haas TS, Tierney DM, Mueller FO. Sudden deaths in young competitive athletes: analysis of 1866 deaths in the United States, 1980–2006. *Circulation* 2009; 119(8):1085–92.
7. Maron BJ, Udelson JE, Bonow RO, Nishimura RA, Ackerman MJ, Estes NAM et al. Eligibility and Disqualification Recommendations for Competitive Athletes With Cardiovascular Abnormalities: Task Force 3: Hypertrophic Cardiomyopathy, Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy and Other Cardiomyopathies, and Myocarditis: A Scientific Statement From the American Heart Association and American College of Cardiology. *Circulation* 2015; 132(22):e273–80.
8. Heymans S, Eriksson U, Lehtonen J, Cooper LT. The Quest for New Approaches in Myocarditis and Inflammatory Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2016; 68(21):2348–64.
9. Matoba R, Shikata I, Iwai K, Onishi S, Fujitani N, Yoshida K et al. An epidemiologic and histopathological study of sudden cardiac death in Osaka Medical Examiner's Office. *Jpn Circ J* 1989; 53(12):1581–8.
10. Guarner J, Paddock CD, Shieh W-J, Packard MM, Patel M, Montague JL et al. Histopathologic and immunohistochemical features of fatal influenza virus infection in children during the 2003–2004 season. *Clin Infect Dis* 2006; 43(2):132–40.
11. Blauwet LA, Cooper LT. Myocarditis. *Prog Cardiovasc Dis* 2010; 52(4):274–88.
12. Kindermann I, Barth C, Mahfoud F, Ukena C, Lenski M, Yilmaz A et al. Update on myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 2012; 59(9):779–92.

13. Schultheiss H-P, Kühl U, Cooper LT. The management of myocarditis. *Eur Heart J* 2011; 32(21):2616–25.
14. Kühl U, Pauschinger M, Seeberg B, Lassner D, Noutsias M, Poller W et al. Viral persistence in the myocardium is associated with progressive cardiac dysfunction. *Circulation* 2005; 112(13):1965–70.
15. Bowles NE, Ni J, Kearney DL, Pauschinger M, Schultheiss H-P, McCarthy R et al. Detection of viruses in myocardial tissues by polymerase chain reaction. *J Am Coll Cardiol* 2003; 42(3):466–72.
16. Kühl U, Pauschinger M, Noutsias M, Seeberg B, Bock T, Lassner D et al. High prevalence of viral genomes and multiple viral infections in the myocardium of adults with "idiopathic" left ventricular dysfunction. *Circulation* 2005; 111(7):887–93.
17. Andreoletti L, Leveque N, Boulagnon C, Brasselet C, Fornes P. Viral causes of human myocarditis. *Arch Cardiovasc Dis* 2009; 102(6-7):559–68.
18. Pauschinger M, Phan MD, Doerner A, Kühl U, Schwimmbeck PL, Poller W et al. Enteroviral RNA replication in the myocardium of patients with left ventricular dysfunction and clinically suspected myocarditis. *Circulation* 1999; 99(7):889–95.
19. Pauschinger M, Bowles NE, Fuentes-Garcia FJ, Pham V, Kühl U, Schwimmbeck PL et al. Detection of adenoviral genome in the myocardium of adult patients with idiopathic left ventricular dysfunction. *Circulation* 1999; 99(10):1348–54.
20. Chimenti C, Russo A, Pieroni M, Calabrese F, Verardo R, Thiene G et al. Intramyocyte detection of Epstein-Barr virus genome by laser capture microdissection in patients with inflammatory cardiomyopathy. *Circulation* 2004; 110(23):3534–9.
21. Pinto AYdN, Valente SA, Valente VdC, Ferreira Junior AG, Coura JR. Acute phase of Chagas disease in the Brazilian Amazon region: study of 233 cases from Para, Amapa and Maranhao observed between 1988 and 2005. *Rev Soc Bras Med Trop* 2008; 41(6):602–14.
22. Hidron A, Vogenthaler N, Santos-Preciado JI, Rodriguez-Morales AJ, Franco-Paredes C, Rassi A, JR. Cardiac involvement with parasitic infections. *Clin Microbiol Rev* 2010; 23(2):324–49.
23. Ellis NMJ, Kurahara DK, Vohra H, Mascaro-Blanco A, Erdem G, Adderson EE et al. Priming the immune system for heart disease: a perspective on group A streptococci. *J Infect Dis* 2010; 202(7):1059–67.
24. Kilian JG, Kerr K, Lawrence C, Celermajer DS. Myocarditis and cardiomyopathy associated with clozapine. *Lancet* 1999; 354(9193):1841–5.
25. Park Y, Ahn SG, Ko A, Ra SH, Cha J, Jee YG et al. Hypersensitivity myocarditis confirmed by cardiac magnetic resonance imaging and endomyocardial biopsy. *Korean J Intern Med* 2014; 29(2):236–40.
26. Garty BZ, Offer I, Livni E, Danon YL. Erythema multiforme and hypersensitivity myocarditis caused by ampicillin. *Ann Pharmacother* 1994; 28(6):730–1.
27. Radhakrishnan ST, Mohanaruban A, Hoque S. Mesalazine-induced myocarditis: a case report. *J Med Case Rep* 2018; 12(1):44.

28. Engler RJM, Nelson MR, Collins LC, JR, Spooner C, Hemann BA, Gibbs BT et al. A prospective study of the incidence of myocarditis/pericarditis and new onset cardiac symptoms following smallpox and influenza vaccination. *PLoS One* 2015; 10(3):e0118283.
29. Murphy JG, Wright RS, Bruce GK, Baddour LM, Farrell MA, Edwards WD et al. Eosinophilic-lymphocytic myocarditis after smallpox vaccination. *Lancet* 2003; 362(9393):1378–80.
30. Vinit J, Bielefeld P, Muller G, Pfitzenmeyer P, Bonniaud P, Lorcerie B et al. Heart involvement in Churg–Strauss syndrome: Retrospective study in French Burgundy population in past 10 years. *European Journal of Internal Medicine* 2010; 21(4):341–6.
31. Corssmit EPM, Trip MD, Durrer JD. Löffler’s Endomyocarditis in the Idiopathic Hypereosinophilic Syndrome. *Cardiology* 1999; 91(4):272–6.
32. Nunes H, Freynet O, Naggara N, Soussan M, Weinman P, Diebold B et al. Cardiac sarcoidosis. *Semin Respir Crit Care Med* 2010; 31(4):428–41.
33. Cooper LT, JR. Giant cell and granulomatous myocarditis. *Heart Fail Clin* 2005; 1(3):431–7.
34. Bergelson JM, Cunningham JA, Droguett G, Kurt-Jones EA, Krithivas A, Hong JS et al. Isolation of a common receptor for Coxsackie B viruses and adenoviruses 2 and 5. *Science* 1997; 275(5304):1320–3.
35. Martino TA, Petric M, Brown M, Aitken K, Gauntt CJ, Richardson CD et al. Cardiovirulent coxsackieviruses and the decay-accelerating factor (CD55) receptor. *Virology* 1998; 244(2):302–14.
36. Liu PP, Opavsky MA. Viral myocarditis: receptors that bridge the cardiovascular with the immune system? *Circ Res* 2000; 86(3):253–4.
37. Bultmann BD, Klingel K, Sotlar K, Bock CT, Baba HA, Sauter M et al. Fatal parvovirus B19-associated myocarditis clinically mimicking ischemic heart disease: an endothelial cell-mediated disease. *Hum Pathol* 2003; 34(1):92–5.
38. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell* 2006; 124(4):783–801.
39. Kawai T, Akira S. TLR signaling. *Cell Death Differ* 2006; 13(5):816–25.
40. Yuan JP, Zhao W, Wang HT, Wu KY, Li T, Guo XK et al. Coxsackievirus B3-induced apoptosis and caspase-3. *Cell Res* 2003; 13(3):203–9.
41. Chow LH, Beisel KW, McManus BM. Enteroviral infection of mice with severe combined immunodeficiency. Evidence for direct viral pathogenesis of myocardial injury. *Lab Invest* 1992; 66(1):24–31.
42. Seko Y, Shinkai Y, Kawasaki A, Yagita H, Okumura K, Yazaki Y. Evidence of perforin-mediated cardiac myocyte injury in acute murine myocarditis caused by Coxsackie virus B3. *J Pathol* 1993; 170(1):53–8.
43. Vallbracht KB, Schwimmbeck PL, Kühl U, Seeberg B, Schultheiss H-P. Endothelium-dependent flow-mediated vasodilation of systemic arteries is impaired in patients with myocardial virus persistence. *Circulation* 2004; 110(18):2938–45.

44. Fischer D, Rossa S, Landmesser U, Spiekermann S, Engberding N, Hornig B et al. Endothelial dysfunction in patients with chronic heart failure is independently associated with increased incidence of hospitalization, cardiac transplantation, or death. *Eur Heart J* 2005; 26(1):65–9.
45. Yuan J, Cao A-L, Yu M, Lin Q-W, Yu X, Zhang J-H et al. Th17 cells facilitate the humoral immune response in patients with acute viral myocarditis. *J Clin Immunol* 2010; 30(2):226–34.
46. Yuan J, Yu M, Lin Q-W, Cao A-L, Yu X, Dong J-H et al. Neutralization of IL-17 inhibits the production of anti-ANT autoantibodies in CVB3-induced acute viral myocarditis. *Int Immunopharmacol* 2010; 10(3):272–6.
47. Rose NR. Autoimmunity in coxsackievirus infection. *Curr Top Microbiol Immunol* 2008; 323:293–314.
48. Kühl U, Schultheiss H-P. Viral myocarditis: diagnosis, aetiology and management. *Drugs* 2009; 69(10):1287–302.
49. Schultheiss HP, Kühl U. Stand der Diagnostik und Therapie der inflammatorischen Kardiomyopathie. *Internist (Berl)* 2008; 49(1):7–16.
50. Caforio ALP, Pankuweit S, Arbustini E, Basso C, Gimeno-Blanes J, Felix SB et al. Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: a position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2013; 34(33):2636–48, 2648a–2648d.
51. Lauer B, Niederau C, Kuhl U, Schannwell M, Pauschinger M, Strauer BE et al. Cardiac troponin T in patients with clinically suspected myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 1997; 30(5):1354–9.
52. Smith SC, Ladenson JH, Mason JW, Jaffe AS. Elevations of cardiac troponin I associated with myocarditis. Experimental and clinical correlates. *Circulation* 1997; 95(1):163–8.
53. Mahfoud F, Gärtner B, Kindermann M, Ukena C, Gadomski K, Klingel K et al. Virus serology in patients with suspected myocarditis: utility or futility? *Eur Heart J* 2011; 32(7):897–903.
54. Caforio ALP, Calabrese F, Angelini A, Tona F, Vinci A, Bottaro S et al. A prospective study of biopsy-proven myocarditis: prognostic relevance of clinical and aetiopathogenetic features at diagnosis. *Eur Heart J* 2007; 28(11):1326–33.
55. Ukena C, Mahfoud F, Kindermann I, Kandolf R, Kindermann M, Bohm M. Prognostic electrocardiographic parameters in patients with suspected myocarditis. *Eur J Heart Fail* 2011; 13(4):398–405.
56. Nakashima H, Katayama T, Ishizaki M, Takeno M, Honda Y, Yano K. Q wave and non-Q wave myocarditis with special reference to clinical significance. *Jpn Heart J* 1998; 39(6):763–74.
57. Pinamonti B, Alberti E, Cigalotto A, Dreas L, Salvi A, Silvestri F et al. Echocardiographic findings in myocarditis. *Am J Cardiol* 1988; 62(4):285–91.
58. Felker GM, Boehmer JP, Hruban RH, Hutchins GM, Kasper EK, Baughman KL et al. Echocardiographic findings in fulminant and acute myocarditis. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(1):227–32.

59. Giri S, Chung Y-C, Merchant A, Mihai G, Rajagopalan S, Raman SV et al. T2 quantification for improved detection of myocardial edema. *J Cardiovasc Magn Reson* 2009; 11:56.
60. Mewton N, Liu CY, Croisille P, Bluemke D, Lima JAC. Assessment of myocardial fibrosis with cardiovascular magnetic resonance. *J Am Coll Cardiol* 2011; 57(8):891–903.
61. Francone M, Chimenti C, Galea N, Scopelliti F, Verardo R, Galea R et al. CMR sensitivity varies with clinical presentation and extent of cell necrosis in biopsy-proven acute myocarditis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2014; 7(3):254–63.
62. Yilmaz A, Ferreira V, Klingel K, Kandolf R, Neubauer S, Sechtem U. Role of cardiovascular magnetic resonance imaging (CMR) in the diagnosis of acute and chronic myocarditis. *Heart Fail Rev* 2013; 18(6):747–60.
63. Friedrich MG, Sechtem U, Schulz-Menger J, Holmvang G, Alakija P, Cooper LT et al. Cardiovascular magnetic resonance in myocarditis: A JACC White Paper. *J Am Coll Cardiol* 2009; 53(17):1475–87.
64. Lurz P, Eitel I, Adam J, Steiner J, Grothoff M, Desch S et al. Diagnostic performance of CMR imaging compared with EMB in patients with suspected myocarditis. *JACC Cardiovasc Imaging* 2012; 5(5):513–24.
65. Lurz P, Luecke C, Eitel I, Fahrenbach F, Frank C, Grothoff M et al. Comprehensive Cardiac Magnetic Resonance Imaging in Patients With Suspected Myocarditis: The MyoRacer-Trial. *J Am Coll Cardiol* 2016; 67(15):1800–11.
66. Gutberlet M, Spors B, Thoma T, Bertram H, Denecke T, Felix R et al. Suspected chronic myocarditis at cardiac MR: diagnostic accuracy and association with immunohistologically detected inflammation and viral persistence. *Radiology* 2008; 246(2):401–9.
67. Okumura W, Iwasaki T, Toyama T, Iso T, Arai M, Oriuchi N et al. Usefulness of fasting 18F-FDG PET in identification of cardiac sarcoidosis. *J Nucl Med* 2004; 45(12):1989–98.
68. Youssef G, Leung E, Mylonas I, Nery P, Williams K, Wisenberg G et al. The use of 18F-FDG PET in the diagnosis of cardiac sarcoidosis: a systematic review and metaanalysis including the Ontario experience. *J Nucl Med* 2012; 53(2):241–8.
69. Skali H, Schulman AR, Dorbala S. 18F-FDG PET/CT for the assessment of myocardial sarcoidosis. *Curr Cardiol Rep* 2013; 15(4):352.
70. Blankstein R, Osborne M, Naya M, Waller A, Kim CK, Murthy VL et al. Cardiac positron emission tomography enhances prognostic assessments of patients with suspected cardiac sarcoidosis. *J Am Coll Cardiol* 2014; 63(4):329–36.
71. Frustaci A, Russo MA, Chimenti C. Randomized study on the efficacy of immunosuppressive therapy in patients with virus-negative inflammatory cardiomyopathy: the TIMIC study. *Eur Heart J* 2009; 30(16):1995–2002.
72. Cooper LT, JR, Berry GJ, Shabetai R. Idiopathic giant-cell myocarditis--natural history and treatment. Multicenter Giant Cell Myocarditis Study Group Investigators. *N Engl J Med* 1997; 336(26):1860–6.

73. Kühl U, Pauschinger M, Schwimmbeck PL, Seeberg B, Lober C, Noutsias M et al. Interferon-beta treatment eliminates cardiotropic viruses and improves left ventricular function in patients with myocardial persistence of viral genomes and left ventricular dysfunction. *Circulation* 2003; 107(22):2793–8.
74. From AM, Maleszewski JJ, Rihal CS. Current status of endomyocardial biopsy. *Mayo Clin Proc* 2011; 86(11):1095–102.
75. Cunningham KS, Veinot JP, Butany J. An approach to endomyocardial biopsy interpretation. *J Clin Pathol* 2006; 59(2):121–9.
76. Hauck AJ, Kearney DL, Edwards WD. Evaluation of postmortem endomyocardial biopsy specimens from 38 patients with lymphocytic myocarditis: implications for role of sampling error. *Mayo Clin Proc* 1989; 64(10):1235–45.
77. Parrillo JE, Aretz HT, Palacios I, Fallon JT, Block PC. The results of transvenous endomyocardial biopsy can frequently be used to diagnose myocardial diseases in patients with idiopathic heart failure. Endomyocardial biopsies in 100 consecutive patients revealed a substantial incidence of myocarditis. *Circulation* 1984; 69(1):93–101.
78. Leone O, Veinot JP, Angelini A, Baandrup UT, Basso C, Berry G et al. 2011 consensus statement on endomyocardial biopsy from the Association for European Cardiovascular Pathology and the Society for Cardiovascular Pathology. *Cardiovasc Pathol* 2012; 21(4):245–74.
79. Yilmaz A, Kindermann I, Kindermann M, Mahfoud F, Ukena C, Athanasiadis A et al. Comparative evaluation of left and right ventricular endomyocardial biopsy: differences in complication rate and diagnostic performance. *Circulation* 2010; 122(9):900–9.
80. Holzmann M, Nicko A, Kuhl U, Noutsias M, Poller W, Hoffmann W et al. Complication rate of right ventricular endomyocardial biopsy via the femoral approach: a retrospective and prospective study analyzing 3048 diagnostic procedures over an 11-year period. *Circulation* 2008; 118(17):1722–8.
81. Aretz HT, Billingham ME, Edwards WD, Factor SM, Fallon JT, Fenoglio JJ, JR et al. Myocarditis. A histopathologic definition and classification. *Am J Cardiovasc Pathol* 1987; 1(1):3–14.
82. Baughman KL. Diagnosis of myocarditis: death of Dallas criteria. *Circulation* 2006; 113(4):593–5.
83. Kindermann I, Kindermann M, Kandolf R, Klingel K, Bultmann B, Müller T et al. Predictors of outcome in patients with suspected myocarditis. *Circulation* 2008; 118(6):639–48.
84. Escher F, Kühl U, Lassner D, Poller W, Westermann D, Pieske B et al. Long-term outcome of patients with virus-negative chronic myocarditis or inflammatory cardiomyopathy after immunosuppressive therapy. *Clin Res Cardiol* 2016; 105(12):1011–20.
85. Noutsias M, Pauschinger M, Schultheiss H, Kühl U. Phenotypic characterization of infiltrates in dilated cardiomyopathy - diagnostic significance of T-lymphocytes and macrophages in inflammatory cardiomyopathy. *Med Sci Monit* 2002; 8(7):CR478-87.
86. Maisch B, Portig I, Ristic A, Hufnagel G, Pankuweit S. Definition of inflammatory cardiomyopathy (myocarditis): on the way to consensus. A status report. *Herz* 2000; 25(3):200–9.

87. Bock C-T, Klingel K, Kandolf R. Human parvovirus B19-associated myocarditis. *N Engl J Med* 2010; 362(13):1248–9.
88. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, Bueno H, Cleland JGF, Coats AJS et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC). Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur J Heart Fail* 2016; 18(8):891–975.
89. Mirabel M, Luyt C-E, Leprince P, Trouillet J-L, Leger P, Pavie A et al. Outcomes, long-term quality of life, and psychological assessment of fulminant myocarditis patients rescued by mechanical circulatory support. *Crit Care Med* 2011; 39(5):1029–35.
90. Hsu K-H, Chi N-H, Yu H-Y, Wang C-H, Huang S-C, Wang S-S et al. Extracorporeal membranous oxygenation support for acute fulminant myocarditis: analysis of a single center's experience. *Eur J Cardiothorac Surg* 2011; 40(3):682–8.
91. Chen YS, Wang MJ, Chou NK, Han YY, Chiu IS, Lin FY et al. Rescue for acute myocarditis with shock by extracorporeal membrane oxygenation. *Ann Thorac Surg* 1999; 68(6):2220–4.
92. Japanese Circulation Society (JCS) Joint Working Group. Guidelines for Diagnosis and Treatment of Myocarditis (JCS 2009). *Circ J* 2011; 75(3):734–43.
93. Prochnau D, Surber R, Kuehnert H, Heinke M, Klein HU, Figulla HR. Successful use of a wearable cardioverter-defibrillator in myocarditis with normal ejection fraction. *Clin Res Cardiol* 2010; 99(2):129–31.
94. Basso C, Carturan E, Corrado D, Thiene G. Myocarditis and dilated cardiomyopathy in athletes: diagnosis, management, and recommendations for sport activity. *Cardiol Clin* 2007; 25(3):423–9, vi.
95. Pelliccia A, Fagard R, Bjornstad HH, Anastassakis A, Arbustini E, Assanelli D et al. Recommendations for competitive sports participation in athletes with cardiovascular disease: a consensus document from the Study Group of Sports Cardiology of the Working Group of Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology and the Working Group of Myocardial and Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005; 26(14):1422–45.
96. Krueger GRF, Ablashi DV. Human herpesvirus-6: a short review of its biological behavior. *Intervirology* 2003; 46(5):257–69.
97. Kühl U, Lassner D, Schlippenbach J von, Poller W, Schultheiss H-P. Interferon-Beta improves survival in enterovirus-associated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol* 2012; 60(14):1295–6.
98. Schultheiss H-P, Piper C, Sowade O, Waagstein F, Kapp J-F, Wegscheider K et al. Betaferon in chronic viral cardiomyopathy (BICC) trial: Effects of interferon-beta treatment in patients with chronic viral cardiomyopathy. *Clin Res Cardiol* 2016; 105(9):763–73.
99. Drucker NA, Colan SD, Lewis AB, Beiser AS, Wessel DL, Takahashi M et al. Gamma-globulin treatment of acute myocarditis in the pediatric population. *Circulation* 1994; 89(1):252–7.
100. Dennert R, Velthuis S, Schalla S, Eurlings L, van Suylen R-J, van Paassen P et al. Intravenous immunoglobulin therapy for patients with idiopathic cardiomyopathy and endomyocardial biopsy-proven high PVB19 viral load. *Antivir Ther* 2010; 15(2):193–201.

101. Maisch B, Hufnagel G, Kölsch S, Funck R, Richter A, Rupp H et al. Treatment of inflammatory dilated cardiomyopathy and (peri)myocarditis with immunosuppression and i.v. immunoglobulins. *Herz* 2004; 29(6):624–36.
102. Gullestad L, Aass H, Fjeld JG, Wikeby L, Andreassen AK, Ihlen H et al. Immunomodulating therapy with intravenous immunoglobulin in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2001; 103(2):220–5.
103. English RF, Janosky JE, Ettetdgui JA, Webber SA. Outcomes for children with acute myocarditis. *Cardiology in the Young* 2004; 14(5):488–93.
104. Atiq M, Hoda M, Aslam N. Effect of intravenous gamma globulin on short- and mid-term clinical outcome in acute viral myocarditis in children. *World Journal of Cardiovascular Diseases* 2014; 04.
105. Klugman D, Berger JT, Sable CA, He J, Khandelwal SG, Slonim AD. Pediatric patients hospitalized with myocarditis: a multi-institutional analysis. *Pediatr Cardiol* 2010; 31(2):222–8.
106. McNamara DM, Holubkov R, Starling RC, Dec GW, Loh E, Torre-Amione G et al. Controlled trial of intravenous immune globulin in recent-onset dilated cardiomyopathy. *Circulation* 2001; 103(18):2254–9.
107. Felix SB, Staudt A, Landsberger M, Grosse Y, Stangl V, Spielhagen T et al. Removal of cardiodepressant antibodies in dilated cardiomyopathy by immunoadsorption. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39(4):646–52.
108. Felix SB, Staudt A, Dorffel WV, Stangl V, Merkel K, Pohl M et al. Hemodynamic effects of immunoadsorption and subsequent immunoglobulin substitution in dilated cardiomyopathy: three-month results from a randomized study. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35(6):1590–8.
109. Doesch AO, Konstandin M, Celik S, Kristen A, Frankenstein L, Hardt S et al. Effects of protein A immunoadsorption in patients with advanced chronic dilated cardiomyopathy. *J Clin Apher* 2009; 24(4):141–9.
110. Herda LR, Trimpert C, Nauke U, Landsberger M, Hummel A, Beug D et al. Effects of immunoadsorption and subsequent immunoglobulin G substitution on cardiopulmonary exercise capacity in patients with dilated cardiomyopathy. *Am Heart J* 2010; 159(5):809–16.
111. Bulut D, Scheeler M, Wichmann T, Börgel J, Miebach T, Mügge A. Effect of protein A immunoadsorption on T cell activation in patients with inflammatory dilated cardiomyopathy. *Clin Res Cardiol* 2010; 99(10):633–8.
112. Kandolin R, Lehtonen J, Airaksinen J, Vihinen T, Miettinen H, Ylitalo K et al. Cardiac sarcoidosis: epidemiology, characteristics, and outcome over 25 years in a nationwide study. *Circulation* 2015; 131(7):624–32.
113. Cooper LT, JR, Hare JM, Tazelaar HD, Edwards WD, Starling RC, Deng MC et al. Usefulness of immunosuppression for giant cell myocarditis. *Am J Cardiol* 2008; 102(11):1535–9.
114. Maleszewski JJ, Orellana VM, Hodge DO, Kühl U, Schultheiss H-P, Cooper LT. Long-term risk of recurrence, morbidity and mortality in giant cell myocarditis. *Am J Cardiol* 2015; 115(12):1733–8.

115. Grande D, Gioia MI, Terlizze P, Iacoviello M. Heart Failure and Kidney Disease. *Adv Exp Med Biol* 2017.
116. Luers C, Sutcliffe A, Binder L, Irle S, Pieske B. NT-proANP and NT-proBNP as prognostic markers in patients with acute decompensated heart failure of different etiologies. *Clin Biochem* 2013; 46(12):1013–9.
117. Pfister R, Diedrichs H, Schiedermaier A, Rosenkranz S, Hellmich M, Erdmann E et al. Prognostic impact of NT-proBNP and renal function in comparison to contemporary multi-marker risk scores in heart failure patients. *Eur J Heart Fail* 2008; 10(3):315–20.
118. Yasue H, Yoshimura M, Sumida H, Kikuta K, Kugiyama K, Jougasaki M et al. Localization and mechanism of secretion of B-type natriuretic peptide in comparison with those of A-type natriuretic peptide in normal subjects and patients with heart failure. *Circulation* 1994; 90(1):195–203.
119. Iwanaga Y, Nishi I, Furuichi S, Noguchi T, Sase K, Kihara Y et al. B-type natriuretic peptide strongly reflects diastolic wall stress in patients with chronic heart failure: comparison between systolic and diastolic heart failure. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47(4):742–8.
120. Magnussen C, Blankenberg S. Biomarkers for heart failure: small molecules with high clinical relevance. *J Intern Med* 2018.
121. Frustaci A. Immunosuppressive Therapy for Active Lymphocytic Myocarditis: Virological and Immunologic Profile of Responders Versus Nonresponders. *Circulation* 2003; 107(6):857–63.