

Aus der Medizinischen Klinik III der Universität Tübingen

Abteilung für Kardiologie und Angiologie

**Evaluation prognostischer Marker bei PatientInnen mit
Tachykardiomyopathie und eingeschränkter
linksventrikulärer Ejektionsfraktion**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin

**der Medizinischen Fakultät der Eberhard Karls Universität zu
Tübingen**

vorgelegt von

Lieb, Jakob

2026

Dekanin: Prof. Dr. med Sara Y. Brucker

1. Berichterstatter: Prof. Dr. M. Gawaz
2. Berichterstatter: PD Dr. Jörg Michel

Tag der Disputation: 23.09.2026

1 Inhaltsverzeichnis

2	Einleitung und Fragestellungen	6
2.1	Klinik und Ätiologie der Tachykardiomyopathie	6
2.1.1	Vorhofflimmern und Vorhofflattern	8
2.1.2	Ventrikuläre Tachykardien sowie ventrikuläre Extrasystolen	10
2.2	Therapieoptionen der TCM	11
2.3	(Histo-)Pathologische Veränderungen bei TCM	16
2.3.1	EMID-Zeichen.....	18
2.3.2	Myokardiale Fibrose.....	19
2.4	Biomarker	20
2.4.1	Myoglobin	21
2.4.2	MRP-8/14 (Calprotectin).....	21
2.4.3	NGAL	22
2.4.4	C-reaktives Protein (CRP)	22
2.4.5	Matrix Metallo-Protease-2 und -9 (MMP-2/MMP-9).....	23
2.4.6	Vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1)	24
2.4.7	Weitere Biomarker	24
2.5	Fragestellungen.....	26
3	Material und Methoden	27
3.1	Patientenkollektiv	27
3.2	Materialien.....	28
3.2.1	Geräte	28
3.2.2	Programme/Softwares	28
3.2.3	Chemikalien/Lösungen.....	29
3.2.4	Antikörper und Kontrollen sowie Färbelösungen.....	31
3.2.5	LegendPlex Immunoassay zur Bestimmung der Biomarker im Plasma	32
3.3	Methoden	33
3.3.1	Protokoll zur Anfertigung von Gewebeschnitten auf Objektträger	33
3.3.2	Hämatoxylin-Eosin-Färbungen.....	34
3.3.3	Fibrose-Färbung mit Sirius-red.....	35
3.3.4	Immunhistochemie (IHC).....	36
3.3.5	Bestimmung von Biomarkern im Plasma	39
3.3.6	Statistik	40

4	Ergebnisse	41
4.1	Beschreibung des Kollektivs	41
4.2	Rhythmuskontrolle sowie postinterventionelle Medikation	43
4.3	Transthorakale Echokardiographie	44
4.3.1	Echokardiographie bei Einschluss	44
4.3.2	Echokardiographie im follow-up.....	45
4.4	Elektrokardiographie	48
4.4.1	EKG bei Aufnahme	48
4.4.2	EKG im follow-up.....	50
4.5	Histologische Befunde.....	53
4.5.1	EMID-Zeichen.....	53
4.5.2	Myokardiale Fibrose.....	61
4.5.3	Analyse des Querschnitts von Kardiomyozyten	62
4.6	Biomarker	63
4.6.1	Durchschnittliche Biomarkerkonzentrationen bei Einschluss und im follow-up.....	63
4.6.2	Biomarkerkonzentrationen im Bezug zur LVEF bei Einschluss und im follow-up.....	67
4.6.3	Korrelation der Biomarkerkonzentrationen bei Einschluss mit der Änderung der LVEF im Verlauf	69
5	Diskussion.....	72
5.1	Stärken und Schwächen der Studie.....	72
5.2	Klinische Befunde.....	74
5.3	Histopathologische Befunde als Prädiktoren für die Änderung der LVEF	75
5.3.1	EMID-Zeichen.....	75
5.3.2	Myokardiale Fibrose.....	77
5.4	Biomarker als Prädiktoren für die Änderung der LVEF.....	78
5.4.1	Myoglobin (Mb)	78
5.4.2	Myeloid-related protein-8/14 (calprotectin/MRP-8/14).....	79
5.4.3	C-reaktives Protein (CRP)	79
5.4.4	Matrix Metallo-Protease-2 und -9 (MMP-2/-9).....	80
5.4.5	Osteopontin.....	82
6	Zusammenfassung	83
7	Veröffentlichungen	84

8	Erklärung zum Eigenanteil	84
9	Literaturverzeichnis	85
10	Abbildungsverzeichnis	92
11	Abkürzungsverzeichnis	95
12	Tabellenverzeichnis	96
13	Danksagung.....	97

2 Einleitung und Fragestellungen

2.1 Klinik und Ätiologie der Tachykardiomyopathie

Die Tachykardiomyopathie (TCM), welche auch als Tachykardie-induzierte Kardiomyopathie (TCMP) bezeichnet wird, ist eine potenziell reversible Form der linksventrikulären Dysfunktion des Herzmuskels, welche ohne Therapie tödlich verlaufen kann (1). Bereits im Jahre 1913 wurde erstmalig ein Patient mit dilatativer Kardiomyopathie aufgrund tachykarden Vorhofflimmerns (VHF) beschrieben (2).

Die Diagnose einer TCM wird heute laut Mueller et al. anhand folgender Kriterien ausschließlich klinisch gestellt und ist eine Ausschlussdiagnose (3):

- Tachykardie (Herzfrequenz $>100/\text{min}$),
- eingeschränkte linksventrikuläre Ejektionsfraktion ($\text{LVEF} < 50\%$),
- Erholung der LVEF nach adäquater Rhythmus- oder Frequenzkontrolle und
- Ausschluss struktureller Ursachen einer Herzinsuffizienz (zum Beispiel hochgradige Aortenklappenstenose) (4-6).

Diagnostisch wegweisend sind beispielsweise die Erholung der linksventrikulären Dysfunktion nach Frequenzkontrolle, Rhythmuskontrolle durch interventionelle Ablation oder Kardioversion bzw. medikamentöser Rhythmuskontrolle binnen 1-6 Monaten, ein linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser (LVEDD) $< 5,5 \text{ cm}$ sowie das simultane Wiederauftreten einer eingeschränkten LVEF mit erneuter Herzrhythmusstörung (1). Sicher lässt sich eine TCM aus diesem Grunde bisher lediglich nach Therapie und eventueller Erholung der linksventrikulären Pumpfunktion, somit also nur retrospektiv diagnostizieren (7).

Bei der TCM kommt es zu einem Herzversagen aufgrund einer tachykarden Herzrhythmusstörung. Hierbei besteht mutmaßlich ein kontinuierliches Spektrum, welches eine progrediente Schädigung des Herzmuskels bedingt und ggf. bei ausgedehnter Schädigung des Herzmuskels zu bleibenden Einbußen der LVEF führen kann. Der Übergang in einen kardiogenen Schock kann dabei sogar zum Tode führen (3). Prinzipiell kommt als Ursache für eine TCM jede tachykarde Herzrhythmusstörung in

Frage (7), am häufigsten ist diese jedoch mit tachykardem Vorhofflimmern assoziiert (8), gefolgt von Vorhofflattern, supraventrikulären und ventrikulären Tachykardien sowie ventrikulären Extrasystolen (9-13). Die Zeit zum Auftreten einer TCM kann sehr stark variieren (wenige Tage bis mehrere Wochen), da viele PatientInnen mit TCM beispielsweise keine Palpitationen bemerken, weshalb die Dauer der Rhythmusstörung häufig schwer zu evaluieren ist (1). Weiterhin ist die Schwere der TCM vermutlich abhängig von Art und Herzfrequenz der Rhythmusstörung sowie ob diese rhythmisch oder arrhythmisch ist (8, 14). Ältere PatientInnen entwickeln eine TCM außerdem häufiger in einem kürzeren Zeitraum als jüngere (7). Weiterhin ist bislang unklar warum nicht bei allen PatientInnen mit tachykarden Rhythmusstörungen eine TCM beobachtet wird.

Zusätzlich erschwert wird die Diagnose der TCM durch den Umstand, dass nicht alle Rhythmusstörungen persistieren und gegebenenfalls in einem Routine-Elektrokardiogramm (EKG) nicht diagnostiziert werden können. Da Tachykardien schon bei einem Auftreten von 10-15% der Zeit zu einer Kardiomyopathie führen können (6), sind PatientInnen mit bekannter Rhythmusstörung und kürzlich neu aufgetretener, eingeschränkter LVEF besonders engmaschig zu kontrollieren.

Hinweisgebend für die Diagnose einer TCM können neben den oben genannten klinischen Kriterien folgende echokardiographische Untersuchungsbefunde sein:

- eine bei Voruntersuchungen normale linksventrikuläre Ejektionsfraktion
- die Abwesenheit von Linksherzhypertrophie mit linksventrikulärem enddiastolischem Durchmesser (LVEDD) < 5,5 cm (= normale Dimensionen) (1).

Bisher wurde kein Grenzwert einer kritischen Herzfrequenz beschrieben, bei dem das Risiko einer TCM als sicher erhöht angesehen werden kann. Von einigen Autoren wurden Herzfrequenzen >100/min (15) beziehungsweise eine Verdopplung der normalen Ruhe-Herzfrequenz (auf 120-140/min) als Risikofaktoren beschrieben (7). In einer randomisierten klinischen Studie konnten Van Gelder et al. im Jahr 2010 zeigen, dass milde Frequenzkontrolle (Herzfrequenzen in Ruhe < 110/min) in VHF-PatientInnen, dieselben Effekte hat wie strikte Frequenzkontrolle (Herzfrequenz in Ruhe < 80/min).

Als primäre Endpunkte wurden für diese Studie unter anderen der Tod durch kardiovaskuläre Ereignisse sowie die Hospitalisierung bei Herzinsuffizienz gewählt (16). Nach wie vor wird im Falle einer TCM jedoch eine strikte Frequenzkontrolle empfohlen (17). Weiterhin kommt es darauf an, wie persistierend die Frequenzerhöhung und wie rhythmisch die Herzfrequenz ist. Man geht heute davon aus, dass insbesondere ein arrhythmischer Herzschlag eine entscheidende Rolle bei der Pathogenese spielt (1). Hierfür wird in Kapitel 2.3 ausführlich auf die (histo-) pathologischen Veränderungen bei TCM eingegangen.

2.1.1 Vorhofflimmern und Vorhofflattern

VHF (Abb. 1) ist nicht nur die häufigste Ursache einer TCM, sondern auch die häufigste anhaltende Herzrhythmusstörung im höheren Alter überhaupt (17, 18). Linksventrikuläre Dysfunktion findet sich in ungefähr 20-30% der PatientInnen mit VHF und 10-50% der PatientInnen mit Kardiomyopathie haben VHF (19). Die weltweite Prävalenz wurde im Jahr 2010 auf 33,5 Millionen Fälle mit einem jährlichen Zuwachs von ungefähr 5 Millionen Fällen geschätzt (20). Es wird zwischen einer primären/idiopathischen Form mit familiärer Prädisposition und einer sekundären Form als Folge von entweder kardialen (zum Beispiel Mitralklappenventilen, koronare Herzkrankheit) oder extrakardialen (z.B. arterielle Hypertonie, Lungenarterienembolie oder Hyperthyreose) Ursachen unterschieden. Grundsätzlich kommt es in der Mehrzahl der Fälle durch spontane Entladungen von Zellen im Bereich der Mündung der Pulmonalvenen zu vermehrten Vorhofkontraktionen (ungefähr 300-600/min). Die hohe Schlagfrequenz schränkt die Füllung des Vorhofs ein und die insuffiziente Kontraktion vermindert das Herzminutenvolumen um ungefähr 15%. Bei zusätzlich bestehender Linksherzinsuffizienz kann es sogar um bis zu 40% sinken (17). Durch die rasche und unregelmäßige Kontraktion kommt es zu Umwandlungsprozessen im Vorhofmyokard die mit steigender elektrischer Instabilität einhergehen, was wiederum das Auftreten von Vorhofflimmern und Vorhofflattern begünstigt. Dadurch begünstigt längerfristig anhaltendes Vorhofflimmern die Persistenz von Vorhofflimmern.

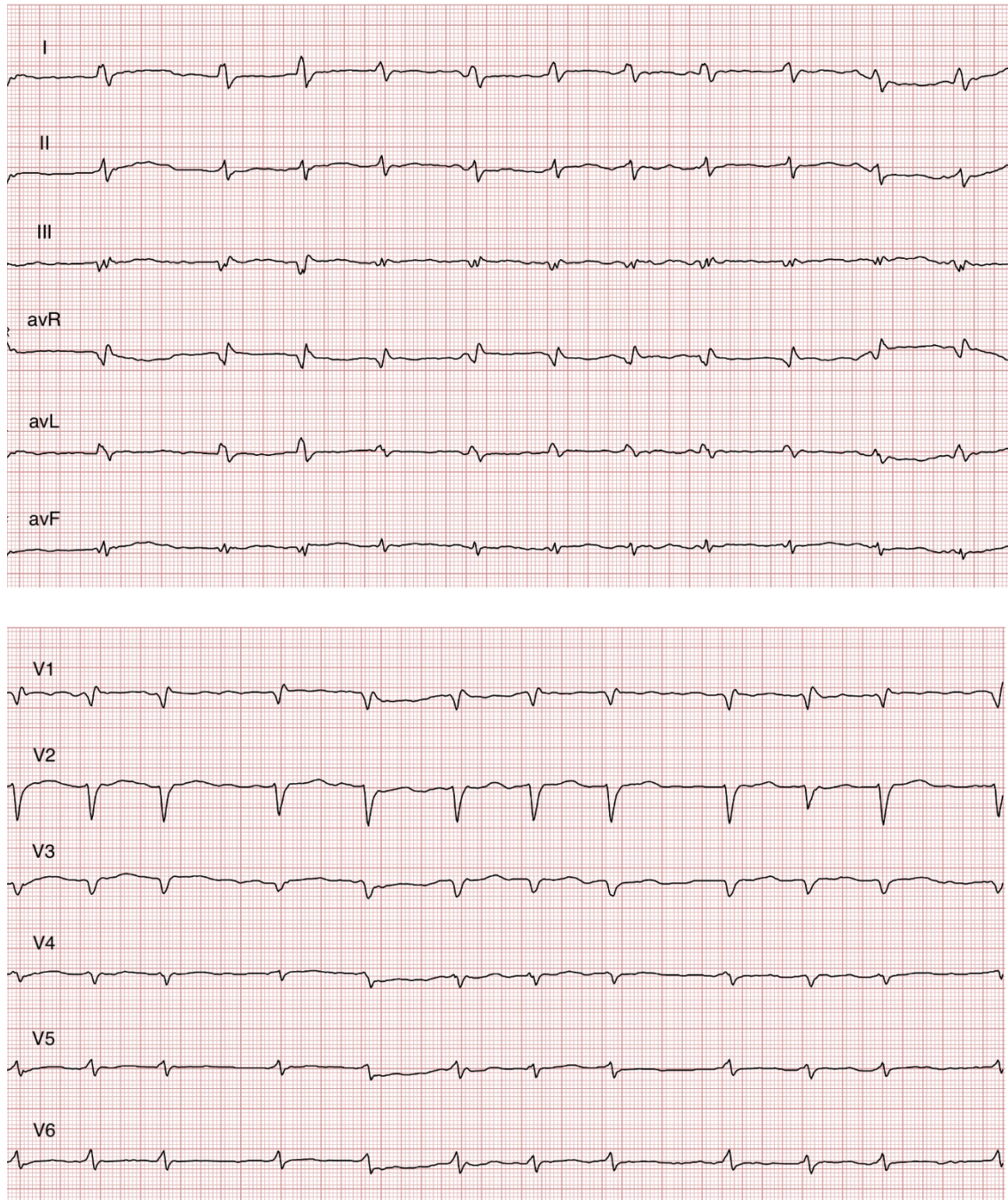


Abbildung 1: Elektrokardiogramm bei Vorhofflimmern. Beispiel eines Elektrokardiogramms (EKG) bei Vorhofflimmern einer weiblichen Patientin, 65 Jahre. Ableitungen von oben nach unten: I, II, III, aVR, aVL, aVF, V1, V2, V3, V4, V5, V6. Herzfrequenz=141 /min

Für den elektrokardiographischen Befund (Abb.1) sind fehlende P-Wellen, eine unruhige isoelektrische Linie sowie schmale QRS-Komplexe mit unregelmäßigen R-R-Intervallen charakteristisch (17). Für die Diagnose von Vorhofflimmern ist ein 12-Kanal EKG

notwendig, welches eine Episode der oben beschriebenen Charakteristika über 30 s am Stück erfüllt (21).

Zu den wichtigsten Risikofaktoren gehören neben hohem Alter arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Kardiomyopathie, Herzklappenvitien (insbesondere Mitralklappenstenose und Mitralklappeninsuffizienz), koronare Herzkrankheit sowie chronische Niereninsuffizienz (22).

Im Gegensatz zur asymptomatischen Form äußert sich die symptomatische Form des Vorhofflimmerns mit Palpationen, sowie ggf. mit Herzinsuffizienzsymptomen wie Dyspnoe, Ödemen und Erschöpfung. Weiterhin können u. a. thorakales Engegefühl, Synkopen, Schwindel und Schlafstörungen auftreten (17).

Vorhofflattern stellt die zweithäufigste Ursache für eine TCM dar, wobei ca. 56% der PatientInnen mit Vorhofflattern eine TCM entwickelt (19). Beim typischen Vorhofflattern kommt es entlang der cavo-trikuspidalen Zirkumferenz zu kreisenden, wiederkehrenden Erregungsausbreitungen im rechten Vorhof. Charakteristisch ist im EKG das Auftreten von „sägezahnartigen“ P-Wellen, zwischen welchen keine isoelektrische Linie sichtbar ist. Vorhofflattern ist eine wichtige Differentialdiagnose des VHF's und kann kurzfristig in Sinusrhythmus elektrisch kardiovertiert werden. Regelmäßig wird als langfristige Therapie des typischen Vorhofflatterns jedoch eine invasive cavo-trikuspidale Isthmusablation empfohlen.

2.1.2 Ventrikuläre Tachykardien sowie ventrikuläre Extrasystolen

Ventrikuläre Tachykardien (VT) sowie ventrikuläre Extrasystolen (VES) sind seltenere Ursachen einer TCM (19). Die häufigsten Ursachen der VT sind Schädigungen des Myokards z.B. im Rahmen einer koronaren Herzkrankheit, Myokarditiden, dilatative Kardiomyopathien, arrhythmogene rechtsventrikuläre Kardiomyopathie sowie Schädigungen im Rahmen eines Long-, oder Short-QT-Syndroms. Pathophysiologisch haben VES ihren Ursprung häufig im links- oder rechtsventrikulären Ausflusstrakt, da hier unterschiedliche Gewebearten aufeinandertreffen und elektrisch weniger stabil sind und dadurch eher zu elektrischen Entladungen neigen. Zudem können kreisende Erregungen unter Einbeziehung von gesundem Myokardgewebe und einer myokardialen Narbenstrukturen mit Leitungsverzögerung zu VES bzw. VT führen. Zu den gängigsten

Symptomen gehören Dyspnoe, Angina pectoris, Palpitationen/Herzrasen sowie Lungenödem im Rahmen eines kardiogenen Schocks.

Aufgrund der durch VT häufig ausgelösten Akutsymptome ist diese Form der tachykarden Herzrhythmusstörung eine seltene Ursache für TCM, da die Akutsymptome meist zu einer raschen Therapie im Rahmen einer notfallmäßigen Vorstellung der PatientInnen führen.

VES sind dagegen häufiger an der Pathophysiologie von TCM beteiligt. In einer Studie mit einer Fallzahl von 239 PatientInnen konnte bei 5,4 % (n=13) eine TCM nachgewiesen werden. Eingeschlossen wurden in dieser Studie PatientInnen mit einer Anzahl von >1000 VES pro Tag.

2.2 Therapieoptionen der TCM

Zu den gängigsten Therapieverfahren der TCM gehören

1. die medikamentöse Frequenzkontrolle durch Antiarrhythmika (AADs)
2. die medikamentöse oder interventionelle Rhythmuskontrolle.

Im Folgenden werden die gängigsten Methoden zur Frequenz- und Rhythmuskontrolle laut aktuellen Leitlinien kurz beschrieben:

Frequenzkontrolle:

Die Frequenzkontrolle kann einen positiven Effekt auf die mit VHF assoziierten Symptome haben. Bisher konnte für VHF keine anzustrebende Herzfrequenzgrenze identifiziert werden, und die aktuellen Guidelines schätzen eine Herzfrequenz <110/min als akzeptabel ein, weisen jedoch explizit darauf hin, dass solche Werte im Falle einer TCM nicht zu tolerieren sind (17). Für die medikamentöse Frequenzkontrolle kommen folgende Medikamente in Frage: Betablocker, Non-Dihydropyridin-Kalzium-Kanal-Blocker (NDCC), Amiodaron sowie Digitalispräparate. Mögliche Kombinationstherapien sind immer abhängig zu machen von Symptomen, Komorbiditäten und möglichen Nebenwirkungen (17).

Betablocker (AAD-Klasse II) gehören zu den am weitesten verbreiteten Medikamenten und Erstlinientherapie bezüglich Frequenzkontrolle in der Behandlung von Herzrhythmusstörungen und Herzinsuffizienz. Sie lassen sich unterteilen in selektive und unselektive Betablocker und sind Antagonisten der Beta-Sympathomimetika. Wichtig ist für die kardiale Wirkung insbesondere die Blockierung der Beta-1-Rezeptoren. Durch die Blockierung dieser Rezeptoren wird die sympathomimetische Wirkung von Adrenalin und Noradrenalin auf Kardiomyozyten sowie dem Sinus- und Atrioventrikular (AV)-Knoten gehemmt und folglich eine negativ inotrope, negativ chronotrope und negativ dromotrope Wirkung erzielt, welche eine Entlastung des Herzens zur Folge haben und den Sauerstoff-Bedarf am Herzen senken. Zu den Nebenwirkungen von Betablockern zählen u. a. Hypotonie, kalte Extremitäten, Bronchokonstriktion, Fatigue sowie Potenzstörungen (23). Aufgrund ihrer anhaltenden Wirkung bei sympathikotonen Reaktionen werden Beta-1-Rezeptorblocker bevorzugt zur Frequenzkontrolle bei VHF-PatientInnen eingesetzt (23).

Präparate aus der Gruppe der **Non-Dihydropyridin-Kalzium-Kanal-Blocker (NDCC, AAD-Klasse IV)** verlangsamen die AV-Knoten Überleitung durch antagonistische Blockierung von L-Typ Kalzium-Kanälen, welche die Refraktärzeit verlängern (23). Somit haben sie einen positiven Effekt sowohl auf die Herzfrequenz als auch auf die im Blut messbaren Werte des Hormons NT-proBNP, welches bei atrialer Dilatation aufgrund von Volumenüberlastung freigesetzt wird (24, 25). Zu gängigen Nebenwirkungen der NDCC gehören Obstipation und periphere Ödeme (23).

Falls die Frequenzkontrolle nicht mittels oben genannter Medikamente erreicht werden kann, besteht die Möglichkeit **Amiodaron** (AAD Klasse III) zur Frequenzkontrolle einzusetzen. Amiodaron gehört zur Gruppe der Kaliumkanalblocker und wird für die Therapie von (supra-) ventrikulären Tachykardien sowie zur Rhythmus- und Frequenzkontrolle eingesetzt. Es wird weiter unten ausführlicher beschrieben.

Rhythmuskontrolle:

Eine Rhythmuskontrolle zur Erhaltung des Sinusrhythmus kann medikamentös z.B. mittels Betablocker und/oder z.B. Amiodaron erfolgen. Für die langfristige rhythmuserhaltende Therapie kommen AADs aus den Klassen I bis III in Betracht. Am Beispiel des VHF werden diese im Folgenden kurz vorgestellt:

Klasse I der AADs bilden Natrium-Kanal-Blocker. Hierbei wird unterschieden zwischen Gruppe Ia, Ib und Ic.

Gruppe **Ia-AADs** hemmen den schnellen Natrium-Einstrom am Kardiomyozyt, wodurch die Erregbarkeit der Muskelzelle verringert und die Refraktärzeit sowie im EKG die QTc-Zeit verlängert wird. Prominentester Vertreter dieser Gruppe ist Ajmalin.

Klasse **Ib AADs** unterscheiden sich zu Gruppe Ia in der Verkürzung der Refraktärzeit und werden lediglich bei ventrikulären Tachykardien eingesetzt. Vertreter der Gruppe sind beispielsweise Lidocain und Mexiletin.

Gruppe **Ic AADs** hemmen ebenso wie Gruppe Ia AADs den schnellen Natriumeinstrom in die Zelle, allerdings wird hierbei nicht der Kaliumausstrom und somit auch nicht das QT-Intervall beeinflusst. Vertreter dieser Gruppe sind zum Beispiel Propafenon und Flecainid und kommen auch zur medikamentösen Kardioversion bei VHF zum Einsatz.

Nach Beurteilung von Risikofaktoren und Behandlung von Begleitsymptomen der Rhythmusstörung werden für PatientInnen ohne relevante strukturelle Herzerkrankung Dronedaron (**Klasse III AAD**), Flecainid, Propafenon (**Klasse Ic AADs**) sowie Sotalol (**Klasse II AAD**) in Frage. Im Falle einer reduzierten LVEF sind die Therapieoptionen auf Amiodaron beschränkt. Bei rezidivierenden Rhythmusereignissen wird im Verlauf laut aktueller Leitlinie die Katheterablation (siehe unten) empfohlen (17).

Zu den nicht-pharmakologischen Therapieoptionen bei VHF gehören innerhalb der Rhythmuskontrolle die elektrische Kardioversion sowie interventionelle Therapie mit Pulmonalvenenisolation durch Kryo- bzw. Radiofrequenzenergie oder Pulsed-field-Ablation (26-29).

Als letzte Therapieoption gilt die AV-Knoten-Ablation mit Schrittmacherimplantation, die eine Entkoppelung des Vorhofs von der Kammer bewirkt und durch den Schrittmacher eine regelmäßige und normofrequente Stimulation der Kammer sicherstellt.

Selbst eine hochgradig eingeschränkte LVEF kann sich im Falle einer TCM mit konsequenter Therapie normalisieren (30). Die Prognose der LVEF wird dabei durch die Kombination mehrerer Therapieansätze in der Regel verbessert.

Eine randomisierte Studie, in die 203 ProbandInnen mit Kardiomyopathie und einer LVEF von <40% bei persistierendem Vorhofflimmern eingeschlossen worden waren,

verglich die Wirksamkeit einer Rhythmuskontrolle durch Amiodaron mit einer Rhythmuskontrolle durch Ablation auf den primären Endpunkt eines Vorhofflimmer Rezidivs (31). 70% der durch Ablation therapierten PatientInnen waren postinterventionell frei von Vorhofflimmern, während in der mit Amiodaron therapierten Gruppe lediglich 34% frei von Vorhofflimmern waren. Insgesamt zeigte sich eine Verbesserung der linksventrikulären Funktion sowie eine Steigerung der Lebensqualität innerhalb der gesamten Kohorte. Gestützt werden diese Ergebnisse durch ein von Ganesan und Kollegen im Jahr 2015 veröffentlichtes systematisches Review, das 19 Studien (insgesamt 914 PatientInnen) einschloss, welche die Wirksamkeit einer Ablation bei PatientInnen mit einer eingeschränkten linksventrikulären Funktion evaluierten (32). Hierbei konnte nach einmaliger Intervention bei 57 % der PatientInnen und mit mehr als einer Intervention und/oder antiarrhythmischer Medikation bei 82% der PatientInnen ein ständiger Sinusrhythmus erreicht werden. Oben genannte Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Restoration eines Sinusrhythmus einen großen Einfluss auf die Verbesserung der linksventrikulären Ejektionsfraktion zu haben scheint, insbesondere wenn er auf lange Sicht erhalten bleibt. Zusätzlich scheinen PatientInnen mit einem kürzeren Symptomintervall eine bessere Prognose zu haben, da zumeist früher eine ärztliche Vorstellung erfolgt, die zu einer Therapie der Rhythmusstörung führt. Sobald jedoch schwere strukturelle Veränderungen im Vorhof vorliegen, sinken die Chancen auf einen langfristigen Ablationserfolg (1).

Die Ablation gehört zusammengefasst zur aktuell am besten wirksamen therapeutischen Methode der Rhythmuskontrolle. Sie kann in Kombination mit antiarrhythmischen Medikamenten und Kardioversion angewandt werden und sollte durch Antikoagulation und Lebensstilveränderungen ergänzt werden. Laut den Leitlinien der European Society of Cardiology (ESC) 2020 zeigt sich bezüglich des Voranschreitens von VHF eine Überlegenheit der Rhythmuskontrolle im Vergleich zur Frequenzkontrolle (33).

Sollte weder eine medikamentöse noch eine Ablationstherapie zum gewünschten Erfolg führen, kann auf eine AV-Ablation nach vorrausgegangener Herzschrittmacher-Implantation (17) zurückgegriffen werden. Hierbei handelt es sich um eine Intervention mit geringer Komplikationsrate und hohen Erfolgsaussichten, wenn der Herzschrittmacher bereits einige Wochen vor Ablationstherapie eingesetzt und nach

Ablation auf eine Herzfrequenz von ungefähr 70-90/min eingestellt wird (34, 35). Durch die Ablation des AV-Knotens ist keine eigene Überleitung vom Vorhof auf das Ventrikelmyokard mehr möglich, wodurch der Ventrikel von arrhythmischer und tachykarder Erregung geschützt wird und nur noch selektiv durch den implantierten Herzschrittmacher erregt wird. Allerdings bietet diese Therapieoption auch einige Nachteile. Beispielsweise können Fehlfunktionen von Aggregat oder Sonde eines implantierten Schrittmachers zu einem Ausfall der ventrikulären Stimulation führen, die durch den iatrogen durch Ablation herbeigeführten AV-Block °III lebensgefährlich sein kann, falls keine eigenständige AV-Überleitung mehr möglich ist. Weitere Nachteile sind im Wesentlichen notwendige Aggregatwechsel bei Batterie-Ermüdung (Haltbarkeiten zwischen 10 und 15 Jahren) sowie Infektionsrisiken durch Aggregat und Sonde.

2.3 (Histo-)Pathologische Veränderungen bei TCM

Über die Pathogenese der TCM ist bisher nur wenig bekannt und es sind sehr wenige humane Daten publiziert. Studien an Tiermodellen und histopathologischen Untersuchungen an tierischem bzw. menschlichem Herzmuskelgewebe zeigten bislang im Wesentlichen, dass eine TCM-Veränderungen im Ca^{2+} -Haushalt der Kardiomyozyten, einen Umbau der extrazellulären Matrix im Sinne einer Fibrose und neurohormonelle Dysregulationen mit sich bringt (15, 36-40). Außerdem kommt es zu subklinischen Ischämien, metabolischen Änderungen und Redox-Stress (1).

Aktuelle Daten aus einem translationalen Ansatz von Sosalla et al. konnten zeigen, dass Vorhofflimmern bei PatientInnen mit erhaltener linksventrikulärer Funktion die Kopplung von Erregung und Kontraktion der Kardiomyozyten mit erniedrigter systolischer Freisetzung von Ca^{2+} (als wesentlichem Marker der Kontraktionsfähigkeit des Herzmuskels) negativ beeinflusst. Neben dieser Erkenntnis konnten durch *in vitro* VHF-Stimulation von humanen pluripotenten Stammzellen unter Anderem verlängerte Aktionspotentiale und vermehrte freie Sauerstoffradikale nachgewiesen werden, welche durch Aktivierung einer Proteinkinase (Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase II δ c) zu einem Remodeling des Ventrikels führen (40).

Die bislang bekannte Pathophysiologie lässt sich somit im Wesentlichen auf drei molekulare Säulen aufteilen, welche durch Arrhythmie getriggert werden:

- 1.) ATP-Erschöpfung und verminderte systolische Ca^{2+} -Freisetzung
- 2.) Ischämie und Fibrose sowie
- 3.) oxidativer Stress.

Aus der ATP-Erschöpfung sowie der eingeschränkten Ca^{2+} -Freisetzung in den Kardiomyozyten resultiert eine verminderte Kontraktilität des Herzmuskels, welche wiederum eine Tachykardie-bedingte Ischämie begünstigt. Durch die verringerte Perfusion kommt es zu einer Aktivierung des Sympathikus und zur Aktivierung myokardialer Beta-1-Rezeptoren sowie des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) mit anschließender Sekretion der neurohumoralen Enzyme „Atrial Natriuretic Peptid“ (ANP) sowie „Brain Natriuretic Peptide“ (BNP). Die dritte Säule, der oxidative Stress, bedingt innerhalb der Zelle eine verminderte Aktivität der Adenylatcyclase und

begünstigt somit Veränderungen im Ca^{2+} -Haushalt der Kardiomyozyten, welche die Kontraktilität des Herzmuskels beeinflussen (1).

Die Veränderungen machen sich auf makroskopischer Ebene durch verminderte Kontraktilität, Dilatation mit möglicher konsekutiver Mitralklappeninsuffizienz und diastolischer Dysfunktion bemerkbar. Erschwerend kommt hinzu, dass sich die eben genannten makroskopischen Veränderungen und die Ischämie auf molekularer Ebene gegenseitig bedingen und verstärken, wodurch ein Teufelskreis entsteht, der sich lediglich durch Terminierung des Triggers, nämlich der Arrhythmie, aufheben lässt. Eine Erholung der LVEF lässt sich bei TCM typischerweise innerhalb eines Zeitraums von wenigen Wochen bis Monate beobachten (1, 19).

Müller et al. verglichen im Jahre 2017 189 PatientInnen mit TCM, inflammatorischer Kardiomyopathie (ICM) oder dilatativer Kardiomyopathie (DCM) in einer retrospektiven Analyse (3). In der Publikation konnte gezeigt werden, dass PatientInnen mit TCM eine CD68^{+} -Makrophagen-dominierte Inflammation, eine milde Fibrose sowie eine mit der Gruppe dilatativer Kardiomyopathien vergleichbare Zellmorphologie (Zelldurchmesser) der Kardiomyozyten aufwiesen. Die im Jahre 1990 von Spinale et al. beschriebene beeinträchtigte Mitochondrien-Funktion (36) wurde von Mueller et al. (2017) ebenfalls untersucht. Durch Immunfluoreszenz-Färbung konnte eine erhöhte Dichte von Mitochondrien in Nähe der Glanzstreifen des Herzmuskels von TCM-PatientInnen beobachtet werden (bezeichnet als „Enrichment of mitochondria in close proximity to intercalated discs“ (EMID)-sign) (3, 41). Dieses EMID-Zeichen fand sich im Vergleich zu ICM- und DCM-PatientInnen deutlich häufiger bei TCM-PatientInnen (3), so dass dieses histopathologische Kennzeichen im folgenden Kapitel 2.3.1 ausführlicher beschrieben wird. Außerdem wird im Kap. 2.3.2 auf ein weiteres typisches histopathologisches Merkmal, die myokardiale Fibrose, eingegangen.

2.3.1 EMID-Zeichen

Das EMID-Zeichen gilt als histopathologisches Kennzeichen der TCM (41). Es beschreibt die strukturelle Umverteilung der physiologisch entlang der Myofibrillen angesiedelten Mitochondrien im Herzmuskel hin zu den Glanzstreifen der Herzmuskelzelle. Immunhistologisch lässt sich diese Umverteilung durch Färbung des „Heatshock Proteins 60“ (HSP-60) als Marker für Mitochondrien darstellen. HSP-60 gehört zur Klasse der 60-kDa-Hitzeschockproteine und findet sich bei Eukaryoten überwiegend in Mitochondrien, zu sehr kleinen Anteilen im Cytosol sowie auf der Zelloberfläche (42). Die folgende Abbildung zeigt eine entsprechende immunhistochemische Färbung einer Herzmuskelzelle aus einer Biopsie eines in diese Arbeit eingeschlossenen Patienten. Das EMID-Zeichen wurde in der vorgelegten Dissertation erstmalig bezüglich seiner prospektiven Bedeutung für die Vorhersage des Therapieoutcomes evaluiert.

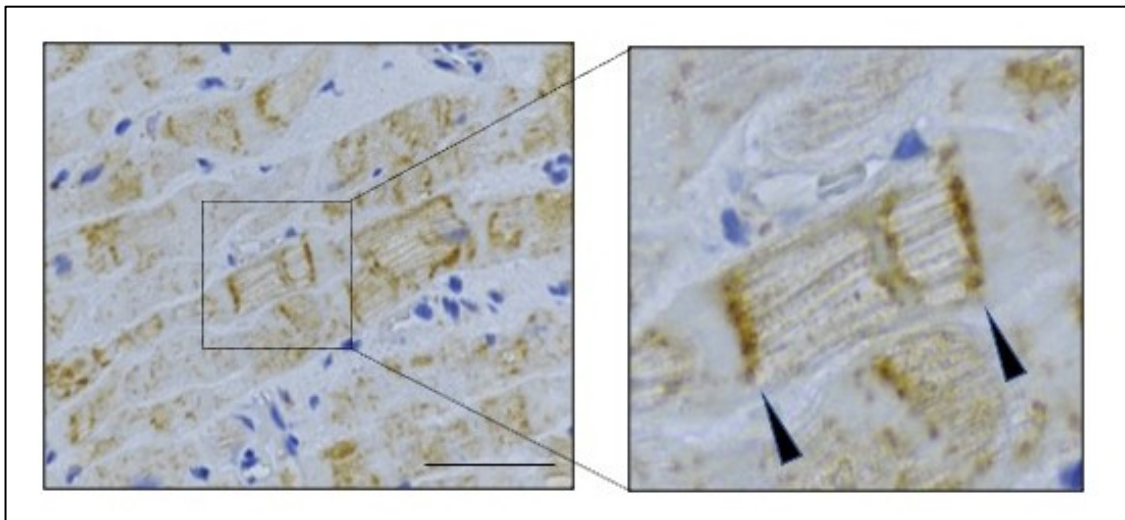


Abbildung 2: EMID-Zeichen bei TCM. Immunhistochemische Färbung von „Heatshock Proteins 60“ (HSP-60, braun) einer endomyokardialen Biopsie eines Patienten (männlich, 50 Jahre) mit TCM bei ventrikulärer Tachykardie und 15% linksventrikulärer Ejektionsfraktion, 40-fache Vergrößerung (li) und Ausschnitt 60-fache Vergrößerung, Maßstabsbalken zeigt 50 µm. EMID = „Enrichment of mitochondria in close proximity to intercalated discs“. (Teil des Manuskripts „Changes in myocardial metabolism and inflammation modify prognosis in patients with Tachycardiomyopathy – Results from the EMPATHY study“ aktuell eingereicht in JACC).

2.3.2 Myokardiale Fibrose

Eine myokardiale interstitielle Fibrose (MIF) ist durch vermehrte Einlagerung von kollagenhaltigem Bindegewebe (besonders Kollagen I und III) im Verhältnis zur myokardialen Gewebsmasse im Interstitium definiert (43). Bei MIF und seinen beiden Subtypen (44) („replacement fibrosis“ und „reactive fibrosis“) handelt es sich um Vernarbungsprozesse, bei welchen sich kardiale Fibroblasten in Myofibroblasten differenzieren und die extrazelluläre Homöostase zugunsten eines profibrotischen Milieus ändern, wodurch vermehrt Kollagen eingelagert wird (45). Diese Prozesse führen im Verlauf zu linksventrikulärer diastolischer wie auch systolischer Dysfunktion. Eine deutliche ventrikuläre Fibrose gehört zu den typischen Befunden bei ischämischen Kardiomyopathien im Sinne einer „replacement fibrosis“ und wird auch bei nicht-ischämischen Formen, beispielsweise der DCM und inflammatorischen Kardiomyopathie beobachtet (46). Ungefähr zwei Drittel der von Mueller et al. untersuchten TCM-PatientInnen zeigten milde, das restliche Drittel moderate bis starke Fibrose. Im Vergleich mit ICM (20,9%) und DCM (13,9%) überwog der Anteil von Myokardbiopsien mit milder Fibrose deutlich bei TCM-PatientInnen (63,2%). Moderate bis starke Fibrose konnte überwiegend bei ICM- und DCM-PatientInnen nachgewiesen werden und wurde in TCM-PatientInnen bei 31,6% (moderate Fibrose) und 5,3% (starke Fibrose) beschrieben (3).

Des Weiteren fördert atriale Fibrose die Entstehung von Vorhofflimmern und Vorhofflattern sowie ventrikuläre Fibrose arrhythmogene Aktivität im Ventrikel (47), da es durch die Narbenbildung zur Leitungsverzögerung zwischen den Kardiomyozyten kommt, welche insbesondere die Reizleitung beeinträchtigen (47). Somit stellt myokardiale Fibrose einen pathophysiologisch wichtigen Mechanismus für die Entstehung der TCM dar.

2.4 Biomarker

Bis zur Erstellung dieser Arbeit konnten keine Publikationen identifiziert werden, die Biomarker im Plasma von PatientInnen mit TCM systematisch untersucht haben. Im Rahmen der vorgelegten Dissertation wurden die in Tabelle 1 aufgelisteten Biomarker im Plasma der PatientInnen bei Einschluss und während der Nachbeobachtung untersucht.

Tabelle 1: Im Plasma der PatientInnen gemessene Biomarker (Biolegend LegendPlex Immunopanel klinische Chemie)

Abkürzung	Biomarker
Mb	Myoglobin
MRP-8/14	Myeloid-related protein-8/14 (calprotectin)
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
CRP	C-reactive protein
MMP-2	Matrix-metallo-proteinase-2
OPN	Osteopontin
MPO	Myeloperoxidase
SAA	Serum-Amyloid-A
IGFBP-4	Insulin like Growth factor binding protein-4
ICAM-1	Intercellular adhesion molecule-1/CD54
VCAM-1	Vascular adhesion molecule-1/CD106
MMP-9	Matrix-metallo-proteinase-9
Cystatin-C	Cystatin-C

Die pathophysiologisch nach aktuellem Kenntnisstand wichtigsten Biomarker sollen im Folgenden jeweils kurz in Funktion und Bedeutung in den Kapiteln Myoglobin, MRP-8/14 (Calprotectin), NGAL, C-reaktives Protein (CRP), Matrix Metallo-Protease-2 und -9 (MMP-2/MMP-9) sowie Vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1) aufgeführt werden. Alle restlichen Biomarker werden im Kapitel Weitere Biomarker behandelt.

2.4.1 Myoglobin

Myoglobin ist ein der Gruppe der Globine zugehöriges, Sauerstoff-bindendes Hämoprotein, welches sich in quergestreifter, glatter- und Herzmuskulatur findet (48-50). Durch Systole und Diastole bedingte Druckunterschiede in Koronargefäßen beeinflussen die Sauerstoff-Versorgung des Myokards (51). Im Herz dient Myoglobin der kurzzeitigen Sauerstoff-Speicherung während der systolischen Kompression der Gefäße durch die Ventrikel Kontraktion (51). Weiterhin fungiert Myoglobin in Herzmuskelzellen als Sauerstoff-Sensor, indem es die Produktion von Stickstoffoxid (NO, Nitric oxide) in der Zelle variieren kann. Unter hypoxischen Bedingungen stimuliert es die Produktion von NO, um durch eine Vasodilatation die Versorgung der Zelle mit Sauerstoff zu verbessern (51).

Normwerte für Myoglobin im Blut werden zwischen 50-70 ng/ml angegeben. Im Rahmen starker kardialer Belastung oder Minderperfusion (beispielsweise bei einem akuten Myokardinfarkt) kann es zu Apoptose von Kardiomyozyten kommen. Serumwerte können in einem solchen Fall nach 4-6 Stunden auf Werte über 600 ng/ml steigen. Aufgrund fehlender Spezifität für den Herzmuskel wird Myoglobin jedoch nicht als spezifischer kardialer Marker verwendet. Es konnten bis zur Erstellung dieser Dissertationsschrift keine Untersuchungen zu Myoglobin-Konzentrationen im Plasma von TCM-PatientInnen identifiziert werden.

2.4.2 MRP-8/14 (Calprotectin)

Myeloid-related protein-8 und -14 (MRP-8/14, Calprotectin, S100A8/A9) stammen aus der Familie der Ca^{2+} -bindenden S100-Proteine und spielen eine proinflammatorische Rolle bei akuten und chronischen Entzündungserkrankungen. Die zytosolischen Proteine werden von proinflammatorischen myeloischen Zellen sezerniert, ihre Funktionen am Myokard bleiben jedoch noch unvollständig geklärt (52). Es konnten bis zur Erstellung dieser Dissertationsschrift keine Untersuchungen zu MRP-8/14-Konzentrationen im Plasma von TCM-PatientInnen identifiziert werden.

2.4.3 NGAL

Neutrophil gelatinase-associated lipocalin ist ein 25kDa Protein aus der Familie der Lipocaline (53). Es spielt eine immunmodulatorische Rolle für das angeborene Immunsystem, indem es Siderophore bindet und somit die Eisenspeicher von Bakterien verringert (54). Des Weiteren verhindert NGAL durch Komplexbindung den Abbau der Matrix Metallo-Protease-9 (siehe Matrix Metallo-Protease-2 und -9 (MMP-2/MMP-9)) und ist somit indirekt an fibrotischen sowie proteolytischen Umbauprozessen der extrazellulären Matrix im kardiovaskulären System beteiligt (55). Diese Inflammations- und Umbauprozesse sind auch bei Kardiomyopathien pathophysiologisch hinsichtlich der Progression einer Herzinsuffizienz wichtig. Yndestad et al. konnten signifikant erhöhte NGAL-Plasmawerte in PatientInnen mit Herzinsuffizienz im NYHA Stadium III zeigen, im Vergleich zu PatientInnen mit NYHA Stadium I oder II (56). Außerdem gingen hohe NGAL-Plasmawerte mit einer erhöhten Inzidenz von Myokardinfarkten, Schlaganfällen und erhöhter Gesamtmortalität einher (56). In einem TCM-Kollektiv konnten bis zur Erstellung dieser Dissertationsschrift keine Untersuchungen zu NGAL-Plasma- oder Serumwerten gefunden werden.

2.4.4 C-reaktives Protein (CRP)

Das C-reaktive Protein ist ein von der Leber sezerniertes akute-Phase-Protein aus der Familie der Pentraxine (57), dessen Funktion in der kalziumabhängigen Bindung von Mikroorganismen sowie körpereigenen, geschädigten Strukturen liegt. Ähnlich dem Immunglobulin-G aktiviert CRP das Komplementsystem und bindet an Fc-Rezeptoren. Diese Bindung regt die Bildung proinflammatorischer Zytokine an und verstärkt die Immunreaktion (57). Somit sind erhöhte CRP-Werte hinweisend auf akute oder chronische Entzündungsreaktionen sowie Gewebenekrosen.

Normwerte werden unabhängig von Geschlecht und Alter mit $< 5 \text{ mg/dl}$ im Blut angegeben. Im von Mueller et al. retrospektiv analysierten Kollektiv zeigte sich bei TCM-PatientInnen ($n=19$) ein Plasma-Konzentration von im Mittel $0,97 \text{ mg/dl}$ ($\text{SEM} \pm 1,2$). Es konnten bis zur Erstellung dieser Dissertationsschrift keine prospektiven Untersuchungen zu CRP-Konzentrationen im Plasma von TCM-PatientInnen identifiziert werden.

2.4.5 Matrix Metallo-Protease-2 und -9 (MMP-2/MMP-9)

Matrix Metallo-Protease-2 (MMP-2) ist eine 72 kDa- und Matrix Metallo-Protease-9 (MMP-9) eine 92 kDa große Typ IV-Kollagenase aus der Familie der Matrix Metallo-Proteasen. Beide Enzyme sind physiologischerweise am basalen Umbau der extrazellulären Matrix (ECM) beteiligt und beeinflussen somit das Umfeld von Herzmuskelzellen und deren Funktion sowie die Integrität des Herzmuskels. Es wird vermutet, dass MMP-2 eine Rolle bei der Entwicklung und dem Voranschreiten von Kardiomyopathien spielt. George et al. konnten in einer klinischen Studie zeigen, dass MMP-2 Blutwerte ebenso wie der etablierte Herzinsuffizienzmarker NT-proBNP bei PatientInnen mit Herzinsuffizienz positiv mit dem Schweregrad der NYHA-Klassifikation korrelierten. Weiterhin konnte beobachtet werden, dass PatientInnen mit einem MMP-2 Blutwert > 352 ng/ml eine 4,2-fach höhere Mortalität in einem 24-monatigen Beobachtungszeitraum aufwiesen (58). Die erhöhte Mortalität konnte durch Ho et al. bestätigt werden. Auch hier war die MMP-2 Serumkonzentration positiv mit erhöhter Mortalität korreliert (59). Die RESOLVD Studie beschrieb in einer Kohorte von 184 PatientInnen zusätzlich den Anstieg von MMP-2 Plasma-Konzentrationen bei Verschlechterung einer Kardiomyopathie, gemessen an u.a. der LVEF als hauptsächliche prognostischem Merkmal der PatientInnen (60). Bei PatientInnen mit TCM wurden MMP-2 Plasmawerte jedoch noch nicht untersucht.

Ebenso wie für MMP-2 konnten George et al. in der oben erwähnten Arbeit erhöhte Serumwerte bei Herzinsuffizienz-PatientInnen für MMP-9 zeigen. Eine Korrelation mit der NYHA-Klassifikation konnte für MMP-9 nicht gezeigt werden. Jedoch korrelieren hohe MMP-9 Plasmawerte mit reduzierter LVEF bei PatientInnen mit Kardiomyopathie (60).

MMP-2 und -9 gehören zu den am häufigsten untersuchten Proteasen bei PatientInnen mit Kardiomyopathie und werden üblicherweise in Serum und/oder Plasma sowie Herzmuskelbiopsien bestimmt.

Es konnten bis zur Erstellung dieser Dissertationsschrift keine prospektiven Untersuchungen zu MMP-2 und -9 Plasmawerten von TCM-PatientInnen identifiziert werden.

2.4.6 Vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1)

Das Vascular adhesion molecule-1 (VCAM-1) gehört zur Familie der Immunglobuline und ist an der Adhäsion sowie Transmigration von Leukozyten während Entzündungsreaktionen beteiligt. VCAM-1 und seine lösliche Form wurden schon als Biomarker für chronische Herzinsuffizienz sowie Arrhythmie vorgeschlagen (61), jedoch noch nicht in TCM-PatientInnen untersucht. Weiterhin konnte von Willeit et al. (2017) eine signifikante positive Assoziation von VCAM-1 mit neu aufgetretenem Vorhofflimmern gezeigt werden (62).

2.4.7 Weitere Biomarker

Osteopontin (OPN) ist ein Glykoprotein, welches bisher für seine Rolle an der Bildung von Knochensubstanz durch die Bindung von Hydroxylapatit sowie immunologische Prozesse wie die Lebenszeitverlängerung von T-Lymphozyten bekannt ist. Im Herzen ist OPN geringgradig vorhanden, steigt jedoch unter biomechanischem Stress innerhalb der Zellen an (63). Als Bestandteil der extrazellulären Matrix konnte eine positive Korrelation von Osteopontin mit dem Voranschreiten von Umbauprozessen, Fibrose und Kardiomyopathie gezeigt werden (64).

Die **Myeloperoxidase (MPO)** ist ein überwiegend in Monozyten und neutrophilen Granulozyten exprimiertes Enzym aus der Gruppe der Hämperoxidasen. Erhöhte MPO-Serumwerte sind mit Entzündung und oxidativem Stress assoziiert. Des Weiteren weisen viele Studien darauf hin, dass eine Verbindung zwischen erhöhten MPO-Serumwerten und kardiovaskulären Erkrankungen, unter anderen Herzinsuffizienz und Herzrhythmusstörungen, besteht (65).

Serum Amyloid-A (SAA) sind aus 104 Aminosäuren bestehende Serum-Proteine, welche hauptsächlich in der Leber gebildet werden. Durch Zusammenlagerung können sie sich zu unlöslichen Fibrillen zusammenschließen und somit Amyloidosen verursachen (SAA als Ursache für kardiale Amyloidose neben beispielsweise Transthyretin). Außerdem ist SAA am Umbau der extrazellulären Matrix über die Interaktion mit Matrix Metallo-Proteasen beteiligt (66).

Insulin like growth factor (IGF) binding protein-4 (IGFBP-4) ist ein Akteur des IGF-Systems und übt durch Bindung an IG-Faktoren sowohl inhibitorische als auch stimulierende Wirkungen auf das durch IGF induzierte Wachstum von Zellen aus (67).

Während IGFBP-4 im Gewebe die Aktivität des IGF Systems zu hemmen scheint, verlängert es im Blutkreislauf die Halbwertszeit der zirkulierenden IGFs (68).

Intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) ist ein 90 kDa Molekül aus der Familie der Immunglobuline. Es spielt eine Rolle bei der Transmigration von Leukozyten aus dem vaskulären System in das Gewebe und ist konstitutiv auf Endothelzellen exprimiert. Die Expression von ICAM-1 wird durch Zytokine begünstigt und ist in artherosklerotisch veränderten Gefäßen erhöht (69).

Cystatin-C ist ein Protease-Inhibitor und in der Nierenfunktionsdiagnostik verwendetes, körpereigenes Eiweiß, dessen Serum-Konzentration unabhängig vom Alter, Geschlecht oder Muskelmasse des Menschen ist (70), weshalb es sich gut für die Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) eignet. Normalerweise sind im Serum zwischen 0,53 und 0,95 mg/l Cystatin-C enthalten.

2.5 Fragestellungen

Die Fragestellungen der hier vorgelegten Dissertationsschrift leiten sich aus der Analyse der Literatur und den Vorbefunden zur Histopathologie der TCM ab.

Im Einzelnen wurden die folgenden Hypothesen aufgestellt und folgende Fragestellungen beantwortet:

- 1) Lässt sich das Auftreten des erstmals von Müller et al. (3) beschriebenen EMID-Zeichens bei PatientInnen mit vermuteter TCM in dieser Stichprobe prospektiv bestätigen und korreliert der Ausprägungsgrad des EMID-Zeichens mit dem regenerativen Potential der LVEF? Die zugehörige Hypothese lautet: Der zunehmende Schweregrad des EMID-Zeichens korreliert negativ mit der Verbesserung der LVEF zwischen Einschluss und follow-up.
- 2) Zeigen die vor Behandlungsbeginn gemessenen Biomarker im Plasma pathologische Veränderungen in der Gesamtgruppe und korrelieren diese mit dem klinischen Schweregrad der TCM? Die zugehörige Hypothese lautet: Die Höhe der vor Behandlungsbeginn gemessenen Biomarker-Konzentrationen im Plasma korreliert mit dem Delta (Δ) der linksventrikulären Ejektionsfraktion der PatientInnen zwischen Einschluss und follow-up.
- 3) Korreliert die Veränderung der Plasma-Biomarker im Verlauf mit dem klinischen Outcome der TCM nach Behandlung bzw. können Biomarker identifiziert werden, mit denen sich das therapeutische Ansprechen voraussagen lässt? Die zugehörige Hypothese lautet: Ein signifikanter Abfall bzw. Anstieg eines gemessenen Biomarkers prädiziert die klinische Prognose der PatientInnen bezüglich des Δ der LVEF zwischen Einschluss und follow-up.

3 Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv

53 PatientInnen mit LVEF <50%, Tachykarder Rhythmusstörung >100/min aufgrund von Vorhofflimmern, Vorhofflattern oder >10000 supraventrikulären Extrasystolen wurden im Rahmen dieser Dissertation und der Behandlung an der Universität Tübingen prospektiv evaluiert. Zu den Ausschlusskriterien gehörten Alter <18 Jahre, eine Koronarstenose >50% sowie relevante Klappenvititen, Ausschluss struktureller Ursachen einer Herzinsuffizienz wie z.B. hochgradige Aortenstenose und Kontraindikationen für sowohl Amiodaron- als Pulmonalvenen-Isolationstherapie.

Die LVEF wurde anhand der modifizierten Simpson's Methode anhand von apikalem 4- und 2-Kammerblick echokardiographisch ermittelt.

Bei 38 PatientInnen wurde zusätzlich eine Endomyokardbiopsie entnommen. Die Therapie wurde gemäß der Europäischen Leitlinien der Gesellschaft für Kardiologie durchgeführt. Alle PatientInnen gaben ihr schriftliches Einverständnis für die Studienteilnahme. Die Studie wurde durch die Ethik Kommission der Universität Tübingen genehmigt (#602/2017B02) und unter der Nummer #NCT03418467 unter clinicaltrials.gov registriert.

3.2 Materialien

3.2.1 Geräte

Tabelle 2: Für die Dissertation verwendete Geräte sowie deren Herstellerangaben

Hersteller	Modell/Artikel	Herkunft
Leica Instruments GmbH	2045 Multicut Mikrotom	D - 6907 Nussloch
MEDAX Nagel GmbH	25900 Paraffinstreckbad	D – 24109 Kiel
IKA-Werke GmbH & Co. KG	RH Magnetrührer	D - 79219 Staufen
	MS 3 basic, Vortex Schüttler	
Heidolph Instruments GmbH & Co. KG	Plattformschüttler, wippend	D - 93309 Kelheim

3.2.2 Programme/Softwares

Tabelle 3: Für die Dissertation verwendete Softwares und deren Herstellerangaben

Hersteller	Modell/Artikel	Herkunft
Microsoft	Excel Powerpoint Word	Microsoft Corporation One Microsoft Way Redmond, WA 98052-6399, USA

Adobe	Adobe reader ImageJ	Adobe Systems 345 Park Avenue San Jose, CA 95110- 2704, USA
Nikon	Nikon ECLIPSE Ni-U	Nikon Europe B.V. Stroombaan 14 1181 VX Amstelveen Niederlande
BioLEGEND	LegendPlex Software	Biolegend 8999 Biolegend Way San Diego, CA 92121, USA
GraphPad	GraphPad Prism 8.0	GraphPad Software 2365 Northside Dr. Suite 560 San Diego, CA 92108, USA
International Business Machines (IBM)	SPSS Statistics Version 27	IBM 1 New Orchard Road Armonk, New York 10504-1722, USA

3.2.3 Chemikalien/Lösungen

Tabelle 4: Für die Dissertation verwendete Chemikalien/Lösungen und deren Herstellerangaben

Hersteller	Artikel	LOT-Nr.	REF-Nr./Art. Nr.	Herkunft
Life Technologies Limited	Phosphate-buffered Saline (PBS) tablets	2165326	18912-014	Paisley, Renfrewshire, PA4 9RF, UK

Merck KGaA/EMD Millipore Corporation	Tween 20 for synthesis	S7814784 945	8.22184.0500	D – 64271 Darmstadt/EMD, Deutschland
Carl Roth GmbH + Co. KG	Roti-Histol für die Histologie		6640.5	D – 76185 Karlsruhe, Deutschland/
Carl Roth GmbH + Co. KG	Roti-Histol Eukitt			Billerica MA 01821, USA
Carl Roth GmbH + Co. KG	Wasserstoffperoxid 30%		CP26.5	D – 76185 Karlsruhe, Deutschland

Citrat-Puffer (Komponenten für 1L Pufferlösung)

- 82ml tri-Natriumcitrat-Dihydrat 0,1M [$C_6H_5Na_3O_7$] 2,94g in 100ml AquaDest und
- 18ml Citronensäure 0,1M 1,92g in 100ml AquaDest lösen
- 900ml AquaDest

3% H₂O₂

- 20 ml Wasserstoffperoxid (H₂O₂ 30%)
- 180 ml Ethanol (100%)
- 0,2g Natriumazid/ 200ml H₂O₂

Phosphate-Buffered Saline (PBS) und 0,05 TWEEN PBS

- 2 PBS-Tabletten auf 1l Aqua Dest. (=PBS)
- + 500 µl Tween 20 (Einmal-Pipetten) (=PBST)

3.2.4 Antikörper und Kontrollen sowie Färbelösungen

Tabelle 5: Für die Dissertation verwendete Antikörper, IgG-Kontrollen und Färbelösungen

Hersteller	Artikel	LOT-Nr.	REF-Nr.	Herkunft
ZYTOMED Systems GmbH	Antibody Diluent	X828	ZUC025-100	Anhaltinerstr.16, 14163 Berlin
Research & Development (R&D) Systems	Cell and tissue staining kit Anti-Rabbit HRP-DAB system	1589169	Catalog No. CTS005	614 McKinley Pl. NE MPLS, MN 55413 USA
	Normal Rabbit IgG Control		AB-105-C	
Abcam	Rabbit anti- HSP-60 Antibody		AB 46798	Cambridge Biomedical Campus Cambridge CB20AX UK
Thermo Fisher Scientific	Rabbit IgG - Control	9107R1909A	RM-9107-R7	4481 Campus Drive Kalamazoo, MI 49008, USA
Polysciences	Sirius red, C.I. 35780		09400-10	Polysciences Europe GmbH, Badener Straße 13, D - 69493 Hirschberg

Merck KGaA, Sigma-Aldrich	Mayer's Hämalaun- Lösung	HX03021349	1.09249.0500	D – 64271 Darmstadt
------------------------------	--------------------------------	------------	--------------	------------------------

3.2.5 LegendPlex Immunoassay zur Bestimmung der Biomarker im Plasma

Tabelle 6: Für die Dissertation verwendeter Immunoassay der Biomarker-Bestimmung

Hersteller	Produktname	Katalog Nummer	Lot Nummer	Herkunft
BioLegend	LEGENDPlex™ Human Vascular Inflammation Panel 1 Standard Lyophilized	740590	B275058	8999 BioLegend Way San Diego, CA 92121, USA

3.3 Methoden

3.3.1 Protokoll zur Anfertigung von Gewebeschnitten auf Objektträger

Benötigtes Material:

- Mikrotom sowie Klingen
- Pinsel
- Kanüle
- Warmes und kaltes Wasserbad
- Objektträger
- Färbungsresistenter Stift zur Beschriftung

Die in Paraffinblöcken eingebetteten Endomyokardbiopsien wurden im Rahmen einer Routine Herzkatheteruntersuchung entnommen und nach der Befundung in der Abteilung für Kardiopathologie der Universität Tübingen wurde Restmaterial zur weiteren Untersuchung an das Forschungslabor der Abt. für Kardiologie und Angiologie des Universitätsklinikums Tübingen weitergeleitet.

Durchführung:

Für die Anfertigung der Gewebeschnitte wurde die in Paraffin eingebettete Endomyokardbiopsie als Block in die Mikrotomklemme sowie eine Mikrotomklinge in die Halterung eingespannt. Für die senkrechte und waagerechte Ausrichtung des Paraffinblocks an der Mikrotomklinge wurde dieser möglichst nah an die Klinge herangefahren und mittels der am Gerät vorhandenen Stellschrauben ausgerichtet.

Im Anschluss wurden die angefertigten 5 µm dicken Gewebeschnitte mittels Pinsel aufgefangen und in ein kaltes Wasserbad überführt. Dort wurden die Gewebeschnitte einzeln auf Objektträger überführt. Die unregelmäßig auf dem Objektträger zum Liegen gekommenen Schnitte wurden in einem warmen Wasserbad gestreckt und anschließend senkrecht bei Raumtemperatur zum Trocknen gelagert.

3.3.2 Hämatoxylin-Eosin-Färbungen

Entparaffinierung:

Schnitte in Metallhalterungen stellen und in folgende Lösungen überbringen:

- 2 x 10 Min Roti-Histol
- 1 x 5 Min. 100% Ethanol
- 1 x 5 Min 95% Ethanol
- 1 x 5 Min. 90% Ethanol
- 1 x 5 Min 80% Ethanol
- 1 x 5 Min 70% Ethanol
- 1 x 5 Min Aqua dest.

Färbung:

- 1 x 5 Min Hämalalaun nach Mayer
- 1 x kurz unter Leitungswasser spülen
- 1 x 15 Min unter fließendem Leitungswasser bläuen
- 1 x 3 Min 1% Eosin (mit 1 Tropfen Eisessig ansetzen)

Entwässerung:

- 1 x 5 Sekunden 70% Ethanol
- 1 x 5 Sekunden 80% Ethanol
- 1 x 5 Sekunden 90% Ethanol
- 1 x 5 Sekunden 100% Ethanol
- 1 x 3 Min Roti-Histol

Eindeckung (Arbeiten unter Abzug):

- Eindeckungsmedium Roti-Histol (Eukitt) längs auf Präparat auftragen
- Deckglas seitlich ansetzen und langsam absenken (blasenfrei!)
- Raumtrocknung unter Abzug bei Raumtemperatur über Nacht.

3.3.3 Fibrose-Färbung mit Sirius-red

Entparaffinierung:

Schnitte in Metallhalterungen stellen und in folgende Lösungen überbringen:

- 2 x 10 Min Roti-Histol
- 1 x 5 Min. 100% Ethanol
- 1 x 5 Min 95% Ethanol
- 1 x 5 Min. 90% Ethanol
- 1 x 5 Min 80% Ethanol
- 1 x 5 Min 70% Ethanol
- 1x 5 Min Aqua dest.

Färbung:

- 1 h in Picro Sirius-red Lösung inkubieren
- 2x kurz in 0,5% Essigsäure waschen (1 ml 100%iger Essigsäure auf 199 ml destilliertes Aqua)
- 1x kurz in 100% Ethanol waschen

Entwässerung:

- 2 x 5 Min 100% Ethanol
- 1 x 5 Min Roti-Histol

Eindeckung (Arbeiten unter Abzug):

- Eindeckungsmedium Roti-Histol (Eukitt) längs auf Präparat auftragen.
- Deckglas seitlich ansetzen und langsam absenken.
- Raumtrocknung unter Abzug bei Raumtemperatur über Nacht.

3.3.4 Immunhistochemie (IHC)

Anti-HSP-60 immunhistochemische Färbungen wurden mit Färbekits der Firma Research & Development (siehe Materialien) durchgeführt.

Für die Antikörper wurden hierbei folgende Verdünnungen verwendet:

Anti-HSP-60 Antikörper 1:150

IgG-Kontrolle 1:100

Die in Paraffin eingebetteten Gewebeschnitte wurden wie folgt in Bechergläsern in absteigende Reihenfolge entparaffiniert:

10 min Roti-Histol

10 min Roti-Histol

5 min 100% Ethanol

5 min 100% Ethanol

5 min 90% Ethanol

5 min 80% Ethanol

5 min 70% Ethanol

5 min Destilliertes Aqua

Hemmung der endogenen Peroxidase:

Nach der absteigenden Alkoholreihe erfolgte ein 20-minütiger Block der endogenen Peroxidase in 180 ml destilliertem Aqua mit 0,2 g Natrium-Azid sowie 20 ml 30%igem Wasserstoffperoxid (H_2O_2).

Antigendemaskierung:

Im Anschluss an den Peroxidase-Block erfolgte das sogenannte „Antigen-retrieval“ in kochendem Citratpuffer (siehe oben) für 12 min im Schnellkochtopf. Danach wurden die Gewebeschnitte 5 min in destilliertem Aqua gekühlt.

Auftragung von Fettstift:

Aus dem Wasserbad kommend wurden die Schnitte mit Filterpapier von Flüssigkeit befreit und mit einem Fettstift umrundet. Anschließend wurden sie wieder in destilliertes Wasser überführt.

Aufreinigung in PBS-Tween:

Vom destillierten Wasser wurden die Schnitte in PBS-Tween überführt und für 3 x 5 min auf dem Schüttler gewaschen.

Serum-Block:

50 µl „Serum-blocking-reagent“ wurden auf die gewaschenen Präparate aufgetragen und für 15 min in einer feuchten Dunkelkammer auf dem Schüttler blockiert. Anschließend wurde das Reagenz vom Objektträger abgeklopft und ohne Waschvorgang dem nächsten Schritt überführt.

Avidin-Block:

50 µl (2-3 Tropfen) „Avidin-blocking-reagent“ wurden auf die ungewaschenen Präparate aufgetragen und für 15 min in einer feuchten Dunkelkammer auf dem Schüttler blockiert. Anschließend wurde das Reagenz abgeklopft und für 5 Min in PBS-Tween gewaschen.

Biotin-Block:

50 µl (2-3 Tropfen) „Biotin-blocking-reagent“ wurden auf die gewaschenen Präparate aufgetragen und für 15 min in einer feuchten Dunkelkammer auf dem Schüttler blockiert. Anschließend wurde das Reagenz abgeklopft und für 5 Min in PBS-Tween gewaschen.

Primärantikörper:

Für die Inkubation des Primärantikörpers wurden die oben im Kapitel genannten Verdünnungen sowohl für den Primärantikörper als auch die Isotyp-Kontrolle verwendet. Auf das in PBS-Tween gewaschene Präparat wurden 50 µl des verdünnten Primärantikörpers oder der Isotyp- Kontrolle pipettiert.

Bei Isotyp-Kontrollen handelt es sich um Negativkontrollen, welche das Ausmaß an unspezifischer Antikörperbindung und Hintergrundsignal aufzeigen. Optimalerweise sollte die Isotyp-Kontrolle der Art (Rabbit, mouse etc.), der schweren Kette (IgG, IgM, IgE, IgA oder IgD), der Unterklasse und der leichten Kette (Kappa, Lambda) entsprechen, um ein valides Bild des Hintergrundsignals aufzuzeigen. Häufig bedingt sich das unspezifische Signal des Primärantikörpers durch folgende Interaktionen:

- Unspezifische Fc-Rezeptorbindung an zelluläre Strukturen
- Interaktion des Antikörpers mit zellulären Proteinen
- Autofluoreszenz von Zellen

Der Primärantikörper inkubierte in einer befeuchteten Dunkelkammer (nasse Zellstofftücher aufrollen und dazulegen) entweder für eine Stunde bei Raumtemperatur oder bei +4° C über Nacht.

Aufreinigung mit PBS-Tween:

Nach Inkubation des Primärantikörpers wurde das Präparat erneut für drei mal fünf Min in PBS-Tween auf dem Schüttler gewaschen.

Biotinylierter Sekundärantikörper:

50 µl des Sekundärantikörpers pro Präparat inkubierten über 45 min bei Raumtemperatur auf dem Schüttler in der befeuchteten Dunkelkammer. Im Anschluss wurde der biotinylierte Sekundärantikörper lediglich von den Präparaten abgeklopft und nicht in PBS-Tween gewaschen.

3.3.5 Bestimmung von Biomarkern im Plasma

Für die Bestimmung der in der Einleitung genannten Biomarker im Plasma der PatientInnen wurde der im Kapitel LegendPlex Immunoassay zur Bestimmung der Biomarker im Plasma gelistete Assay verwendet.

Im Folgenden soll das Prinzip des Assays kurz erläutert werden:

Beim LEGENDPlex™ Elisa handelt es sich um einen bead-basierten Immunoassay. Hierbei unterscheidet man zwischen zwei verschiedenen Bead-Populationen, welche sich in ihrer Größe und Fluoreszenz-Intensität unterscheiden. Für jeden gemessenen Analyt existiert im Panel ein sogenannter „capture-bead“, ein auf der Oberfläche mit Antikörpern konjugierter bead. Bei Mischung von beispielsweise Plasma mit diesen capture-beads, binden diese an den für sie spezifischen Analyt im Plasma. Nach Mischung wird die Lösung gewaschen und verschiedene biotinylierte Antikörper werden hinzugegeben, welche wiederum an die beads spezifisch binden, wodurch eine Bindung zwischen capture-bead, dem zu messenden Analyt und dem biotinylierten Antikörper zustande kommt. Im Anschluss wird Streptavidin-phycoerythrin hinzugegeben, welches an den biotinylierten Antikörper bindet und Fluoreszenz-Signale abgibt, welche letztlich intensiver sind, je mehr Bindung stattgefunden hat. Das Fluoreszenz-Signal kann dann über eine Durchflusszytometrie bestimmt sowie zwei verschiedene bead-Populationen unterschieden werden. Die Konzentration eines Analyten wird schließlich anhand einer standardisierten Konzentrationskurve aus dem Assay bestimmt. Für die Auswertung der gewonnenen Daten aus der Durchflusszytometrie wurde die von BioLEGEND zur Verfügung gestellte Software verwendet.

Die Werte des C-reaktiven Proteins wurden aufgrund der besseren Validierung durch die Klinische Chemie der Universität Tübingen erhoben.

3.3.6 Statistik

Für die statistische Auswertung wurden die im Kapitel Programme/Softwares gelisteten Statistikprogramm GraphPad Prism Version 8.0 und SPSS-Version 27 verwendet. Für statistische Analysen von Einschluss zu follow-up wurde unter Berücksichtigung der Normalverteilung der analysierten Werte paired oder unpaired students T-test verwendet. Die deskriptive Statistik wird neben dem Mittelwert mit Standardabweichung oder Standard Error of mean angegeben (MW, $\pm$ SD, $\pm$ SEM) und ist in der Beschriftung der Tabellen/Abbildungen ersichtlich. Für Korrelationen des Δ LVEF mit bei Einschluss gemessenen Werten wurde eine lineare Regression gewählt und zusätzlich zu p-Werten der r^2 -Wert angegeben. Als statistisch signifikant wurde ein zweiseitiger p-Wert von $< 0,05$ angenommen und mit einem Stern (*) markiert. $P < 0,01$ wurde mit zwei Sternen (**), $p < 0,001$ mit drei Sternen (***) und $p < 0,0001$ mit vier Sternen (****) angegeben.

4 Ergebnisse

4.1 Beschreibung des Kollektivs

In dieser Dissertationsarbeit wurden Befunde von 53 PatientInnen prospektiv ausgewertet, welche die Diagnosekriterien einer TCM (s. Kap. 1.1) erfüllten. Die Einschlusskriterien waren dabei streng gewählt: Es wurden nur PatientInnen eingeschlossen, bei welchen eine LVEF $< 50\%$ und eine tachykarde Herzrhythmusstörung diagnostiziert sowie andere Ursachen für eine Einschränkung der linksventrikulären Pumpfunktion ausgeschlossen wurden. Bei allen PatientInnen wurde eine Rhythmuskontrolle und medikamentöse Herzinsuffizienztherapie (Details dazu finden sich in Kap. 3.2) sowie eine Echokardiographie und ein Elektrokardiogramm bei Einschluss durchgeführt. Bei 38 PatientInnen stand zusätzlich Material einer Myokardbiopsie zur Analyse zur Verfügung. Im weiteren Verlauf haben sich 47 PatientInnen im Rahmen eines follow-ups einer weiteren Untersuchung inkl. Echokardiographie (n=47) und Elektrokardiogramm (n=46) unterzogen. Blutproben konnten zu Einschluss bei 35 PatientInnen und im Verlauf bei 18 PatientInnen gewonnen werden. Nicht erfolgte Blutentnahmen sind auf Ablehnung der Entnahme durch die PatientInnen oder nicht Erscheinen beim follow-up Termin zurückzuführen.

Das mittlere Alter des Kollektivs bei Aufnahme betrug 64 Jahre ($SD \pm 10,7$), der mittlere BMI $28,7 \text{ kg/m}^2$ ($SD \pm 4,9$) bei einem mittleren Körpergewicht von $90,2 \text{ kg}$ ($SD \pm 18,4$). 26% der PatientInnen waren Frauen, 74% Männer. Weitere Angaben zu vorhandenen kardiovaskulären Risikofaktoren und Laborbefunden sind in der folgenden Tabelle 7 zusammengestellt.

Tabelle 7: Charakteristika des Kollektivs bei Einschluss. (n=53)

Demographische Daten	
Alter, MW($\pm$ SD)	68 ($\pm$ 10,6)
Frauen, n (%)	14 (26)
BMI, kg/m ² , MW($\pm$ SD)	28,7 ($\pm$ 4,9)
Körpergewicht, kg, MW($\pm$ SD)	90,2 ($\pm$ 18,4)
Risikofaktoren, n (%)	
Arterieller Bluthochdruck	28 (51)
Diabetes	5 (9)
Dyslipidämie	10 (18)
Raucher	10 (18)
Adipositas	12 (22)
Periphere arterielle Verschlusskrankheit	2 (4)
Chronisches Nierenversagen	3 (5)
CHA ₂ DS ₂ -VASc-Score, MW($\pm$ SD)	2,7 ($\pm$ 1,6)
Laborwerte (MW$\pm$ SD)	
Leukozyten, 1000/ μ l	8,9 ($\pm$ 3,0)
Lymphozyten, 1000/ μ l	1,6 ($\pm$ 0,6)
Kreatinin, mg/dl	1,04 ($\pm$ 0,47)
GFR, ml/m ²	76,3 ($\pm$ 23,6)
C-reaktives Protein, U/l	0,99 ($\pm$ 1,1)
Troponin-I, pg/ml	97 ($\pm$ 239,6)
NT pro-BNP, μ g/l	5,7 ($\pm$ 4,4)
CK, U/l	160 ($\pm$ 198,7)
GOT/AST, U/l	615,8 ($\pm$ 2329,5)
GPT/ALT, U/l	286 ($\pm$ 1313,3)
LDH, U/l	554,2 ($\pm$ 1723,9)

4.2 Rhythmuskontrolle sowie postinterventionelle Medikation

Insgesamt erhielten 38 PatientInnen des Kollektivs eine Ablation ihrer Rhythmusstörung, 24 eine Kardioversion und 17 beide Verfahren zur Rhythmuskontrolle. Bei 13 PatientInnen wurde eine rein medikamentöse Rhythmuskontrolle mittels Amiodaron begonnen und bei neun eine Kombination aus Amiodaron und Ablation angewandt. Details zur Häufigkeit der Methoden sowie zur postinterventionellen Medikation finden sich in der folgenden Tabelle 8.

Tabelle 8: Art der Rhythmus- oder Frequenzkontrolle sowie postinterventionelle Medikation. (n=53, % in Bezug auf Gesamtkollektiv)

Rhythmus-Kontrolle, n (%)	
Ablation	38 (72)
Kardioversion	24 (45)
Ablation + Kardioversion	17 (32)
Amiodaron	13 (25)
Ablation + Amiodaron	9 (17)
Medikation nach Rhythmus- oder Frequenzkontrolle, n (%)	
Vitamin K Antagonisten	4 (7,5)
NOAK	46 (87)
Betablocker	50 (94)
ACE-Inhibitoren	9 (17)
Aldosteron-Antagonisten	39 (72)
Angiotensin-I-Antagonisten	15 (28)
Sacubitril-Valsartan	25 (47)
Diuretika	34 (64)
Statine	21 (40)

4.3 Transthorakale Echokardiographie

Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) aller 53 PatientInnen wurde bei Einschluss durch transthorakale Echokardiographie bestimmt. Bei 47 PatientInnen konnte die LVEF zusätzlich im Verlauf bestimmt werden.

Im Folgenden werden die echokardiographischen Befunde bei Einschluss und follow-up detaillierter beschrieben.

4.3.1 Echokardiographie bei Einschluss

Wie in Tabelle 9 dargestellt, betrug die mittlere linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) des Kollektivs bei Einschluss 32,4% (SD $\pm$ 9.9). Abbildung 3 zeigt, dass es sich um ein schwer erkranktes Kollektiv handelte, da fast die Hälfte der PatientInnen eine hochgradig reduzierte LVEF von $\leq 30\%$ aufwies.

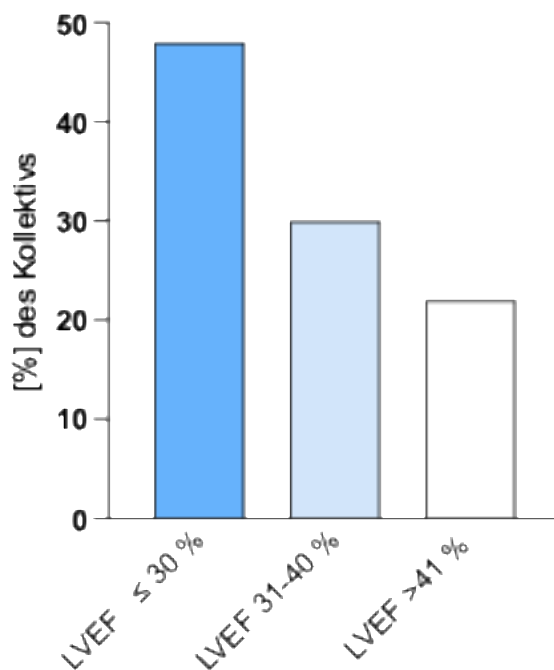


Abbildung 3: Verteilung der LVEF bei Einschluss. LVEF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion, X-Achse zeigt Gruppe LVEF, Y-Achse zeigt % des Kollektivs.

Zusätzlich zur reduzierten LVEF konnten echokardiographisch weitere schwerwiegende Veränderungen bei den PatientInnen festgestellt werden. Wie Tabelle 9 zeigt, bewegte sich der mittlere linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser (LVEDD) an der oberen Grenze des Normbereiches und etwas mehr als die Hälfte der PatientInnen litten an einer oder mehreren mittel- bis hochgradigen Insuffizienzen der Atrioventrikularklappen.

Tabelle 9: Echokardiographische Daten der PatientInnen bei Einschluss. (n=53, % in Bezug auf Gesamtkollektiv)

Echokardiographie	
LVEF in %, MW ($\pm$ SD)	32,4 ($\pm$ 9,9)
LVEDD, mm, MW ($\pm$ SD)	53,1 ($\pm$ 7,3)
Papsys in mmHg, MW($\pm$ SD)	27,5 ($\pm$ 7,8)
Mitralklappeninsuffizienz $\geq$ °II, n (%)	27 (51)
Aortenklappeninsuffizienz $<$ °II, n (%)	18 (34)
Trikuspidalklappeninsuffizienz $\geq$ °II, n (%)	17 (32)

LVEF=Linksventrikuläre Ejektionsfraktion, LVEDD=Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter, Papsys=systolischer pulmonalarterieller Blutdruck

4.3.2 Echokardiographie im follow-up

Abbildung 4 zeigt, dass bei ungefähr 2/3 der PatientInnen nach Therapie eine deutliche Verbesserung der LVEF auf $> 41\%$ erreicht werden konnte.

Wie in Tabelle 10 gezeigt wird, stieg die mittlere LVEF bei follow-up auf 45,5% und somit nahe an den Normbereich. Zusätzlich konnte echokardiographisch ein deutlicher Rückgang der Klappeninsuffizienzen, insbesondere der Mitralklappeninsuffizienzen beobachtet werden.

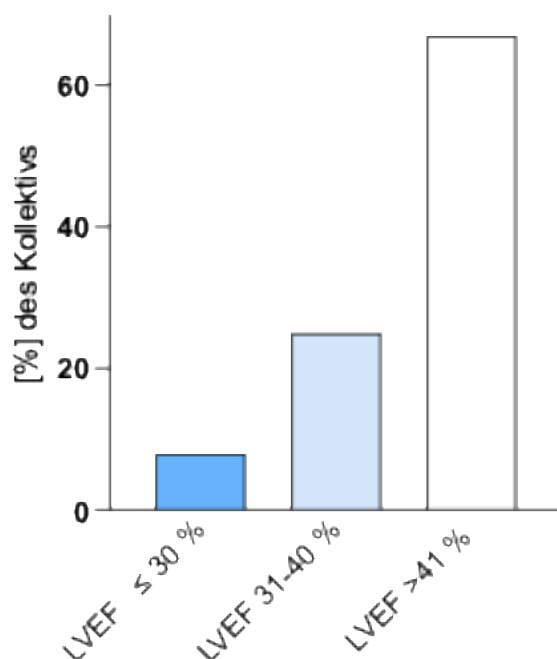


Abbildung 4: Verteilung der LVEF bei follow-up. LVEF = linksventrikuläre Ejektionsfraktion. X-Achse zeigt Gruppe LVEF, Y-Achse zeigt % des Kollektivs.

Tabelle 10: Echokardiographische Daten der PatientInnen im follow-up. (n=47, % in Bezug auf Gesamtkollektiv)

Echokardiographie

LVEF in %, MW (± SD)	45.5 (± 9.2)
LVEDD, mm, MW (± SD)	52.9 (± 7.6)
Papsys in mmHg, MW (± SD)	24.6 (± 8.1)
Mitralklappeninsuffizienz ≥ °II, n (%)	9 (19)
Aortenklappeninsuffizienz < °II, n (%)	16 (33)
Trikuspidalklappeninsuffizienz ≥ °II, n (%)	1 (2)

LVEF=Linksventrikuläre Ejektionsfraktion, LVEDD=Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter, Papsys=systolischer pulmonalerarterieller Blutdruck

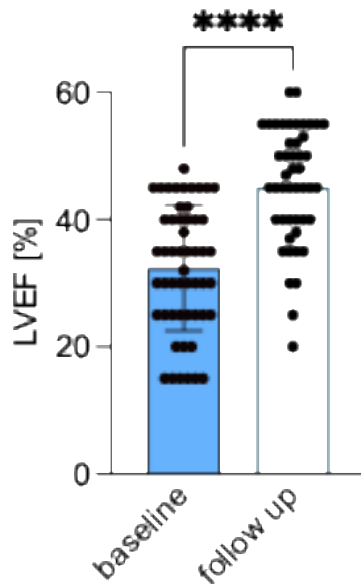


Abbildung 5: Entwicklung der LVEF des Kollektivs von Einschluss zu follow-up. Linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF in %) der PatientInnen bei Einschluss (baseline) und follow-up. Die Einzelwerte pro PatientIn sind als Punkte dargestellt. **** zeigt $p < 0,0001$. Einzelwerte bei Einschluss /follow-up: $n = 53/47$, $MW = 32,4/45,5$, $SD = 9,9/9,2$. (Teil des Manuskripts „Changes in myocardial metabolism and inflammation modify prognosis in patients with Tachycardiomyopathy – Results from the EMPATHY study“ aktuell eingereicht in JACC).

4.4 Elektrokardiographie

Die Herzfrequenz aller PatientInnen wurde bei Einschluss mittels Elektrokardiographie (EKG) bestimmt. Bei 47 PatientInnen stand zusätzlich ein follow-up EKG zur Verfügung. Im Folgenden sollen elektrokardiographische Untersuchungen bei Einschluss und follow-up genauer beschrieben werden.

4.4.1 EKG bei Aufnahme

Die mittlere Herzfrequenz des Kollektivs bei Aufnahme betrug 123/min (SD $\pm$ 28,6), welche mehrheitlich durch tachykardes Vorhofflimmern (69,8% Vorhofflimmern, 20,8% Vorhofflimmern im Wechsel mit -flattern, 5,7% nur Vorhofflattern) bzw. bei 3,7% durch ventrikuläre Tachykardien verursacht wurde. Zum Teil wurden Patienten in der Akutsituation bereits kurz vor Einschluss anbehandelt, weshalb bei einigen Patienten eine Herzfrequenz <100 /min im Aufnahme-EKG registriert wurde.

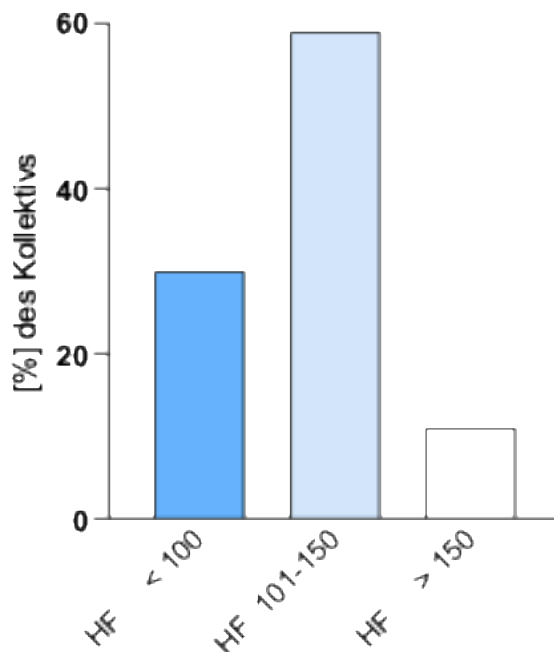


Abbildung 6: Verteilung der Herzfrequenz bei Einschluss. X-Achse zeigt Herzfrequenz (HF)/min, Y-Achse zeigt % des Gesamtkollektivs.

Tabelle 11: Elektrokardiographische Daten der PatientInnen bei Einschluss. (n=53, % in Bezug auf Gesamtkollektiv).

Herzfrequenz, MW ($\pm$ SD)	123 ($\pm$ 28,6)
Vorhofflimmern, n (%)	37 (69,8)
Vorhofflattern, n (%)	3 (5,7)
Vorhofflimmern/-flattern, n (%)	11 (20,8)
Ventrikuläre Tachykardie, n (%)	2 (3,7)
Rechtsschenkelblock, n (%)	1 (1,9)
Linksschenkelblock, n (%)	4 (7,5)
Linksanteriorer Hemiblock, n (%)	2 (3,7)
Early lateral repolarization Muster, n (%)	6 (11,3)
Early inferior repolarization Muster, n (%)	5 (9,4)
Negative T-Welle, n (%)	25 (47,2)
Überdrehter Linkstyp, n (%)	7 (13,2)
Linkstyp, n (%)	11 (20,8)
Indifferenztyp, n (%)	15 (28,3)
Steiltyp, n (%)	13 (24,5)
Überdrehter Rechtstyp, n (%)	1 (1,9)
RR-Divergenz, längstes Intervall, ms, MW ($\pm$ SD)	652 ($\pm$ 184,7)
RR-Divergenz, kürzestes Intervall, ms, MW ($\pm$ SD)	425.4 ($\pm$ 111,7)
RR-Intervall, ms, MW ($\pm$ SD)	523.5 ($\pm$ 122)
QT-Intervall, ms, MW ($\pm$ SD)	325.9 ($\pm$ 48,8)
QRS-Dauer, ms, MW ($\pm$ SD)	93.8 ($\pm$ 17,8)
Sokolow-Lyon-index, MW ($\pm$ SD)	1.96 ($\pm$ 0,58)

4.4.2 EKG im follow-up

Abbildung 7 zeigt deutlich den Rückgang der Herzfrequenzen bei einem Großteil der PatientInnen. Lediglich rund ein Zehntel weist Frequenzen über 100/min im Rahmen eines Rezidivs der zugrundeliegenden Herzrhythmusstörung auf. Tabelle 12 zeigt genauere Charakteristika der bei follow-up gemessenen Elektrokardiogramme.

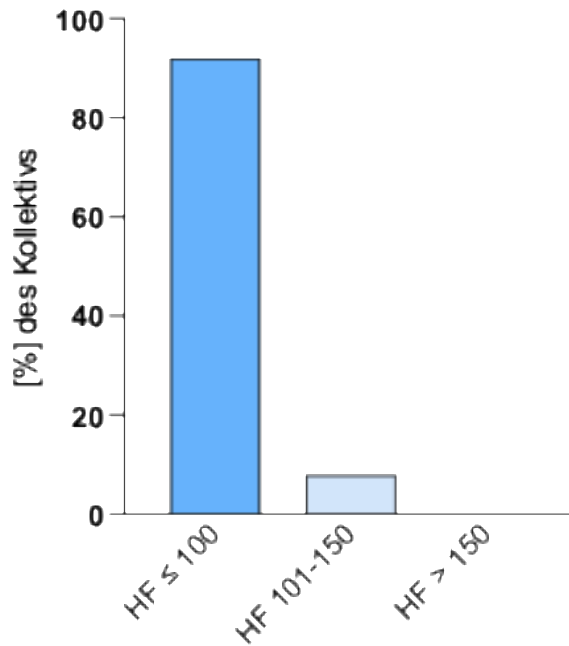


Abbildung 7: Verteilung der Herzfrequenz bei follow-up. X-Achse zeigt Herzfrequenz (HF)/min, Y-Achse zeigt % des Gesamtkollektivs.

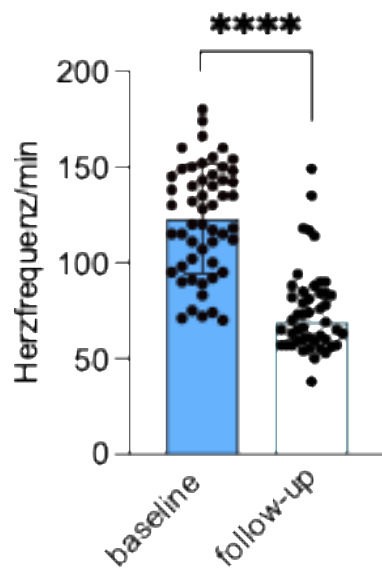


Abbildung 8: Entwicklung der Herzfrequenz von Einschluss zu follow-up. Die Einzelwerte sind als Punkte dargestellt. **** zeigt $p < 0,0001$. Einzelwerte bei baseline/follow-up: $n = 53/47$, Min = 70/38, Max = 180/149, MW = 123/74, SD = 28,6/22,5. (Teil des Manuskripts „Changes in myocardial metabolism and inflammation modify prognosis in patients with Tachycardiomyopathy – Results from the EMPATHY study“ aktuell eingereicht in JACC).

4.5 Histologische Befunde

4.5.1 EMID-Zeichen

In 38 Biopsien wurden der Mitochondrienmarker HSP-60 mittels anti-HSP-60 Antikörper angefärbt. Das „Enrichment of Mitochondria at the Intercalated Disc“ Zeichen (EMID-Zeichen) wurde dann semiquantitativ auf einer Skala von 0 – 4 bewertet (0-2 = kein bis wenig-, 3-4 = mittel bis stark ausgeprägtes EMID-Zeichen).

Die Auswertung fand einfach verblindet statt, wurde zweifach durchgeführt und die Werte gemittelt, wobei eventuelle Mittelwerte mit Nachkommastellen auf die nächste ganze Zahl abgerundet wurden. Als Auswertungskriterium wurde die Verteilung der Mitochondrien innerhalb der Herzmuskelzelle verwendet. Regelrecht und gleichmäßig entlang der Myofibrillen verteilte Mitochondrien wurden als Intensität 0 gewertet, während Intensität 2 bereits eine mittlere Umstrukturierung in Richtung Glanzstreifen aufwies und bei Intensität 4 entlang der Myofibrillen nahezu keinerlei Färbung mehr zu erkennen war und eine starke Anfärbung im Bereich der Glanzstreifen beobachtet werden konnte. Die folgenden Abbildungen zeigen beispielhaft die Intensitäten 0, 2 und 4.

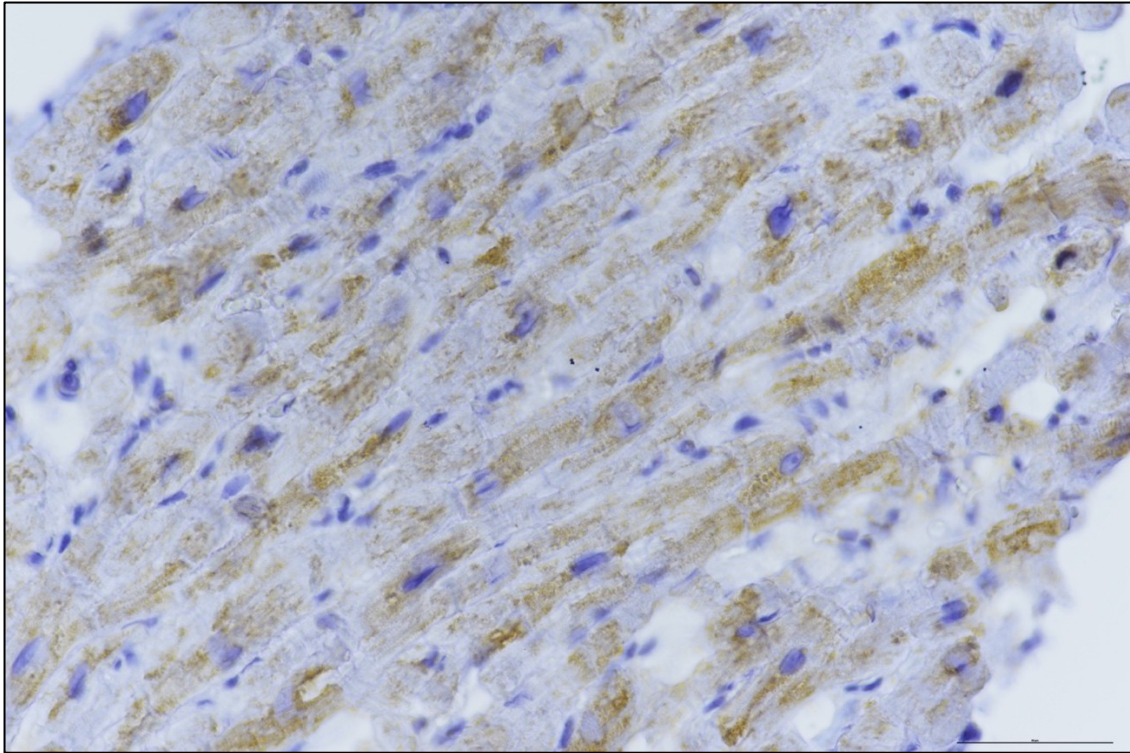


Abbildung 9: EMID-Zeichen der Intensität 0. Immunhistochemische Färbung von HSP-60 in einer Myokardbiopsie. Hier zeigt sich eine normale Verteilung der durch anti-HSP-60 braun angefärbten Mitochondrien entlang der Myofibrillen. Maßstabsbalken = 50 μ m. Braun = Färbung gegen HSP-60, Blau = Zellkerne. EMID = „Enrichment of mitochondria in close proximity to intercalated discs“. (Teil des Manuskripts „Changes in myocardial metabolism and inflammation modify prognosis in patients with Tachycardiomyopathy – Results from the EMPATHY study“ aktuell eingereicht in JACC).

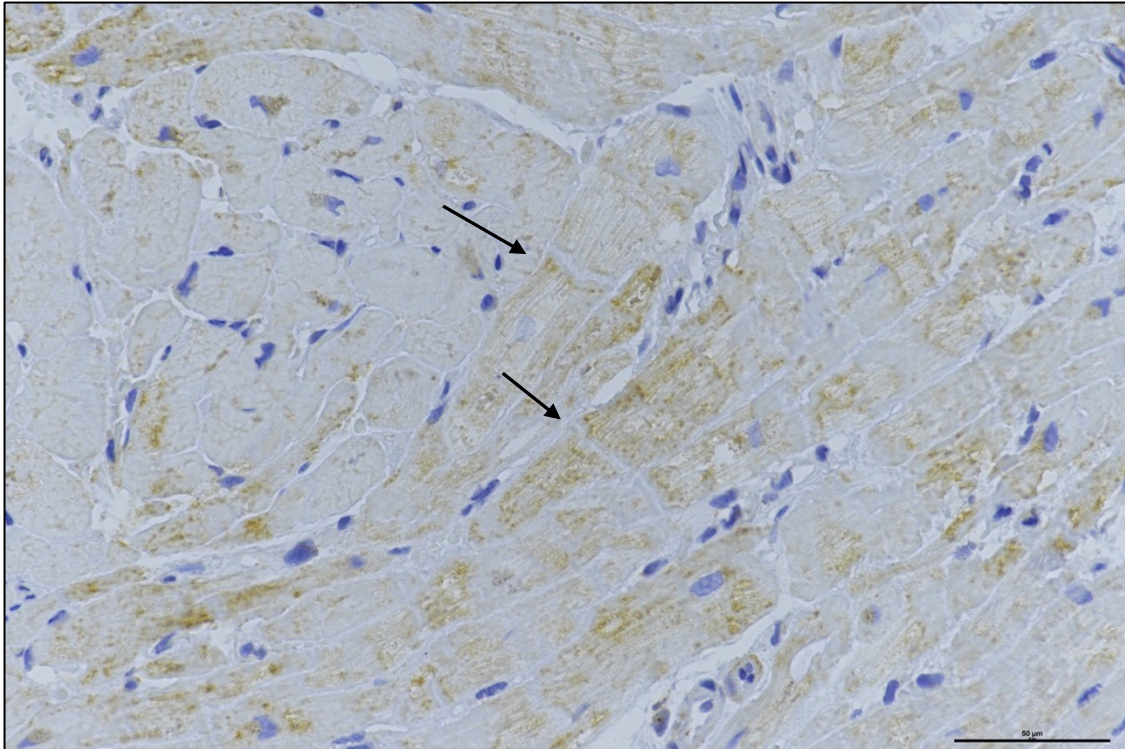


Abbildung 10: EMID-Zeichen der Intensität 2. Immunhistochemische Färbung von HSP-60 in einer Myokardbiopsie. Hier zeigt sich eine leichte Verdichtung der durch anti-HSP-60 braun angefärbten Mitochondrien in Richtung der Glanzstreifen der Kardiomyozyten (Pfeile), jedoch auch longitudinale Färbung entlang der Myofibrillen. Maßstabsbalken = 50 μm . Braun = Färbung gegen HSP-60, Blau = Zellkerne. EMID = „Enrichment of mitochondria in close proximity to intercalated discs“. (Teil des Manuskripts „Changes in myocardial metabolism and inflammation modify prognosis in patients with Tachycardiomyopathy – Results from the EMPATHY study“ aktuell eingereicht in JACC).

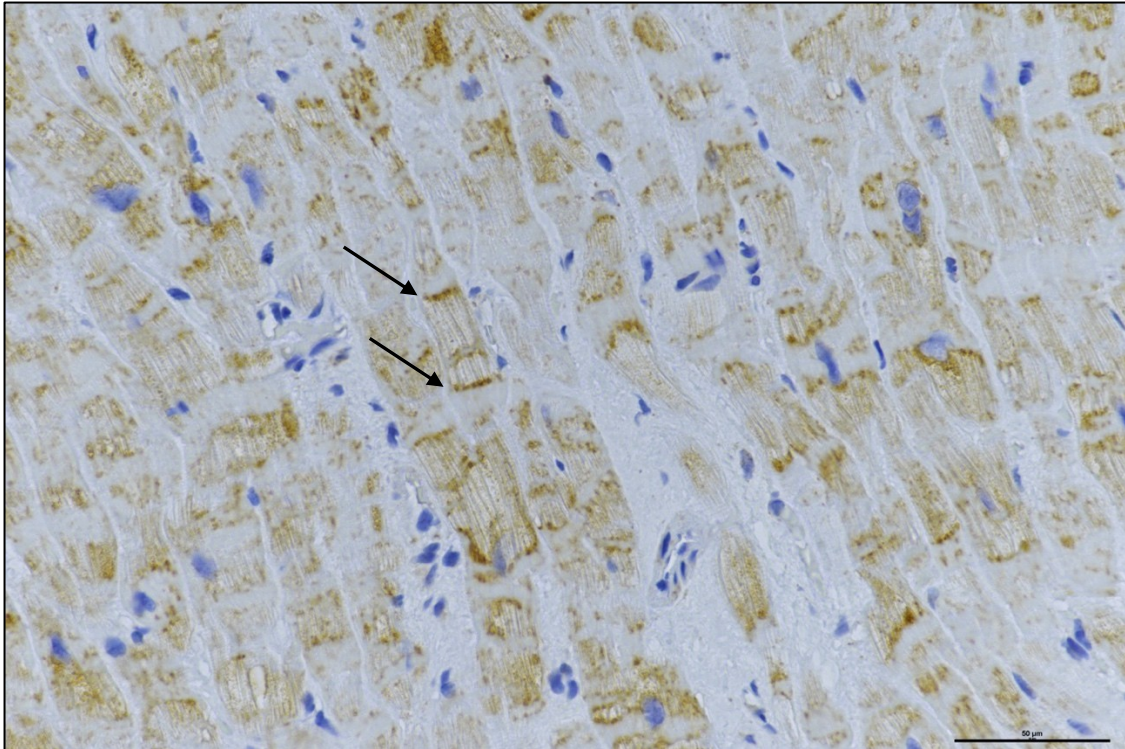


Abbildung 11: EMID-Zeichen der Intensität 4. Immunhistochemische Färbung von HSP-60 in einer Myokardbiopsie. Hier zeigt sich deutlich die Umverteilung der durch anti-HSP-60 braun angefärbten Mitochondrien zu den Glanzstreifen der Kardiomyozyten (Pfeile). Maßstabsbalken = 50 µm. Braun = Färbung gegen HSP-60, Blau = Zellkerne. EMID = „Enrichment of mitochondria in close proximity to intercalated discs“. (Teil des Manuskripts „Changes in myocardial metabolism and inflammation modify prognosis in patients with Tachycardiomyopathy – Results from the EMPATHY study“ aktuell eingereicht in JACC).

Die folgende Abbildung 12 zeigt, dass über 60% des Kollektivs im histologischen Präparat ein EMID-Zeichen zeigte, während der Rest kein EMID-Zeichen aufwies.

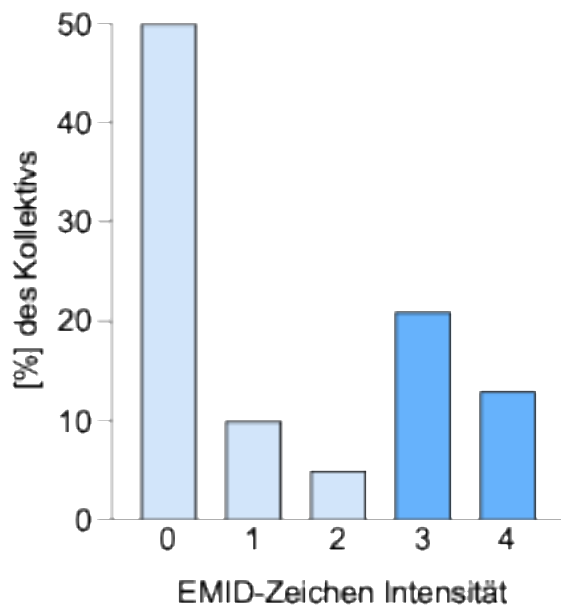


Abbildung 12: Verteilung der EMID-Zeichen Intensität im Patientenkollektiv. Verteilung der EMID-Zeichen Intensitäten von 0 bis 4 von insgesamt 38 Biopsien, >60 % zeigen ein EMID-Zeichen, <40 % zeigen kein EMID-Zeichen. EMID = „Enrichment of mitochondria in close proximity to intercalated discs“. (Teil des Manuskripts „Changes in myocardial metabolism and inflammation modify prognosis in patients with Tachycardiomyopathy – Results from the EMPATHY study“ aktuell eingereicht in JACC).

4.5.1.1 EMID-Zeichen ist assoziiert mit der Änderung der LVEF im Verlauf

Abbildung 13 zeigt die Entwicklung der LVEF bei PatientInnen mit gering ausgeprägtem EMID-Zeichen (0-2 keine bzw. schwache Intensität) im Vergleich zu PatientInnen mit einer ausgeprägten Umverteilung der Mitochondrien (EMID-Zeichen Intensität 3-4). Die mittlere LVEF stieg dabei in Gruppe 0-2 von 32,12 % (SD $\pm$ 10,78) bei Einschluss auf 48,91 % (SD $\pm$ 7,552) im follow-up ($p < 0,0001$). Die mittlere LVEF in Gruppe 3-4 stieg dagegen nur von 33,15 % (SD $\pm$ 10,36, SEM $\pm$ 2,873) bei Einschluss auf 40,42 % (SD $\pm$ 8,908, SEM $\pm$ 2,572) im follow-up ($p < 0,01$).

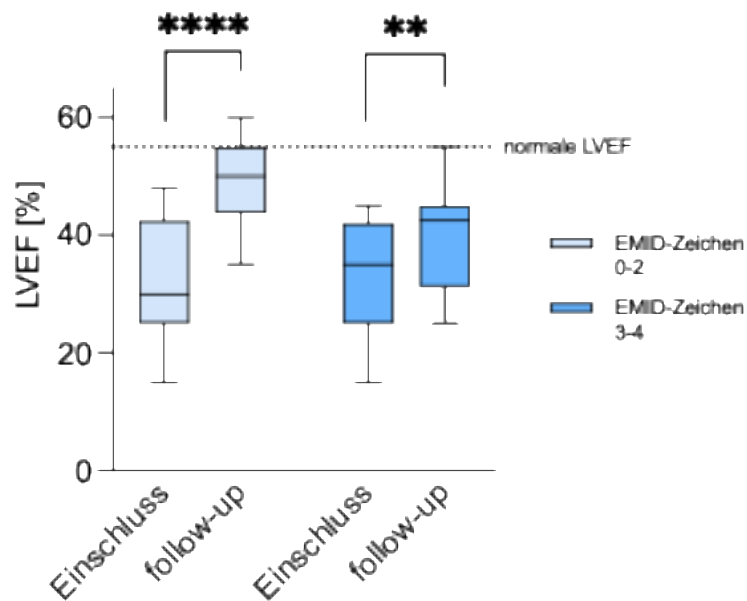


Abbildung 13: Änderung der LVEF bei unterschiedlicher Intensität des EMID-Zeichens. Die LVEF bei PatientInnen mit niedriger EMID-Zeichen Intensität (0-2) steigt im Mittel von rund 32,1% auf 48,9%, während sie bei PatientInnen mit hoher EMID-Zeichen Intensität (3-4) im Mittel nur von 33,2% auf 40,4% ansteigt. ** zeigt $p < 0,01$, **** zeigt $p < 0,0001$, LVEF = „Linksventrikuläre Ejektionsfraktion“, EMID = „Enrichment of mitochondria in close proximity to intercalated discs“. Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen minimalen und maximalen Wert der Gruppe, $n = 38$.

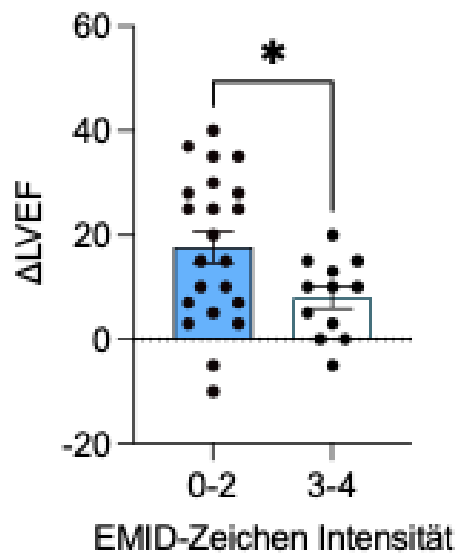


Abbildung 14: Änderung der LVEF bei unterschiedlicher Intensität des EMID-Zeichens (0-2 und 3-4). Die Erholung der LVEF unterscheidet sich zwischen den Gruppen mit geringer Umverteilung der Mitochondrien (enrichment of mitochondria at the intercalated discs (EMID-sign) 0-2) und starker Umverteilung (EMID-sign 3-4). zeigt $p < 0,05$), LVEF = Linksventrikuläre Ejektionsfraktion. Balken zeigen Mittelwerte, Fehlerbalken zeigen SEM, $n = 38$. EMID = „Enrichment of mitochondria in close proximity to intercalated discs“. (Teil des Manuskripts „Changes in myocardial metabolism and inflammation modify prognosis in patients with Tachycardiomyopathy – Results from the EMPATHY study““ aktuell eingereicht in JACC).

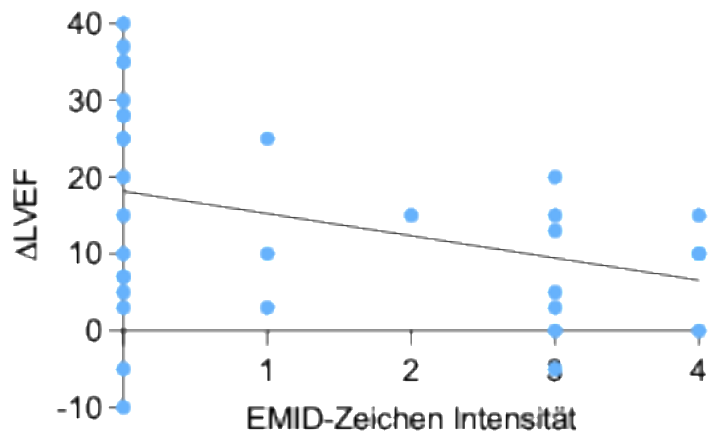


Abbildung 15: Korrelation Δ LVEF und EMID-Zeichen Intensität. Das Δ LVEF korreliert negativ mit der Intensität des EMID-Zeichens ($p < 0,05$, $r^2 = 0,132$), $n=38$. LVEF = Linksventrikuläre Ejektionsfraktion. EMID = „Enrichment of mitochondria in close proximity to intercalated discs“. (Teil des Manuskripts „Changes in myocardial metabolism and inflammation modify prognosis in patients with Tachycardiomyopathy – Results from the EMPATHY study“ aktuell eingereicht in JACC).

Das EMID-Zeichen korrelierte mit einer Signifikanz von $p < 0.05$ und einem $r^2 = 0,132$ mit der Entwicklung der linksventrikulären Ejektionsfraktion. Je stärker hierbei das EMID-Zeichen ausgeprägt war, desto schlechter war die Entwicklung der LVEF der PatientInnen.

4.5.2 Myokardiale Fibrose

Parallel zur Auswertung des EMID-Zeichens wurden alle Präparate auf deren fibrotischen Gewebeanteil semiquantitativ von 0 – 4 anhand von Sirius-red gefärbten Gewebeschnitten evaluiert (0 = keine Fibrose, 1 – 2 = wenig Fibrose, 3 – 4 = starke Fibrose).

Im Folgenden ist exemplarisch eine Aufnahme der Intensitätsstufe 2 gezeigt. Es zeigte sich, dass ΔLVEF nicht mit den Ergebnissen der semiquantitativen Fibrose-Evaluation korreliert ($p > 0,05$).

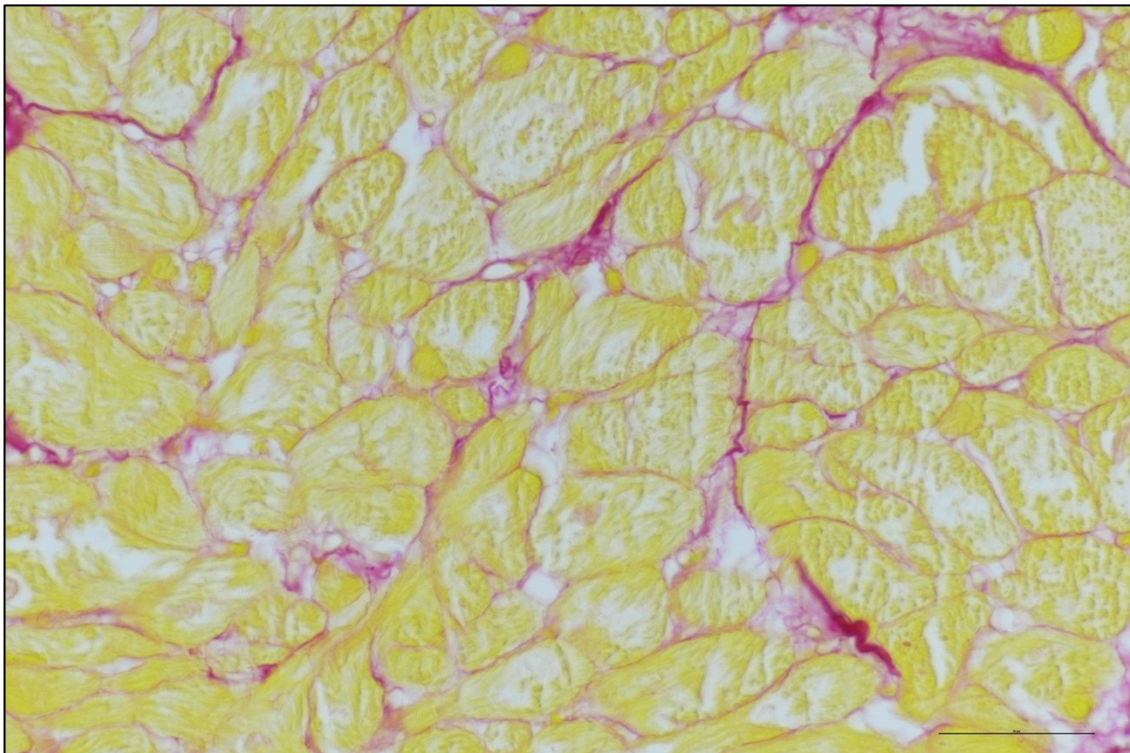


Abbildung 16: Beispiel der Quantifizierung des Fibrose-Anteils. Sirius-red-Färbung einer Biopsie, Fibrose = rot, übriges Myokard = gelb, Das Präparat zeigt exemplarisch die Intensitätsstufe 2 der semiquantitativen Evaluation. Maßstabsbalken zeigt 50 µm.

4.5.3 Analyse des Querschnitts von Kardiomyozyten

Für die Berechnung des mittleren Zell-Diameters von Kardiomyozyten innerhalb einer Biopsie wurden, sofern möglich, 100 quer angeschnittene Zellen vermessen und die Werte gemittelt. Aufgrund von Schwankungen in sowohl der Anzahl der analysierbaren Querschnitte als auch der Menge des auswertbaren Materials, konnten nicht immer 100 Kardiomyozyten vermessen werden. Insgesamt wurden in die Auswertung des mittleren Zelldiameters n=20 Präparate einbezogen. Normwerte für den radiären Diameter von Kardiomyozyten werden in der Literatur mit 20-35µm angegeben (71). Somit zeigen Kardiomyozyten im Mittel einen normalen Durchmesser in dieser Kohorte.

Tabelle 13: Mittlere Durchmesser in zellulären Querschnitten. (n=20)

n, Anzahl	20
Minimum, µm	14,42
Maximum, µm	51,43
Mittelwert	24,41
Standardabweichung	10,36
Standardfehler des Mittelwertes	2,318

4.6 Biomarker

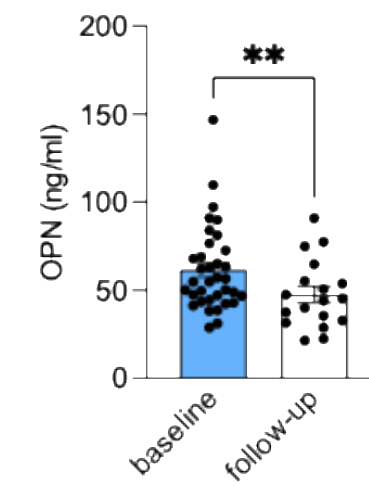
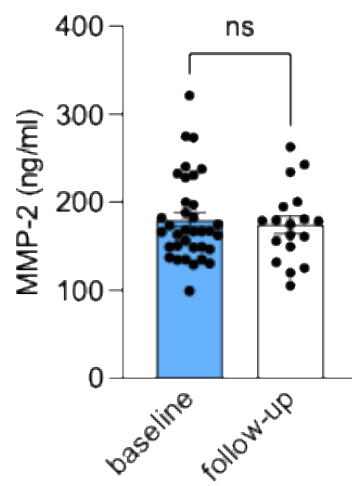
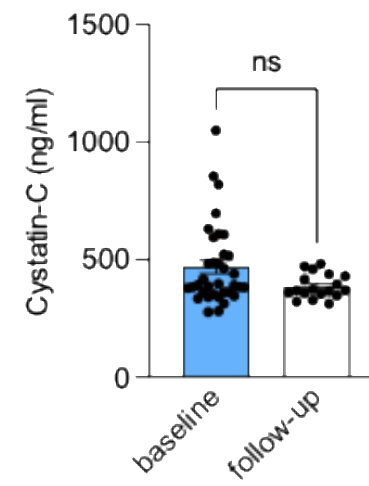
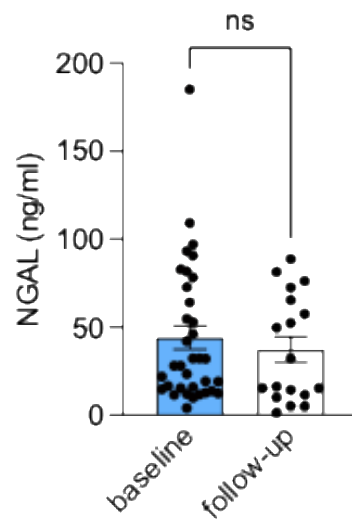
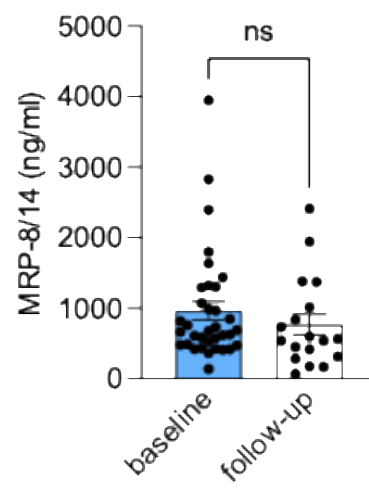
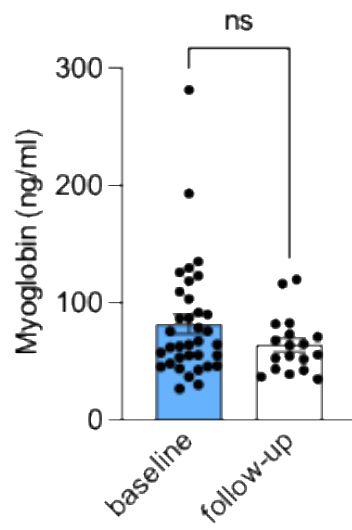
4.6.1 Durchschnittliche Biomarkerkonzentrationen bei Einschluss und im follow-up

Bei etwa zwei Drittel der PatientInnen (n=35) lagen Plasmaproben vor, die mittels LegendPlex Immunoassay auf die in Tabelle 14 gelisteten Biomarker bei Einschluss untersucht wurden. Für etwa die Hälfte dieser PatientInnen (n=18) lagen zusätzlich follow-up Daten vor, die ebenfalls untersucht wurden. Tabelle 14 zeigt die Mittelwerte der Plasmakonzentrationen bei Einschluss und im follow-up, während Abbildung 17 zusätzlich die Streuung der Einzelwerte graphisch gegenüberstellt. Referenzwerte lagen nur für Mb und CRP vor. Die durchschnittlichen Plasma-Konzentrationen dieser beiden Biomarker waren sowohl bei Einschluss als auch im follow-up deutlich erhöht (s. Tab. 12). Lediglich für OPN konnte eine signifikante Abnahme der Plasma-Konzentrationen im Verlauf festgestellt werden. Alle anderen Biomarker zeigten keine signifikanten Veränderungen im Verlauf.

Tabelle 14: Messwerte der Biomarker bei Einschluss und follow-up

Biomarker	Einschluss (n=35)				follow-up (n=18)			
	MW	SEM	min	max	MW	SEM	min	max
Mb	81,91	8,435	26,62	281,3	64,01	5,773	34,99	119,9
MRP-8/14	965,5	131,5	139,2	3950	767,7	150,3	70,16	2409
NGAL	43,96	6,62	4,12	185	37,3	7,152	,139	88,81
MMP-2	180	8,177	99,15	321,1	174,4	9,989	105,1	262,8
OPN	61,52	4,104	28,75	146,8	47,44	4,573	21,38	90,93
MPO	34,92	8,805	6,0	270,8	21,14	4,009	6,77	74,55
SAA	7468	2894	150,4	80763	9561	6106	222,3	80763
IGFBP-4	156,9	17,14	3,140	286,3	227,1	23,55	138,9	414,1
ICAM-1	18,84	4,74	0,58	104,4	18,14	5,396	1,1	66,45
VCAM-1	715,4	65,48	16,65	1450	620,4	99,78	26,46	1323
MMP-9	241,4	35,74	19,77	790,7	188,4	54,58	40,45	707,4
Cystatin-C	469,7	29,22	277,5	1050	385,4	12,26	311,4	482

Die Korrelation des EMID-Zeichens bzw. der Fibrose mit den Messwerten der Biomarker-Konzentrationen aus dem LegendPlex Immunoassay bei Einschluss ergab in beiden Fällen keine signifikante Korrelation und wurden aus Übersichtsgründen nicht graphisch in die Dissertation aufgenommen.



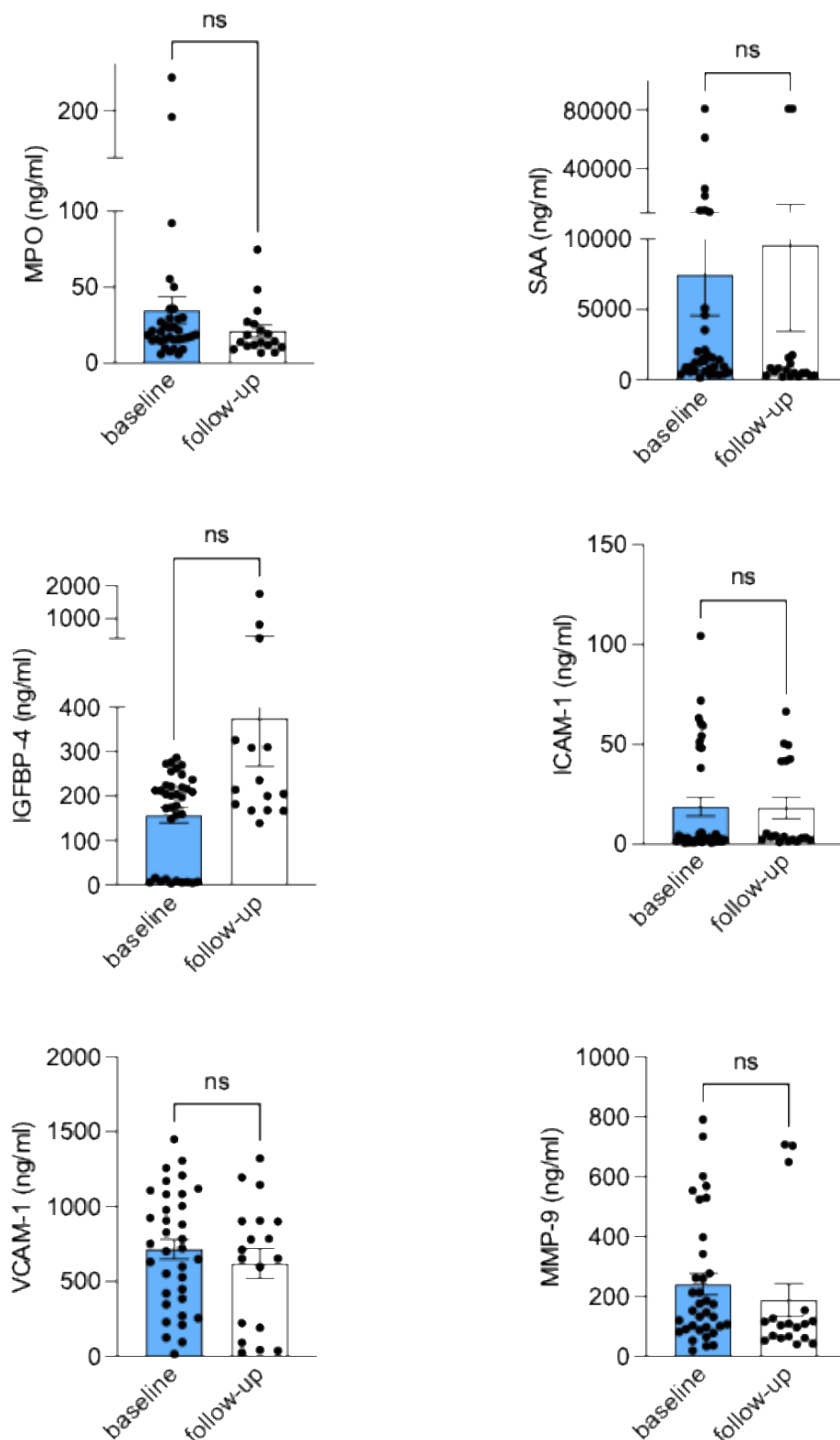


Abbildung 17: Messwerte der einzelnen Biomarker bei Einschluss und im follow-up. Alle Messwerte werden in ng/ml bei Einschluss (linker Balken) und follow-up (rechter Balken) angegeben, Balken im Streudiagramm zeigen Mittelwert, Fehlerbalken zeigen SEM. ** zeigt $p < 0,01$, n.s. zeigt $p > 0,05$.

4.6.2 Biomarkerkonzentrationen im Bezug zur LVEF bei Einschluss und im follow-up

Da, wie in Kapitel 4.6.1 dargestellt, die durchschnittlichen Biomarker-Konzentrationen bis auf OPN zwischen Einschluss und follow-up nicht signifikant unterschiedlich waren, wurde eine weitere Analyse der Biomarker-Konzentrationen im Bezug zur LVEF bei Einschluss und im follow-up durchgeführt. Ziel war es hier, zu überprüfen, ob PatientInnen, die eine starke Erholung der LVEF zeigen eine andere Dynamik der erhobenen Biomarker aufweisen als PatientInnen, die eine geringere Erholung der LVEF zeigen. Hierfür wurden die PatientInnen in zwei Gruppen ($\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ und $\Delta\text{LVEF} > 15\%$) eingeteilt. Diese Einteilung wurde basierend auf klinischer Erfahrung für eine relevante Verbesserung der LVEF gewählt und vergleicht Individuen mit sehr guter Erholung der LVEF mit Individuen, die eine geringere Erholung zeigen. Die folgende Abbildung vergleicht die Werte bei Einschluss und im follow-up (Abbildung 18). Signifikante Unterschiede innerhalb der Gruppen $\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ konnten nur für die Biomarker OPN mit einer Reduktion von rund 54 ng/ml bei Einschluss auf rund 40 ng/ml im follow-up sowie MPO mit einer Reduktion von rund 37 ng/ml bei Einschluss auf rund 23 ng/ml im follow-up (jeweils $p < 0,05$) festgestellt werden. Beide Marker zeigten somit in der sich schlechter erholenden Patientenkohorte eine stärkere Reduktion als in der sich besser erholenden Gruppe.

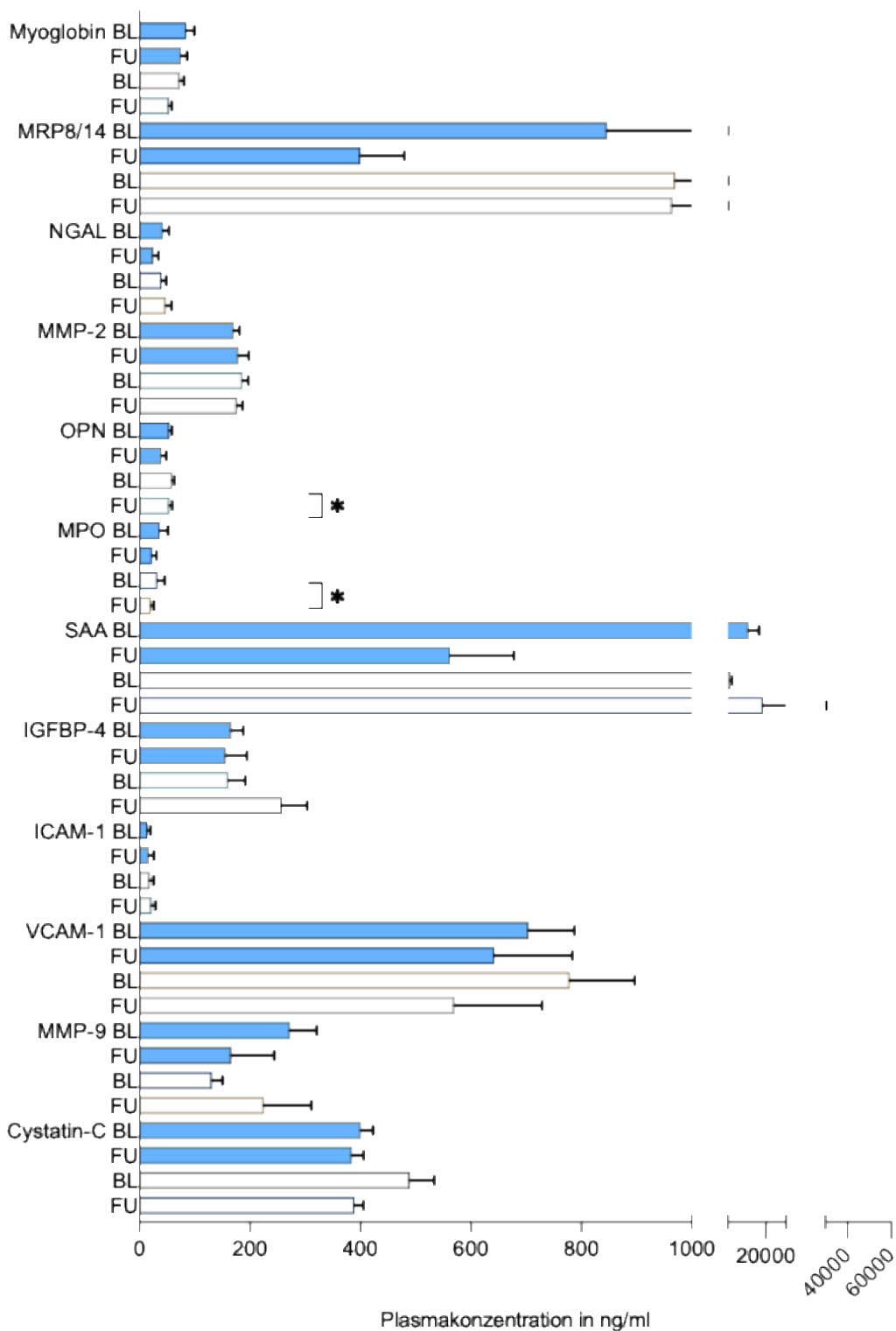


Abbildung 18: Biomarker Konzentration bei Einschluss und im follow-up im Bezug zur LVEF. Erhobene Messwerte werden in zwei Gruppen betrachtet: $\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ (Weiß, $n = 18$ bei Einschluss, $n = 8$ im follow-up), $\Delta\text{LVEF} > 15\%$ (Hellblau, $n = 13$ bei Einschluss, $n = 9$ bei follow-up), BL = Einschluss, FU = follow-up, * zeigt $p < 0,05$. Balken zeigen Mittelwert, Fehlerbalken zeigen SEM.

4.6.3 Korrelation der Biomarkerkonzentrationen bei Einschluss mit der Änderung der LVEF im Verlauf

Im nächsten Schritt wurde untersucht, inwieweit die Konzentrationen verschiedener Biomarker bei Einschluss mit der Erholung der LVEF korrelieren. Es konnte dabei gezeigt werden (Abbildung 19), dass nur die Konzentration von CRP eine signifikante Korrelation mit Δ LVEF aufweist, wohingegen alle anderen erhobenen Biomarker (Abbildung 20) keine Korrelation mit Δ LVEF aufwiesen.

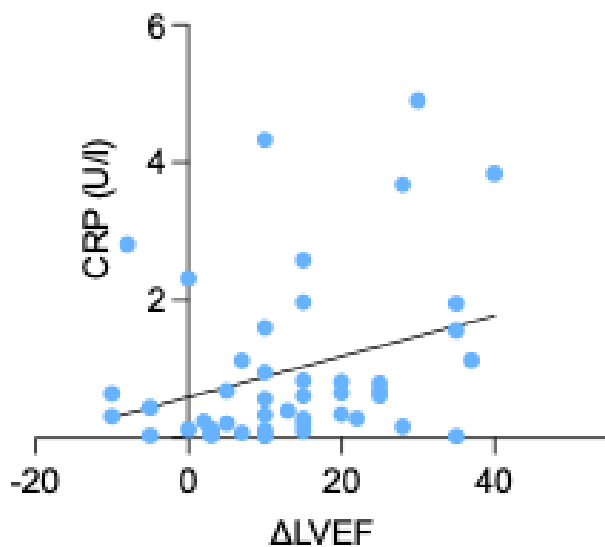
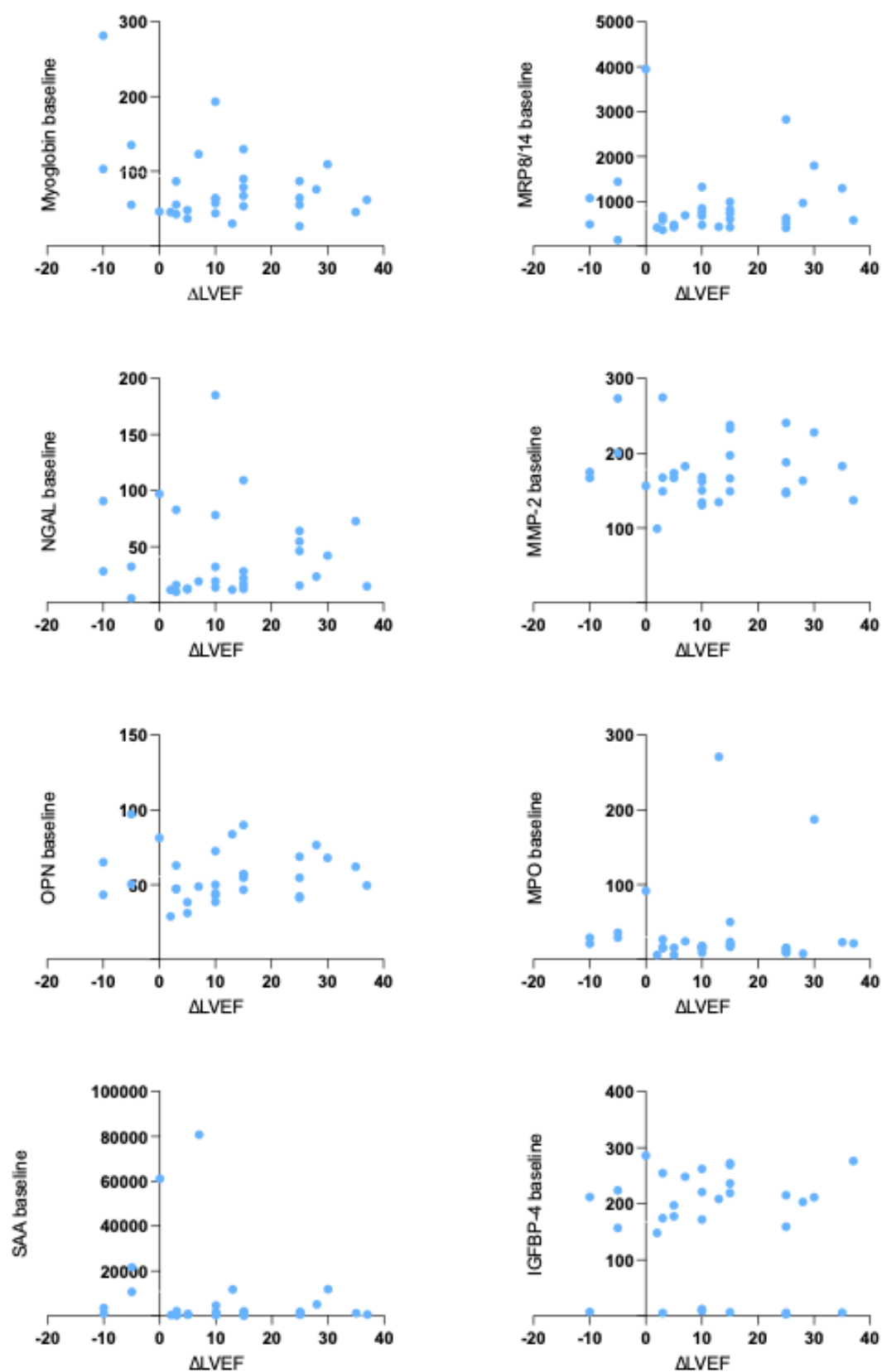


Abbildung 19: Korrelation von C-reaktives Protein bei Aufnahme im Bezug zu Δ LVEF. $p < 0,05$, $r^2 = 0,09431$. Die x-Achse zeigt Delta der Linksventrikulären Ejektionsfraktion (Δ LVEF,) die y-Achse zeigt C-reaktives Protein (CRP) in U/l, $n = 53$. MW CRP = 0,99, min = 0,02, max = 4,9. (Teil des Manuskripts „Changes in myocardial metabolism and inflammation modify prognosis in patients with Tachycardiomyopathy – Results from the EMPATHY study“ aktuell eingereicht in JACC).



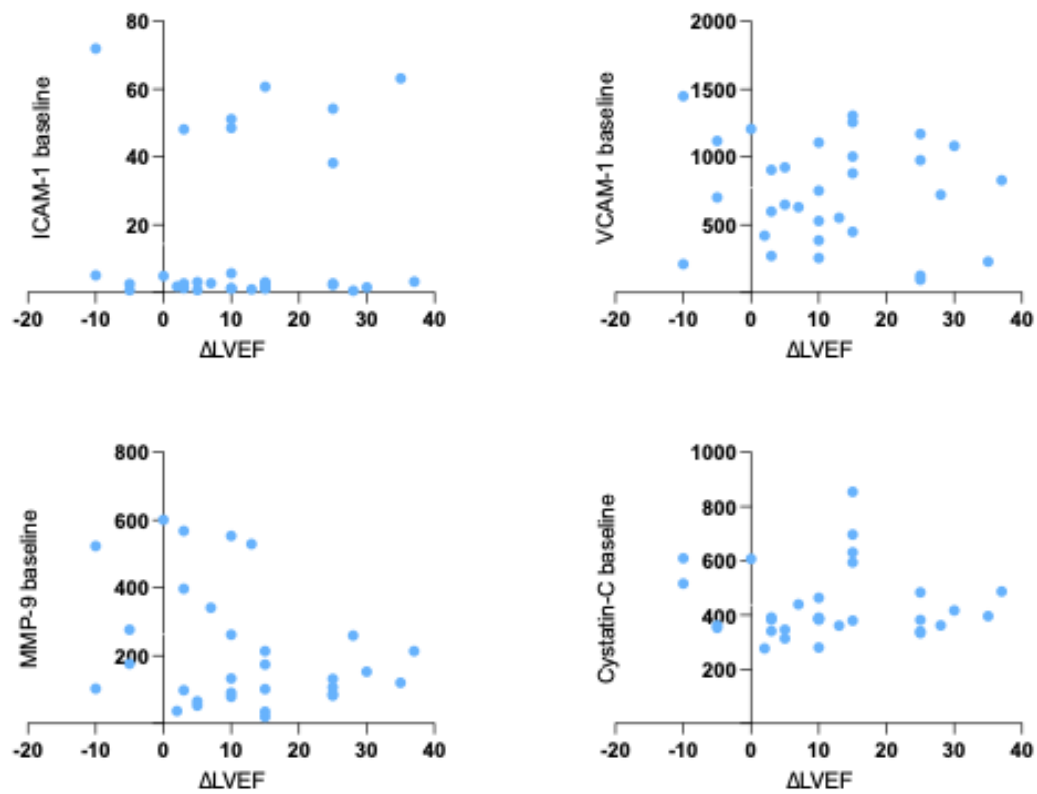


Abbildung 20: Biomarker Konzentrationen bei Aufnahme im Bezug zu Δ LVEF. Plasma-Konzentrationen sind in ng/ml angegeben. Es zeigte sich keine signifikante Korrelation (alle Einzelgraphen $p > 0,05$). X-Achse zeigt Delta der Linksventrikulären Ejektionsfraktion (Δ LVEF), y-Achse zeigt entsprechenden Biomarker in ng/ml bei Einschluss. Punkte zeigen die Einzelwerte.

5 Diskussion

Im Rahmen dieser Arbeit wurde prospektiv die prädiktive Rolle des EMID-Zeichens und verschiedener Biomarker für die Erholung der LVEF von PatientInnen mit vermuteter TCM untersucht. Die Ergebnisse zeigen zunächst, dass sich bei ungefähr der Hälfte der PatientInnen ein mittelstarkes bis starkes EMID-Zeichen in der Myokardbiopsie fand. Somit bestätigen sich die retrospektiv erhobenen Daten von Müller und Kollegen (3) insoweit, dass auch in dieser prospektiv untersuchten Kohorte das EMID-Zeichen sehr häufig beobachtet wird. Von den Biomarkern, für die Referenzwerte vorlagen, waren bei Einschluss die Biomarker CRP und Myoglobin pathologisch erhöht. Signifikante Veränderungen im Krankheitsverlauf zeigten sich nur für OPN, für das eine signifikante Abnahme der mittleren Plasma-Konzentration im Beobachtungszeitraum beobachtet wurde. Weiterhin zeigte sich eine signifikante Veränderung der Plasma-Konzentrationen für MPO und OPN bei Patienten die eine geringe Erholung der $\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ im Verlauf zeigten. Ferner konnte gezeigt werden, dass CRP bei Einschluss mit der Entwicklung der LVEF invers korreliert. Keiner der Biomarker korrelierte mit dem Ausprägungsgrad des EMID-Zeichens bei Einschluss. Die Hypothese, dass das EMID-Zeichen mit der Entwicklung der LVEF korreliert, konnte allerdings bestätigt werden: Je stärker das EMID-Zeichen ausgeprägt war, desto schlechter war die Entwicklung der PatientInnen hinsichtlich der LVEF.

In der folgenden Diskussion der erhobenen Daten werden zunächst die Stärken und Schwächen der Studie evaluiert, um die Daten in ihrer Aussagekraft einordnen zu können. Anschließend werden die erhobenen Befunde im Kontext der publizierten Literatur diskutiert.

5.1 Stärken und Schwächen der Studie

Eine Stärke der Studie ist, dass bei PatientInnen mit vermuteter TCM prospektiv verschiedene histopathologische Veränderungen sowie Biomarker bezüglich ihres prädiktiven Werts auf die Verbesserung der LVEF als prognostisch wichtige Einflussgröße hin untersucht wurden. Durch die Analyse von Myokardgewebe konnte dabei ein wesentlich tiefgreifenderer Einblick in die pathophysiologischen Vorgänge gewonnen werden, als dies durch Surrogatparameter möglich wäre. Weiterhin wurde eine

Vielzahl von insbesondere inflammatorischen Biomarkern analysiert, um deren prognostische Aussagekraft auf die Veränderung der LVEF zu untersuchen.

Eine weitere Stärke der Studie ist, dass die PatientInnen klinisch sehr gut charakterisiert wurden. Für alle PatientInnen lagen klinische Daten bzgl. Echokardiographie, Elektrokardiographie, routinemäßig erhobener Blutparameter und kardialer Risikofaktoren vor. Echokardiographische sowie elektrokardiographische Untersuchungen wurden dabei durch einen zweiten Untersucher parallel ausgewertet und verifiziert.

Die Fallzahl lag mit 53 PatientInnen unter der in einer initialen Poweranalyse bestimmten Fallzahl von 60 PatientInnen, was an den strengen Einschlusskriterien (LVEF<55%, tachykarder Herzrhythmusstörung sowie Ausschluss anderer struktureller Ursachen einer Kardiomyopathie) lag, welche die Rekrutierung erschwerten. Die Einschlusskriterien wurden bewusst streng gewählt, um eine Überlappung zu anderen Kardiomyopathien möglichst gering zu halten. Dennoch lag die Rekrutierungszahl nah an der geplanten Fallzahl.

Ein häufig bei klinischen Studien zu findendes Problem war auch in dieser Studie, dass nicht für alle PatientInnen vollständige Datensätze für die prospektive Evaluation vorlagen. So war nur von 38 der 53 PatientInnen bioptisches Restmaterial vorhanden und nur 47 PatientInnen nahmen an einer follow-up-Untersuchung teil. Biomarker im Plasma konnten lediglich bei 38 PatientInnen bei Einschluss und nur bei 18 im follow-up untersucht werden. Die Ursachen für die unvollständigen Datensätze, die die Aussagekraft der Studie einschränken, waren vielfältig: zum einen stimmten nicht alle PatientInnen der Abnahme von zusätzlichen Blutproben zu wissenschaftlichen Zwecken zu, zum anderen erschienen PatientInnen teils nicht zu den geplanten follow-up-Untersuchungen. Weitere Verzerrungsrisiken können sich dadurch ergeben, dass die Plasmaproben der PatientInnen zu verschiedenen Uhrzeiten entnommen wurden und auch die Uhrzeit der Abnahme bei Einschluss und im follow-up nicht sicher gleich war. Sollten Biomarker zirkadianen Schwankungen unterliegen, könnte das ggf. zu verzerrten Ergebnissen geführt haben. Eine Literatursuche zu zirkadianen Schwankungen von OPN, des einzigen Biomarkers der im Verlauf signifikante Veränderungen zeigte, blieb jedoch ohne relevante Ergebnisse.

5.2 Klinische Befunde

Bei dem beschriebenen PatientInnen Kollektiv handelt es sich um typische, schwer betroffene PatientInnen, bei denen eine TCM vermutet wird. Nach wie vor ist die Diagnose der TCM zum Zeitpunkt der initialen Vorstellung erschwert, da aktuell für die Diagnosestellung eine Verbesserung der LVEF nach antiarrhythmischer Behandlung notwendig ist und diese dadurch nur retrospektiv erfolgen kann. Aus diesem Grund sollte TCM in allen Fällen von ungeklärter LV-Funktionseinschränkung bei Vorhandensein tachykarder Herzrhythmusstörungen als Differentialdiagnose in Betracht gezogen werden (1, 7, 72).

So verglichen Müller et al. retrospektiv 19 PatientInnen mit TCM mit 79 PatientInnen mit dilatativer- (DCM) sowie 91 PatientInnen mit inflammatorischer Kardiomyopathie (ICM): Dabei fanden sie sehr ähnliche klinische Ergebnisse bezüglich Herzfrequenz und LVEF nach Rhythmus- oder Frequenzkontrolle. Auch der Anteil an Myokardbiopsien mit positivem EMID-Zeichen ließ sich in der hier beschriebenen Studie reproduzieren (3).

Im hier beschriebenen Kollektiv erhielten 72% der PatientInnen eine Rhythmuskontrolle mit einer Ablation. Dies wurde mit einer intensiven medikamentöse Herzinsuffizienz-Therapie kombiniert (siehe auch Tabelle 8). Im Rahmen großer retrospektiver Analysen konnte gezeigt werden, dass eine Ablation die linksventrikuläre Ejektionsfraktion bei TCM sowie Nicht-TCM-PatientInnen mit supraventrikulären Rhythmusstörungen nachhaltig verbessert (17, 73-76). Dies spiegelt sich auch in den einschlägigen Therapieleitlinien der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie nieder (17). Die Therapie der PatientInnen in der Kohorte entspricht damit zu einem sehr hohen Prozentsatz den geltenden Leitlinienempfehlungen. Man kann daraus schlussfolgern, dass damit die beobachteten Ergebnisse mit hoher Wahrscheinlichkeit auf die Gesamtgruppe von PatientInnen mit TCM übertragen werden können.

Inwiefern die Art und die Dauer der Herzrhythmusstörungen für das Outcome der PatientInnen verantwortlich waren, konnte leider nicht herausgearbeitet werden, da PatientInnen teilweise erst bei Auftreten schwerwiegender Symptome ärztliche Hilfe aufsuchten, jedoch auch tachykarde Herzrhythmusstörungen mit reduzierter LVEF als Zufallsbefunde erhoben wurden.

Abschließend lässt sich sagen, dass das in dieser Studie beobachtete Ansprechen auf die leitliniengerechte Therapie der TCM in seiner Gesamtheit betrachtet den publizierten Erfolgsraten entspricht.

5.3 Histopathologische Befunde als Prädiktoren für die Änderung der LVEF

5.3.1 EMID-Zeichen

Wie bereits eingangs beschrieben, gilt das EMID-Zeichen als charakteristisches histopathologisches Zeichen einer TCM. Es ist ein Indikator für die strukturelle Umverteilung der Mitochondrien innerhalb der Kardiomyozyten hin zu den Glanzstreifen. Im beschriebenen Kollektiv zeigten rund 35% ein in der Myokardbiopsie stark ausgeprägtes EMID-Zeichen, während rund 65% ein mäßig ausgeprägtes oder kein EMID-Zeichen aufwiesen. Es konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Intensität des EMID-Zeichens mit einer Signifikanz von $p < 0,05$ und $r^2 = 0,132$ mit der Entwicklung der LVEF korreliert, wobei ein ausgeprägtes EMID-Zeichen die Prognose negativ beeinflusste. Hierbei handelt es sich um ein Ergebnis, welches in der vorhandenen Literatur bisher noch nicht beschrieben wurde. Betrachtete man das Kollektiv in Gruppen (EMID-Zeichen Intensität 0-2 und EMID-Zeichen Intensität 3-4), zeigen sich zwischen diesen beiden Gruppen signifikante Unterschiede in der LVEF-Entwicklung (siehe Abbildung 13 und 14), d. h., dass PatientInnen mit stärker ausgeprägtem EMID-Zeichen sich im Mittel schlechter bezüglich der LVEF entwickelten als solche mit einem schwachen, oder keinem EMID-Zeichen.

Bei Überlegungen zur Pathogenese des EMID-Zeichens stellt sich die Frage, ob es selbst der Auslöser eines tachyarrhythmischen Herzschlages oder die adaptive Reaktion der Zelle auf einen solchen ist. Physiologisch finden sich an den Glanzstreifen die sogenannten Nexus/gap junctions. Hierbei handelt es sich um Zellkontakte, welche die Erregungsübertragung von einer Zelle zur nächsten ermöglichen. Im Falle einer tachyarrhythmischen Herzrhythmusstörung liegt der Gedanke nahe, dass hier ein erhöhter Energiebedarf an den Zellkontakten vorhanden ist, welcher durch die ATP-generierenden Mitochondrien gedeckt werden soll und dafürspräche, dass das EMID-Zeichen die Folge

einer Herzrhythmusstörung ist. Untersuchungen von Kostin et al. konnten jedoch speziell im Falle von VHF eine Lateralisierung der die Nexus bildenden Strukturproteine Cx43 und Cx40 zeigen (77), welche bei Sinusrhythmen nicht vorlag, weshalb bei dieser Theorie eine gleichzeitige Umverteilung der Mitochondrien ebenfalls in Frage käme. Da sich das EMID-Zeichen in verschiedenen Intensitäten bewerten lässt und der Schweregrad mit dem Fortschreiten einer TCM assoziiert zu sein scheint, erscheint es in Zusammenschau der Befunde wahrscheinlicher, dass es sich hierbei um eine Folge der Herzrhythmusstörung handelt. Diese Frage bleibt jedoch abschließend ungeklärt, da unbekannt ist, wie lange vorbestehend die Herzrhythmusstörung bei den verschiedenen PatientInnen war und weiterhin bislang keine Daten vorliegen, ob sich das EMID-Zeichen mit einer Verbesserung bzw. Normalisierung der LVEF zurückbildet oder ebenfalls normalisiert.

Einleuchtend erscheint, dass die strukturelle Veränderung des EMID-Zeichens und eine hierdurch möglicherweise eingeschränkte ATP-Generation durch umverteilte Mitochondrien entlang der Myofibrillen des Kardiomyozyten zu einer eingeschränkten Pumpfunktion beitragen könnten, da ATP physiologischerweise für die Lösung der kontraktilen Proteine benötigt wird. Dies könnte sich in der Korrelation der Δ LVEF und der Ausprägung des EMID-Zeichens widerspiegeln.

Es ist weiterhin anzumerken, dass die Detektion des EMID-Zeichens in einer Biopsie nur dann möglich ist, wenn eine Kardiomyozyt längs angeschnitten ist. Aufgrund der geringen Größe sowie der zufälligen Extraktion der Biopsien sind solche Längsschnitte im vorhandenen Material nicht immer großflächig anzutreffen. Hierdurch kann eine gewisse Verzerrung der Ergebnisse nicht ausgeschlossen werden, wenngleich dieses als gering eingestuft wird. Die Spezifität des EMID-Zeichens in der hier beschriebenen Studie kann aufgrund einer fehlenden Kontrollgruppe nicht abschließend eingeschätzt werden, jedoch ist die Prävalenz sehr ähnlich zu den publizierten Vordaten (3).

5.3.2 Myokardiale Fibrose

Wie bereits in den einleitenden Kapiteln beschrieben, handelt es sich bei myokardialer interstitieller Fibrose um Vernarbungsprozesse mit Einlagerung von Kollagen in die extrazelluläre Matrix.

Eine Untersuchung von Pabel et al. zeigte einen relativen Anteil von im Mittel $13,6 \pm 6\%$ Fibrose in mit van Gieson gefärbtem Myokard von PatientInnen mit VHF und Aortenstenose (40). Der prozentuale Fibroseanteil bei PatientInnen mit Sinusrhythmus und Aortenstenose lag sogar geringfügig höher bei $16,7 \pm 2,5\%$. Ähnliche Ergebnisse konnten in der vorgelegten Arbeit gezeigt werden, welche sogar mit weitgehend übereinstimmender Methodik erhoben wurden. Interessanterweise wurde in der vorliegenden Arbeit keine Korrelation der myokardialen Fibrose mit der Erholung der LVEF beobachtet. Dies ist insbesondere im Lichte aktueller Literatur relevant, die eine schlechtere Prognose bei PatientInnen mit ausgeprägter myokardialer Fibrose und ventrikulären Tachykardien zeigen, wobei im aktuellen Kollektiv diese PatientInnen in der deutlichen Minderheit sind (45). Die Fallzahl in der vorliegenden Arbeit ist zwar höher als jene von Pabel et al., jedoch eventuell nicht hoch genug, um einen entsprechenden klinischen Endpunkt eindeutig zu erreichen. Weiterhin könnte die Diskrepanz zwischen myokardialer Fibrose und Erholungsvermögen des Myokards dadurch begründet liegen, dass bei TCM andere pathophysiologische Zusammenhänge prognostisch relevant sind als bei anderen Kardiomyopathien. Ein Beispiel hierfür ist die signifikante Korrelation des EMID-Zeichens mit der Δ LVEF, welche bereits mit dieser geringen Fallzahl gezeigt werden konnte. Somit scheint Fibrose einen, wenn überhaupt geringeren prognostischen Wert für PatientInnen mit TCM aufzuweisen, sondern eher als genereller Marker für den Schweregrad einer ggf. vorbestehenden ventrikulären Schädigung geeignet zu sein.

Dennoch stellt viel Fibrose unabhängig von der Erholung der LVEF durch Leitungsverzögerung im Myokard einen möglichen Trigger für ventrikuläre Rhythmusstörungen dar. Zukünftige Studien sollten aus diesem Grund die ventrikuläre myokardiale Fibrose mit einer noch höheren Fallzahl tiefergehend evaluieren.

5.4 Biomarker als Prädiktoren für die Änderung der LVEF

Im Folgenden werden die Biomarker diskutiert, die Einfluss auf das klinische Outcome zeigen bzw. für die Hinweise auf pathophysiologische Funktionen im Kontext von Kardiomyopathien bestehen.

5.4.1 Myoglobin (Mb)

Wie eingangs beschrieben, dient Myoglobin der kurzzeitigen Sauerstoff-Speicherung während der systolischen Kompression der Gefäße durch die Ventrikelkontraktion. Weiterhin fungiert Myoglobin in Herzmuskelzellen als Sauerstoff-Sensor, indem es die Produktion von NO in der Zelle variieren kann. Unter hypoxischen Bedingungen stimuliert es die Produktion von NO, um durch eine Vasodilatation die Versorgung der Zelle mit Sauerstoff zu verbessern.

Die im Plasma der PatientInnen bei Einschluss und follow-up gemessenen Mb-Werte zeigten einen nicht-signifikanten Abfall von durchschnittlich 81,91 ng/ml auf 64,01 ng/ml. Normwerte werden für Frauen bis 35 ng/ml und für Männer bis 55 ng/ml Mb im Blut angegeben. Somit sind die Mb-Werte innerhalb des Kollektivs im Mittel sowohl bei Einschluss als auch im follow-up erhöht. Der Abfall der Mittelwerte ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass durch die Rhythmuskontrolle weniger Kardiomyozyten geschädigt werden und somit weniger Myoglobin Mb in das Plasma freigesetzt wird. Teilt man das Kollektiv in zwei Gruppen ($\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ und $\Delta\text{LVEF} > 15\%$), zeigten PatientInnen mit höheren Mb-Werten bei Aufnahme ein im Trend schlechteres Outcome, ähnlich wie dies bei der Intensität des EMID-Zeichens beobachtet wurde, wo eine ausgeprägte Veränderung mit einer schlechteren Erholung der LVEF assoziiert ist.

Zwar weist Mb innerhalb der Zelle eine protektive Wirkung auf, jedoch ist eine vermehrte Konzentration im Plasma ein Hinweis auf Apoptose von Muskelzellen (siehe auch Einleitung). Methodenkritisch ist anzumerken, dass unklar ist, ob es sich bei dem untersuchten Mb im Plasma tatsächlich um Mb aus dem Herzen oder aus anderen Myozyten handelt. Es lässt sich daher nicht ausschließen, ob eventuell auch eine Schädigung der Skelettmuskulatur in gewissem Umfang zu den erhöhten Mb-Werten bei den PatientInnen beigetragen hat. Etwaige Ursachen wie exzessive Muskularbeit, traumatische Myoglobin-Erhöhlungen/Quetschungen oder Myositiden als periphere Quelle sind im beschriebenen Kollektiv jedoch als eher unwahrscheinlich einzustufen.

5.4.2 Myeloid-related protein-8/14 (calprotectin/MRP-8/14)

Wie bereits in der Einleitung beschrieben, spielen MRP-8/14 eine proinflammatorische Rolle bei akuten und chronischen Entzündungserkrankungen, ihre physiologische Bedeutung in Kardiomyozyten bleibt jedoch weiterhin unvollständig geklärt.

Die im Plasma der PatientInnen bei Einschluss und follow-up gemessenen Werte für MRP-8/14 zeigten einen nicht-signifikanten Abfall von durchschnittlich 965,5 ng/ml auf 767,7 ng/ml. Teilt man das Kollektiv auch hier in zwei Gruppen ($\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ und $\Delta\text{LVEF} > 15\%$), zeigte sich in der Gruppe mit besserem Outcome ein bei Aufnahme im Mittel höherer Plasmawert (969,9 ng/ml zu 846,4 ng/ml), welcher den MW der Gruppe mit schlechterem Outcome im follow-up deutlich überstieg (964,6 ng/ml zu 399,3 ng/ml). In einer prospektiven Studie mit 104 eingeschlossenen PatientInnen konnten Lærke et al. zeigen, dass PatientInnen mit VHF im Vergleich zu gesunden BlutspenderInnen erhöhte MRP-8/14-Werte aufwiesen und die PatientInnen mit eingeschränkter LVEF noch höhere Serum-Werte aufwiesen als solche ohne eingeschränkte LVEF (78). In einem dreimonatigen follow-up konnte auch diese Studie eine Zunahme der MRP-8/14-Konzentrationen im Serum nach Rhythmuskontrolle zeigen. Der in diesem Kollektiv beobachtete Trend zu geringeren Konzentrationen insbesondere bei PatientInnen mit schlechterer Erholung der LVEF könnte dies einer ähnlichen Dynamik wie das CRP unterliegen, bei welchem hohe Ausgangswerte bei einer akuten Schädigung noch protektive Wirkung zeigen, während länger andauernde Prozesse, abflachende Konzentrationen und schlechte Erholung nach sich ziehen (siehe unten). Weitere follow-up Untersuchungen sollten MRP-8/14-Werte und die Dynamik des Serumspiegels fortführend evaluieren, da unklar bleibt, wodurch sich die Konzentration im Serum nach einem gewissen Zeitraum ändert.

5.4.3 C-reaktives Protein (CRP)

CRP wird im Rahmen einer akute-Phase-Reaktion freigesetzt und kann als Verlaufsparemeter von entzündlichen Prozessen genutzt werden, da auch mit Abklingen der akute-Phase-Reaktion ebenso die CRP-Konzentration im Plasma sinkt.

Die im Rahmen der in der routinemäßigen Blut-Diagnostik gemessenen CRP-Werte bei Aufnahme korrelierten positiv mit dem ΔLVEF ($r^2 = 0,0931$, $p < 0,05$) – je besser die

LVEF-Erholung im Verlauf, desto höher die bei Aufnahme gemessenen CRP-Werte. Somit war ein initial erhöhtes CRP mit einer besseren Prognose als initial niedrige CRP-Werte assoziiert. Hierdurch hebt sich die TCM deutlich von anderen Kardiomyopathien ab, für welche ein hoher CRP-Wert bei Aufnahme meist einen Prädiktor eines schlechten Outcomes darstellt (79). Dies könnte unter Anderem damit zusammenhängen, dass eine akute Myokardschädigung im Rahmen einer TCM, die mit einer akuten-Phase-Reaktion einhergeht, keine so tiefgreifenden Veränderungen im Myokard hervorruft, dass die Prognose langfristig eingeschränkt wird. Handelt es sich jedoch um einen länger anhaltenden Prozess, bei dem die akute-Phase-Reaktion schon abgeklungen ist, so könnten ggf. schon langfristige Schäden eingetreten sein, die eine Regeneration der LVEF erschweren. Dies könnte ein Grund dafür sein, dass PatientInnen mit Vorhofflimmern von einer nachhaltigen Rhythmisierungstherapie mehr profitieren als von einer reinen Frequenzkontrolle (80). Die hohen CRP-Werte dieses Kollektivs könnten hinweisgebend dafür sein, dass viele der eingeschlossenen PatientInnen eine frische, aufgrund ihrer Akuität mit hohem CRP einhergehende TCM aufwiesen, da CRP einerseits die Entstehung andererseits auch die Aufrechterhaltung von VHF begünstigt. Nichtsdestotrotz ist zu beachten, dass es sich bei CRP um einen sehr unspezifischen Marker handelt, welcher zeitverzögert steigt und fällt und dessen Dynamik auch durch andere pathologische Prozesse affektiert sein kann.

5.4.4 Matrix Metallo-Protease-2 und -9 (MMP-2/-9)

Die MMP-2 und -9 sind physiologischerweise am basalen Umbau der extrazellulären Matrix (ECM) beteiligt und beeinflussen somit das Umfeld von Herzmuskelzellen und deren Funktion sowie die Integrität des Herzmuskels (siehe auch Kapitel 2.4.5).

Im Mittel sind die bei Einschluss erhobenen MMP-2-Werte im Plasma der PatientInnen von 180 ng/ml auf 174,4 ng/ml im follow-up geringfügig gesunken ($p > 0,05$). Zwischen den eingangs erhobenen Werten für MMP-2 und dem Δ LVEF von Einschluss zur follow-up konnte keine signifikante Korrelation gezeigt werden, auch wenn George et al. eine signifikante positive Korrelation zwischen den MMP-2 Blutwerten und der Höhe der NYHA-Klassifikation bei einem Kollektiv von 88 Herzinsuffizienz-PatientInnen zeigten

(58). Zusätzlich gingen dort Werte über 352 ng/ml mit einer über 4,2-fach erhöhten Morbidität einher. Der in diesem Kollektiv gemessene Maximalwert bei Aufnahme betrug lediglich 321,1 ng/ml.

Teilt man das Kollektiv in zwei Gruppen ($\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ und $\Delta\text{LVEF} > 15\%$), steigt die MMP-2 Plasma-Konzentration in der Gruppe $\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ von 170,3 ng/ml auf 178,8 ng/ml und sinkt in der Gruppe $\Delta\text{LVEF} > 15\%$ von 185,9 ng/ml auf 176,5 ng/ml (jeweils $p > 0,05$), wobei der Literatur entsprechend zu erwarten gewesen wäre, dass ein schlechteres ΔLVEF mit einer erhöhten MMP-2 Plasma-Konzentration bei Aufnahme einhergeht, welche bei follow-up unter Umständen weiter ansteigt sowie ein gegensätzlicher Verlauf in der Gruppe mit besserer Erholung der LVEF (58). Aufgrund der geringen Anzahl an gemessenen Werten ist es denkbar, dass ein einzelner, sehr hoher Messwert die anderen Messungen und somit den MW stark verzerrt, was schließlich dazu führen kann, dass die aus der Literatur beschriebenen Ergebnisse nicht reproduziert werden konnten. Den wohl wichtigsten Einflussfaktor stellt die geringe Fallzahl dar, aufgrund dieser die Ergebnisse unter Umständen nicht signifikant sind.

Im Mittel sind die bei Einschluss erhobenen MMP-9-Werte im Plasma der PatientInnen von 241,4 ng/ml auf 188,4 ng/ml im follow-up gesunken ($p > 0,05$).

Im Verlauf sank der MW der MMP-9 Plasma-Konzentration bei PatientInnen mit $\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ von 271,8 ng/ml auf 165,9 ng/ml und stieg bei ProbandInnen mit $\Delta\text{LVEF} > 15\%$ von 130,7 ng/ml auf 224,8 ng/ml (jeweils $p > 0,05$). Somit verhalten sich die Konzentrationsänderung in den jeweiligen Gruppen gegensätzlich zu der von MMP-2.

MMP-9 zeigt sich im Vergleich zu PatientInnen mit regulärem Sinusrhythmus in VHF-PatientInnen generell erhöht und könnte zum remodelling beitragen und somit mit ursächlich für eine TCM sein. Während hohe MMP-2 Serumwerte prognostisch ungünstig zu sein scheinen, zeigen erhöhte MMP-9 Serumwerte einen die Prognose verbessernden Einfluss. Die Untersuchung eines potenziellen Gegenspiels von MMP-2 und -9 in der Pathophysiologie der TCM sowie die jeweilige Inhibition von diesen im Tiermodell bieten interessante Aspekte für weitere Versuche, um herauszufinden, inwiefern die proteolytischen Enzyme ursächlich für oder protektiv gegen eine TCM sein können. Diese sollten außerdem immunhistochemische Analysen bzw. Expressionsanalysen für MMP-2 und -9 der Myokardbiopsien zum Vergleich mit den im Serum zirkulierenden Konzentrationen dieser Marker beinhalten, um feststellen zu

können, ob im Plasma erhobene Messwerte die lokalen proteolytischen Umbauprozesse im Herzen widerspiegeln.

5.4.5 Osteopontin

Das im Herzen geringgradig vorhandene Osteopontin steigt unter mechanischem Stress innerhalb der Zellen an. Als Bestandteil der extrazellulären Matrix konnte eine positive Korrelation von Osteopontin mit dem Voranschreiten von Umbauprozessen, Fibrose und Kardiomyopathie gezeigt werden.

Die mittleren Plasma-Konzentrationen von OPN im Gesamtkollektiv sanken von 61,52 ng/ml bei Einschluss auf 47,44 ng/ml im follow-up ($p < 0,01$).

In der Gruppe $\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ konnte zudem ein signifikanter Abfall der Osteopontin-Konzentration im Plasma von rund 54 ng/ml bei Einschluss auf rund 40 ng/ml im follow-up gemessen werden ($p < 0,05$). Dieser Befund steht im Kontrast zu jüngsten Publikationen, welche das Voranschreiten von Fibrose und Schweregrad einer DCM mit einem Anstieg der Osteopontin-Konzentrationen korrelieren (64). Rubis et al. konnten jedoch im Jahre 2018 zeigen, dass in einem DCM-Kollektiv PatientInnen, welche den Endpunkt Tod oder akute Hospitalisierung erreichten, signifikant niedrigere OPN-Werte aufwiesen als solche, die keinen Endpunkt erreichten (81). Diese kontroversen Ergebnisse aus bestehender Literatur und der vorliegenden Dissertation legen den Gedanken nahe, dass OPN mehrere Funktionen erfüllt und somit physiologische als auch pathophysiologische Prozesse bremsen oder beschleunigen kann. Laut Abdelaziz et al. ist es an prominenter Stelle an Reparaturprozessen nach Ischämien beteiligt (64), weshalb die weiterführende Untersuchung der Rolle von OPN in der Pathogenese der TCM sinnvoll erscheint. Anzumerken ist, dass lediglich eine Anzahl von 7 Paaren (Einschluss und follow-up) ausgewertet werden konnte und eine größere Fallzahl die Aussagequalität verbessern würde.

6 Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurde prospektiv die prognostische Rolle des EMID-Zeichens und verschiedener Biomarker auf die Erholung der LVEF bei PatientInnen mit vermuteter TCM untersucht.

Bei den eingeschlossenen Patienten handelte es sich um schwer kranke PatientInnen, mit im Mittel hochgradig reduzierter LVEF bei denen einen hochgradiger Verdacht auf das Vorliegen einer TCM bestand. Die Einschlusskriterien wurden dabei bewusst sehr eng gewählt, um einen möglichst guten Einblick in die zugrundeliegende Pathophysiologie zu bekommen.

Klinische Untersuchungen zeigten zunächst eine Verbesserung der mittleren linksventrikulären Ejektionsfraktion von rund 32% auf 45% sowie die Normalisierung der mittleren Herzfrequenz von 123/min auf 72/min nach Initiierung einer Rhythmuskontrolle.

Die histologischen Ergebnisse zeigten, dass rund die Hälfte der PatientInnen ein mittelstarkes bis stark ausgeprägtes EMID-Zeichen aufwies.

Darüber hinaus konnte die Hypothese bestätigt werden, dass die Ausprägung des semiquantitativ evaluierten EMID-Zeichens mit dem Schweregrad der Erkrankung negativ korreliert: Je stärker das EMID-Zeichen ausgeprägt war, desto schlechter war die Entwicklung der PatientInnen hinsichtlich der Erholung der LVEF.

Des Weiteren konnte die Hypothese, dass die bei Einschluss gemessenen Biomarker mit dem Schweregrad der Erkrankung, gemessen am Δ der LVEF von Einschluss zu follow-up, korrelieren, teils bestätigt werden. Insbesondere das C-reaktive Protein konnte hier als prognostischer Marker identifiziert werden.

Nach Aufteilung in zwei Gruppen je nach Erholung der LVEF ($\Delta\text{LVEF} \leq 15\%$ und $\Delta\text{LVEF} > 15\%$) konnten für die sich schlechter erholende Gruppe signifikante Veränderungen in den Plasma-Konzentrationen für Osteopontin (OPN) und Myeloperoxidase (MPO) beobachtet werden. Die hier gemessenen Konzentrationsunterschiede entwickelten sich jedoch zum Teil anders als dies für andere Kardiomyopathien beobachtet wurde. Somit wird die Vermutung bekräftigt, dass es sich bei der TCM um eine eigenständige Kardiomyopathie mit eigener Pathophysiologie und Risikofaktoren handelt, welche sich in Diagnostik und Therapie maßgeblich von anderen, „klassischen“ Kardiomyopathien unterscheidet.

Zukünftige Studien mit höheren Fallzahlen sind erstrebenswert, um die Aussagekraft der einzelnen Ergebnisse zu stärken und eine detailliertere Risikostratifikation für den klinischen Alltag zu erarbeiten.

7 Veröffentlichungen

Teile der vorliegenden Dissertationsschrift sind aktuell bei der Zeitschrift „Journal of the American College of Cardiology (JACC)“ mit Herrn Jakob Lieb als Coautor eingereicht.

8 Erklärung zum Eigenanteil

Die vorgelegte Arbeit wurde an der Universität Tübingen, Innere Medizin III, Abteilung für Kardiologie und Angiologie unter Betreuung von Herrn Univ. Prof. Dr. med. Meinrad P. Gawaz und Herrn PD Dr. med. David Heinzmann durchgeführt.

Die Erhebung der klinischen Daten erfolgte in enger Zusammenarbeit mit Herrn Dr. med. Malte Kranert aus der Abteilung für Kardiologie und Angiologie der Universität Tübingen.

Sämtliche immunohistochemische Färbungen sowie einfache histologische Färbungen wurden (nach einmaliger Anleitung durch Kommilitone Herrn Dr. med. Manuel Sigle) eigenständig durchgeführt.

Der Immunoassay LegendPlex wurde durch Frau Daniela Eißler durchgeführt sowie in der Durchflusszytometrie gemessen. Die Auswertung der FACS-Daten wurde mit der durch BioLegend zur Verfügung gestellten Software selbstständig durchgeführt.

Sämtliche statistischen Tests wurden nach Beratung durch Frau You-Shan Feng, Wissenschaftliche Mitarbeiterin des Instituts für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen, selbstständig durchgeführt.

Der Text der Dissertationsschrift wurde vollumfänglich, ohne fremde Hilfe und ohne Anwendung nicht angegebener Quellen oder Künstlicher Intelligenz, selbstständig erstellt.

9 Literaturverzeichnis

1. Martin CA, Lambiase PD. Pathophysiology, diagnosis and treatment of tachycardiomyopathy. *Heart*. 2017;103(19):1543-52.
2. Allen HW. Auricular Fibrillation. *Cal State J Med*. 1913;11(12):496-9.
3. Mueller KAL, Heinzmann D, Klingel K, Fallier-Becker P, Kandolf R, Kiliass A, et al. Histopathological and Immunological Characteristics of Tachycardia-Induced Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2017;69(17):2160-72.
4. Gopinathannair R, Etheridge SP, Marchlinski FE, Spinale FG, Lakkireddy D, Olshansky B. Arrhythmia-Induced Cardiomyopathies: Mechanisms, Recognition, and Management. *J Am Coll Cardiol*. 2015;66(15):1714-28.
5. Gupta S, Figueredo VM. Tachycardia mediated cardiomyopathy: pathophysiology, mechanisms, clinical features and management. *Int J Cardiol*. 2014;172(1):40-6.
6. Fenelon G, Wijns W, Andries E, Brugada P. Tachycardiomyopathy: mechanisms and clinical implications. *Pacing Clin Electrophysiol*. 1996;19(1):95-106.
7. Kim DY, Kim SH, Ryu KH. Tachycardia induced Cardiomyopathy. *Korean Circ J*. 2019;49(9):808-17.
8. Bozkurt B, Colvin M, Cook J, Cooper LT, Deswal A, Fonarow GC, et al. Current Diagnostic and Treatment Strategies for Specific Dilated Cardiomyopathies: A Scientific Statement From the American Heart Association. *Circulation*. 2016;134(23):e579-e646.
9. Fujino T, Yamashita T, Suzuki S, Sugiyama H, Sagara K, Sawada H, et al. Characteristics of congestive heart failure accompanied by atrial fibrillation with special reference to tachycardia-induced cardiomyopathy. *Circ J*. 2007;71(6):936-40.
10. Furushima H, Chinushi M, Sugiura H, Aizawa Y. Radiofrequency catheter ablation for incessant atrioventricular nodal reentrant tachycardia normalized H-V block associated with tachycardia-induced cardiomyopathy. *J Electrocardiol*. 2004;37(4):315-9.
11. Pizzale S, Lemery R, Green MS, Gollob MH, Tang AS, Birnie DH. Frequency and predictors of tachycardia-induced cardiomyopathy in patients with persistent atrial flutter. *Can J Cardiol*. 2009;25(8):469-72.
12. Medi C, Kalman JM, Haqqani H, Vohra JK, Morton JB, Sparks PB, et al. Tachycardia-mediated cardiomyopathy secondary to focal atrial tachycardia: long-term outcome after catheter ablation. *J Am Coll Cardiol*. 2009;53(19):1791-7.
13. Bensler JM, Frank CM, Razavi M, Rasekh A, Saeed M, Haas PC, et al. Tachycardia-mediated cardiomyopathy and the permanent form of junctional reciprocating tachycardia. *Tex Heart Inst J*. 2010;37(6):695-8.

14. Watanabe H, Okamura K, Chinushi M, Furushima H, Tanabe Y, Kodama M, et al. Clinical characteristics, treatment, and outcome of tachycardia induced cardiomyopathy. *Int Heart J*. 2008;49(1):39-47.
15. Shinbane JS, Wood MA, Jensen DN, Ellenbogen KA, Fitzpatrick AP, Scheinman MM. Tachycardia-induced cardiomyopathy: a review of animal models and clinical studies. *J Am Coll Cardiol*. 1997;29(4):709-15.
16. Van Gelder IC, Groenveld HF, Crijns HJ, Tuininga YS, Tijssen JG, Alings AM, et al. Lenient versus strict rate control in patients with atrial fibrillation. *N Engl J Med*. 2010;362(15):1363-73.
17. Hindricks G, Potpara T, Dagres N, Arbelo E, Bax JJ, Blomstrom-Lundqvist C, et al. 2020 ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): The Task Force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2021;42(5):373-498.
18. Benjamin EJ, Muntner P, Alonso A, Bittencourt MS, Callaway CW, Carson AP, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2019 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2019;139(10):e56-e528.
19. Sossalla S, Vollmann D. Arrhythmia-Induced Cardiomyopathy. *Dtsch Arztebl Int*. 2018;115(19):335-41.
20. Dilaveris PE, Kennedy HL. Silent atrial fibrillation: epidemiology, diagnosis, and clinical impact. *Clin Cardiol*. 2017;40(6):413-8.
21. Steinberg JS, O'Connell H, Li S, Ziegler PD. Thirty-Second Gold Standard Definition of Atrial Fibrillation and Its Relationship With Subsequent Arrhythmia Patterns: Analysis of a Large Prospective Device Database. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2018;11(7):e006274.
22. Boriani G, Savelieva I, Dan GA, Deharo JC, Ferro C, Israel CW, et al. Chronic kidney disease in patients with cardiac rhythm disturbances or implantable electrical devices: clinical significance and implications for decision making-a position paper of the European Heart Rhythm Association endorsed by the Heart Rhythm Society and the Asia Pacific Heart Rhythm Society. *Europace*. 2015;17(8):1169-96.
23. Van Gelder IC, Rienstra M, Crijns HJ, Olshansky B. Rate control in atrial fibrillation. *Lancet*. 2016;388(10046):818-28.
24. Ulimoen SR, Enger S, Pripp AH, Abdelnoor M, Arnesen H, Gjesdal K, et al. Calcium channel blockers improve exercise capacity and reduce N-terminal Pro-B-type natriuretic peptide levels compared with beta-blockers in patients with permanent atrial fibrillation. *Eur Heart J*. 2014;35(8):517-24.

25. Figulla HR, Gietzen F, Zeymer U, Raiber M, Hegselmann J, Soballa R, et al. Diltiazem improves cardiac function and exercise capacity in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. Results of the Diltiazem in Dilated Cardiomyopathy Trial. *Circulation*. 1996;94(3):346-52.
26. Heinz G, Siostrzonek P, Kreiner G, Gossinger H. Improvement in left ventricular systolic function after successful radiofrequency His bundle ablation for drug refractory, chronic atrial fibrillation and recurrent atrial flutter. *Am J Cardiol*. 1992;69(5):489-92.
27. Brignole M, Gianfranchi L, Menozzi C, Bottoni N, Bollini R, Lolli G, et al. Influence of atrioventricular junction radiofrequency ablation in patients with chronic atrial fibrillation and flutter on quality of life and cardiac performance. *Am J Cardiol*. 1994;74(3):242-6.
28. Twidale N, Roberts-Thomson P, McRitchie RJ. Comparative hemodynamic effects of amiodarone, sotalol, and d-sotalol. *Am Heart J*. 1993;126(1):122-9.
29. Manolis AG, Katsivas AG, Lazaris EE, Vassilopoulos CV, Louvros NE. Ventricular performance and quality of life in patients who underwent radiofrequency AV junction ablation and permanent pacemaker implantation due to medically refractory atrial tachyarrhythmias. *J Interv Card Electrophysiol*. 1998;2(1):71-6.
30. Lip GY, Heinzel FR, Gaita F, Juanatey JR, Le Heuzey JY, Potpara T, et al. European Heart Rhythm Association/Heart Failure Association joint consensus document on arrhythmias in heart failure, endorsed by the Heart Rhythm Society and the Asia Pacific Heart Rhythm Society. *Eur J Heart Fail*. 2015;17(9):848-74.
31. Di Biase L, Mohanty P, Mohanty S, Santangeli P, Trivedi C, Lakkireddy D, et al. Ablation Versus Amiodarone for Treatment of Persistent Atrial Fibrillation in Patients With Congestive Heart Failure and an Implanted Device: Results From the AATAC Multicenter Randomized Trial. *Circulation*. 2016;133(17):1637-44.
32. Ganesan AN, Nandal S, Luker J, Pathak RK, Mahajan R, Twomey D, et al. Catheter ablation of atrial fibrillation in patients with concomitant left ventricular impairment: a systematic review of efficacy and effect on ejection fraction. *Heart Lung Circ*. 2015;24(3):270-80.
33. Zhang YY, Qiu C, Davis PJ, Jhaveri M, Prystowsky EN, Kowey P, et al. Predictors of progression of recently diagnosed atrial fibrillation in REgistry on Cardiac Rhythm DisORDers Assessing the Control of Atrial Fibrillation (RecordAF)-United States cohort. *Am J Cardiol*. 2013;112(1):79-84.
34. Wang RX, Lee HC, Hodge DO, Cha YM, Friedman PA, Rea RF, et al. Effect of pacing method on risk of sudden death after atrioventricular node ablation and pacemaker implantation in patients with atrial fibrillation. *Heart Rhythm*. 2013;10(5):696-701.

35. Geelen P, Brugada J, Andries E, Brugada P. Ventricular fibrillation and sudden death after radiofrequency catheter ablation of the atrioventricular junction. *Pacing Clin Electrophysiol.* 1997;20(2 Pt 1):343-8.
36. Spinale FG, Hendrick DA, Crawford FA, Smith AC, Hamada Y, Carabello BA. Chronic supraventricular tachycardia causes ventricular dysfunction and subendocardial injury in swine. *Am J Physiol.* 1990;259(1 Pt 2):H218-29.
37. Chow E, Woodard JC, Farrar DJ. Rapid ventricular pacing in pigs: an experimental model of congestive heart failure. *Am J Physiol.* 1990;258(5 Pt 2):H1603-5.
38. Zellner JL, Spinale FG, Eble DM, Hewett KW, Crawford FA, Jr. Alterations in myocyte shape and basement membrane attachment with tachycardia-induced heart failure. *Circ Res.* 1991;69(3):590-600.
39. Kajstura J, Zhang X, Liu Y, Szoke E, Cheng W, Olivetti G, et al. The cellular basis of pacing-induced dilated cardiomyopathy. Myocyte cell loss and myocyte cellular reactive hypertrophy. *Circulation.* 1995;92(8):2306-17.
40. Pabel S, Knierim M, Stehle T, Alebrand F, Paulus M, Sieme M, et al. Effects of Atrial Fibrillation on the Human Ventricle. *Circ Res.* 2022;130(7):994-1010.
41. Heinzmann D, Seizer P. Mitochondria in heart failure: EMID-sign. *Eur Heart J.* 2018;39(10):898.
42. Soltys BJ, Gupta RS. Immunoelectron microscopic localization of the 60-kDa heat shock chaperonin protein (Hsp60) in mammalian cells. *Exp Cell Res.* 1996;222(1):16-27.
43. Gonzalez A, Schelbert EB, Diez J, Butler J. Myocardial Interstitial Fibrosis in Heart Failure: Biological and Translational Perspectives. *J Am Coll Cardiol.* 2018;71(15):1696-706.
44. Weber KT, Pick R, Jalil JE, Janicki JS, Carroll EP. Patterns of myocardial fibrosis. *J Mol Cell Cardiol.* 1989;21 Suppl 5:121-31.
45. Disertori M, Mase M, Ravelli F. Myocardial fibrosis predicts ventricular tachyarrhythmias. *Trends Cardiovasc Med.* 2017;27(5):363-72.
46. Jellis C, Martin J, Narula J, Marwick TH. Assessment of nonischemic myocardial fibrosis. *J Am Coll Cardiol.* 2010;56(2):89-97.
47. Morita N, Mandel WJ, Kobayashi Y, Karagueuzian HS. Cardiac fibrosis as a determinant of ventricular tachyarrhythmias. *J Arrhythm.* 2014;30(6):389-94.
48. Wittenberg JB. Myoglobin-facilitated oxygen diffusion: role of myoglobin in oxygen entry into muscle. *Physiol Rev.* 1970;50(4):559-636.

49. Totzeck M, Hendgen-Cotta UB, Luedike P, Berenbrink M, Klare JP, Steinhoff HJ, et al. Nitrite regulates hypoxic vasodilation via myoglobin-dependent nitric oxide generation. *Circulation*. 2012;126(3):325-34.
50. Hendgen-Cotta UB, Kelm M, Rassaf T. Myoglobin's novel role in nitrite-induced hypoxic vasodilation. *Trends Cardiovasc Med*. 2014;24(2):69-74.
51. Hendgen-Cotta UB, Kelm M, Rassaf T. Myoglobin functions in the heart. *Free Radic Biol Med*. 2014;73:252-9.
52. Pruenster M, Kurz AR, Chung KJ, Cao-Ehlker X, Bieber S, Nussbaum CF, et al. Extracellular MRP8/14 is a regulator of beta2 integrin-dependent neutrophil slow rolling and adhesion. *Nat Commun*. 2015;6:6915.
53. Kjeldsen L, Bainton DF, Sengelov H, Borregaard N. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel matrix protein of specific granules in human neutrophils. *Blood*. 1994;83(3):799-807.
54. Borregaard N, Cowland JB. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin, a siderophore-binding eukaryotic protein. *Biometals*. 2006;19(2):211-5.
55. Sivalingam Z, Larsen SB, Grove EL, Hvas AM, Kristensen SD, Magnusson NE. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a risk marker in cardiovascular disease. *Clin Chem Lab Med*. 2017;56(1):5-18.
56. Yndestad A, Landro L, Ueland T, Dahl CP, Flo TH, Vinge LE, et al. Increased systemic and myocardial expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in clinical and experimental heart failure. *Eur Heart J*. 2009;30(10):1229-36.
57. Du Clos TW. Function of C-reactive protein. *Ann Med*. 2000;32(4):274-8.
58. George J, Patal S, Wexler D, Roth A, Sheps D, Keren G. Circulating matrix metalloproteinase-2 but not matrix metalloproteinase-3, matrix metalloproteinase-9, or tissue inhibitor of metalloproteinase-1 predicts outcome in patients with congestive heart failure. *Am Heart J*. 2005;150(3):484-7.
59. Ho YL, Lin YH, Lee CM, Hsu RB, Ting HT, Chou NK, et al. Prognostic significance of adipocytokines and extracellular matrix activity in heart failure patients with high B-type natriuretic peptide. *Clin Biochem*. 2009;42(13-14):1407-12.
60. Yan AT, Yan RT, Spinale FG, Afzal R, Gunasinghe HR, Arnold M, et al. Plasma matrix metalloproteinase-9 level is correlated with left ventricular volumes and ejection fraction in patients with heart failure. *J Card Fail*. 2006;12(7):514-9.
61. Troncoso MF, Ortiz-Quintero J, Garrido-Moreno V, Sanhueza-Olivares F, Guerrero-Moncayo A, Chiong M, et al. VCAM-1 as a predictor biomarker in cardiovascular disease. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*. 2021;1867(9):166170.

62. Willeit K, Pechlaner R, Willeit P, Skroblin P, Paulweber B, Schernthaner C, et al. Association Between Vascular Cell Adhesion Molecule 1 and Atrial Fibrillation. *JAMA Cardiol.* 2017;2(5):516-23.
63. Gouda P, Ezekowitz JA. Update on the diagnosis and management of acute heart failure. *Curr Opin Cardiol.* 2019;34(2):202-6.
64. Abdelaziz Mohamed I, Gadeau AP, Hasan A, Abdulrahman N, Mraiche F. Osteopontin: A Promising Therapeutic Target in Cardiac Fibrosis. *Cells.* 2019;8(12).
65. Ndrepepa G. Myeloperoxidase - A bridge linking inflammation and oxidative stress with cardiovascular disease. *Clin Chim Acta.* 2019;493:36-51.
66. Sack GH, Jr. Serum Amyloid A (SAA) Proteins. *Subcell Biochem.* 2020;94:421-36.
67. Hjortebjerg R. IGFBP-4 and PAPP-A in normal physiology and disease. *Growth Horm IGF Res.* 2018;41:7-22.
68. Hoeflich A, David R, Hjortebjerg R. Current IGFBP-Related Biomarker Research in Cardiovascular Disease-We Need More Structural and Functional Information in Clinical Studies. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:388.
69. Lawson C, Wolf S. ICAM-1 signaling in endothelial cells. *Pharmacol Rep.* 2009;61(1):22-32.
70. Onopiuk A, Tokarzewicz A, Gorodkiewicz E. Cystatin C: a kidney function biomarker. *Adv Clin Chem.* 2015;68:57-69.
71. Gandhimathi. 17 - Nanofiber composites in cardiac tissue engineering. Murugan Ramalingam SR, editor: Woodhead Publishing; 2017. 411-53 p.
72. Mohamed HA. Tachycardia-induced Cardiomyopathy (Tachycardiomyopathy). *Libyan J Med.* 2007;2(1):26-9.
73. MacDonald MR, Connelly DT, Hawkins NM, Steedman T, Payne J, Shaw M, et al. Radiofrequency ablation for persistent atrial fibrillation in patients with advanced heart failure and severe left ventricular systolic dysfunction: a randomised controlled trial. *Heart.* 2011;97(9):740-7.
74. Jones DG, Haldar SK, Hussain W, Sharma R, Francis DP, Rahman-Haley SL, et al. A randomized trial to assess catheter ablation versus rate control in the management of persistent atrial fibrillation in heart failure. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(18):1894-903.
75. Hunter RJ, Berriman TJ, Diab I, Kamdar R, Richmond L, Baker V, et al. A randomized controlled trial of catheter ablation versus medical treatment of atrial fibrillation in heart failure (the CAMTAF trial). *Circ Arrhythm Electrophysiol.* 2014;7(1):31-8.

76. Al Halabi S, Qintar M, Hussein A, Alraies MC, Jones DG, Wong T, et al. Catheter Ablation for Atrial Fibrillation in Heart Failure Patients: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *JACC Clin Electrophysiol*. 2015;1(3):200-9.
77. Kostin S, Klein G, Szalay Z, Hein S, Bauer EP, Schaper J. Structural correlate of atrial fibrillation in human patients. *Cardiovasc Res*. 2002;54(2):361-79.
78. Bruhn LV, Lauridsen KG, Schmidt AS, Rickers H, Bach LF, Lofgren B, et al. Elevated calprotectin in patients with atrial fibrillation with and without heart failure. *Scand J Clin Lab Invest*. 2017;77(3):210-5.
79. Kaneko K, Kanda T, Yamauchi Y, Hasegawa A, Iwasaki T, Arai M, et al. C-Reactive protein in dilated cardiomyopathy. *Cardiology*. 1999;91(4):215-9.
80. Kirchhof P, Camm AJ, Goette A, Brandes A, Eckardt L, Elvan A, et al. Early Rhythm-Control Therapy in Patients with Atrial Fibrillation. *N Engl J Med*. 2020;383(14):1305-16.
81. Rubis P, Wisniowska-Smialek S, Dziewiecka E, Rudnicka-Sosin L, Kozanecki A, Podolec P. Prognostic value of fibrosis-related markers in dilated cardiomyopathy: A link between osteopontin and cardiovascular events. *Adv Med Sci*. 2018;63(1):160-6.

10 Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: ELEKTROKARDIOGRAMM BEI VORHOFFLIMMERN. BEISPIEL EINES ELEKTROKARDIOGRAMMS (EKG) BEI VORHOFFLIMMERN EINER WEIBLICHEN PATIENTIN, 65 JAHRE. ABLEITUNGEN VON OBEN NACH UNTEN: I, II, III, AVR, AVL, AVF, V1, V2, V3, V4, V5, V6. HERZFREQUENZ=141 /MIN	9
ABBILDUNG 2: EMID-ZEICHEN BEI TCM. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON „HEATSHOCK PROTEINS 60“ (HSP-60, BRAUN) EINER ENDOMYOKARDIALEN BIOPSIE EINES PATIENTEN (MÄNNLICH, 50 JAHRE) MIT TCM BEI VENTRIKULÄRER TACHYKARDIE UND 15% LINKSVENTRIKULÄRER EJEKTIONSFRAKTION, 40-FACHE VERGRÖßERUNG (LI) UND AUSSCHNITT 60-FACHE VERGRÖßERUNG, MAßSTABSBALKEN ZEIGT 50 µM. EMID = „ENRICHMENT OF MITOCHONDRIA IN CLOSE PROXIMITY TO INTERCALATED DISCS“. (TEIL DES MANUSKRIPTS „CHANGES IN MYOCARDIAL METABOLISM AND INFLAMMATION MODIFY PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TACHYCARDIOMYOPATHY – RESULTS FROM THE EMPATHY STUDY“ AKTUELL EINGEREICHT IN JACC)	18
ABBILDUNG 5: ENTWICKLUNG DER LVEF DES KOLLEKTIVS VON EINSCHLUSS ZU FOLLOW-UP. LINKSVENTRIKULÄRE EJEKTIONSFRAKTION (LVEF IN %) DER PATIENTINNEN BEI EINSCHLUSS (BASELINE) UND FOLLOW-UP. DIE EINZELWERTE PRO PATIENTIN SIND ALS PUNKTE DARGESTELLT. **** ZEIGT $P < 0,0001$. EINZELWERTE BEI EINSCHLUSS /FOLLOW-UP: $N = 53/47$, $MW = 32,4/45,5$, $SD = 9,9/9,2$. (TEIL DES MANUSKRIPTS „CHANGES IN MYOCARDIAL METABOLISM AND INFLAMMATION MODIFY PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TACHYCARDIOMYOPATHY – RESULTS FROM THE EMPATHY STUDY“ AKTUELL EINGEREICHT IN JACC)	47
ABBILDUNG 6: VERTEILUNG DER HERZFREQUENZ BEI EINSCHLUSS. X-ACHSE ZEIGT HERZFREQUENZ (HF)/MIN, Y-ACHSE ZEIGT % DES GESAMTKOLLEKTIVS.	48
ABBILDUNG 7: VERTEILUNG DER HERZFREQUENZ BEI FOLLOW-UP. X-ACHSE ZEIGT HERZFREQUENZ (HF)/MIN, Y-ACHSE ZEIGT % DES GESAMTKOLLEKTIVS.	50
ABBILDUNG 8: ENTWICKLUNG DER HERZFREQUENZ VON EINSCHLUSS ZU FOLLOW-UP. DIE EINZELWERTE SIND ALS PUNKTE DARGESTELLT. **** ZEIGT $P < 0,0001$. EINZELWERTE BEI BASELINE/FOLLOW-UP: $N = 53/47$, $MIN = 70/38$, $MAX = 180/149$, $MW = 123/74$, $SD = 28,6/22,5$. (TEIL DES MANUSKRIPTS „CHANGES IN MYOCARDIAL METABOLISM AND INFLAMMATION MODIFY PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TACHYCARDIOMYOPATHY – RESULTS FROM THE EMPATHY STUDY“ AKTUELL EINGEREICHT IN JACC)	52
ABBILDUNG 9: EMID-ZEICHEN DER INTENSITÄT 0. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON HSP-60 IN EINER MYOKARDBIOPSIE. HIER ZEIGT SICH EINE NORMALE VERTEILUNG DER DURCH ANTI-HSP-60 BRAUN ANGEFÄRBTEN MITOCHONDRIEN ENTLANG DER MYOFIBRILLEN. MAßSTABSBALKEN = 50 µM. BRAUN = FÄRBUNG GEGEN HSP-60, BLAU = ZELLKERNE. EMID = „ENRICHMENT OF MITOCHONDRIA IN CLOSE PROXIMITY TO INTERCALATED DISCS“. (TEIL DES MANUSKRIPTS „CHANGES IN MYOCARDIAL METABOLISM AND INFLAMMATION MODIFY PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TACHYCARDIOMYOPATHY – RESULTS FROM THE EMPATHY STUDY“ AKTUELL EINGEREICHT IN JACC)	54
ABBILDUNG 10: EMID-ZEICHEN DER INTENSITÄT 2. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON HSP-60 IN EINER MYOKARDBIOPSIE. HIER ZEIGT SICH EINE LEICHTE VERDICHTUNG DER DURCH ANTI-HSP-60 BRAUN ANGEFÄRBTEN MITOCHONDRIEN IN RICHTUNG DER GLANZSTREIFEN DER KARDIOMYOZYTEN (PFEILE), JEDOCH AUCH LONGITUDINALE	

FÄRBUNG ENTLANG DER MYOFIBRILLEN. MAßSTABSBALKEN = 50 µM. BRAUN = FÄRBUNG GEGEN HSP-60, BLAU = ZELLKERNE. EMID = „ENRICHMENT OF MITOCHONDRIA IN CLOSE PROXIMITY TO INTERCALATED DISCS“. (TEIL DES MANUSKRIPTS „CHANGES IN MYOCARDIAL METABOLISM AND INFLAMMATION MODIFY PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TACHYCARDIOMYOPATHY – RESULTS FROM THE EMPATHY STUDY“ AKTUELL EINGEREICHT IN JACC).	55
ABBILDUNG 11: EMID-ZEICHEN DER INTENSITÄT 4. IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG VON HSP-60 IN EINER MYOKARDBIOPSIE. HIER ZEIGT SICH DEUTLICH DIE UMVERTEILUNG DER DURCH ANTI-HSP-60 BRAUN ANGEFÄRBTEN MITOCHONDRIEN ZU DEN GLANZSTREIFEN DER KARDIOMYOZYTEN (PFEILE). MAßSTABSBALKEN = 50 µM. BRAUN = FÄRBUNG GEGEN HSP-60, BLAU = ZELLKERNE. EMID = „ENRICHMENT OF MITOCHONDRIA IN CLOSE PROXIMITY TO INTERCALATED DISCS“. (TEIL DES MANUSKRIPTS „CHANGES IN MYOCARDIAL METABOLISM AND INFLAMMATION MODIFY PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TACHYCARDIOMYOPATHY – RESULTS FROM THE EMPATHY STUDY“ AKTUELL EINGEREICHT IN JACC).	56
ABBILDUNG 12: VERTEILUNG DER EMID-ZEICHEN INTENSITÄT IM PATIENTENKOLLEKTIV. VERTEILUNG DER EMID-ZEICHEN INTENSITÄTEN VON 0 BIS 4 VON INSGESAMT 38 BIOPSIEN, >60 % ZEIGEN EIN EMID-ZEICHEN, <40 % ZEIGEN KEIN EMID-ZEICHEN. EMID = „ENRICHMENT OF MITOCHONDRIA IN CLOSE PROXIMITY TO INTERCALATED DISCS“. (TEIL DES MANUSKRIPTS „CHANGES IN MYOCARDIAL METABOLISM AND INFLAMMATION MODIFY PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TACHYCARDIOMYOPATHY – RESULTS FROM THE EMPATHY STUDY“ AKTUELL EINGEREICHT IN JACC).	57
ABBILDUNG 13: ÄNDERUNG DER LVEF BEI UNTERSCHIEDLICHER INTENSITÄT DES EMID-ZEICHENS. DIE LVEF BEI PATIENTINNEN MIT NIEDRIGER EMID-ZEICHEN INTENSITÄT (0-2) STEIGT IM MITTEL VON RUND 32,1% AUF 48,9%, WÄHREND SIE BEI PATIENTINNEN MIT HOHER EMID-ZEICHEN INTENSITÄT (3-4) IM MITTEL NUR VON 33,2% AUF 40,4% ANSTEIGT. ** ZEIGT $P < 0,01$, **** ZEIGT $P < 0,0001$, LVEF = „LINKSVENTRIKULÄRE EJEKTIONSFRAKTION“, EMID = „ENRICHMENT OF MITOCHONDRIA IN CLOSE PROXIMITY TO INTERCALATED DISCS“. BALKEN ZEIGEN MITTELWERTE, FEHLERBALKEN ZEIGEN MINIMALEN UND MAXIMALEN WERT DER GRUPPE, N = 38.	58
ABBILDUNG 14: ÄNDERUNG DER LVEF BEI UNTERSCHIEDLICHER INTENSITÄT DES EMID-ZEICHENS (0-2 UND 3-4). DIE ERHOLUNG DER LVEF UNTERSCHIEDET SICH ZWISCHEN DEN GRUPPEN MIT GERINGER UMVERTEILUNG DER MITOCHONDRIEN (ENRICHMENT OF MITOCHONDRIA AT THE INTERCALATED DISCS (EMID-SIGN) 0-2) UND STARKER UMVERTEILUNG (EMID-SIGN 3-4). ZEIGT $P < 0,05$, LVEF = LINKSVENTRIKULÄRE EJEKTIONSFRAKTION. BALKEN ZEIGEN MITTELWERTE, FEHLERBALKEN ZEIGEN SEM, N = 38. EMID = „ENRICHMENT OF MITOCHONDRIA IN CLOSE PROXIMITY TO INTERCALATED DISCS“. (TEIL DES MANUSKRIPTS „CHANGES IN MYOCARDIAL METABOLISM AND INFLAMMATION MODIFY PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TACHYCARDIOMYOPATHY – RESULTS FROM THE EMPATHY STUDY“ AKTUELL EINGEREICHT IN JACC).	59
ABBILDUNG 15: KORRELATION ΔLVEF UND EMID-ZEICHEN INTENSITÄT. DAS Δ LVEF KORRELIERT NEGATIV MIT DER INTENSITÄT DES EMID-ZEICHENS ($P < 0.05$, $R^2 = 0,132$), N=38. LVEF = LINKSVENTRIKULÄRE EJEKTIONSFRAKTION. EMID = „ENRICHMENT OF MITOCHONDRIA IN CLOSE PROXIMITY TO INTERCALATED DISCS“. (TEIL DES MANUSKRIPTS „CHANGES IN MYOCARDIAL METABOLISM AND INFLAMMATION MODIFY PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TACHYCARDIOMYOPATHY – RESULTS FROM THE EMPATHY STUDY“ AKTUELL EINGEREICHT IN JACC).	60

ABBILDUNG 16: BEISPIEL DER QUANTIFIZIERUNG DES FIBROSE-ANTEILS. SIRIUS-RED-FÄRBUNG EINER BIOPSIE, FIBROSE = ROT, ÜBRIGES MYOKARD = GELB, DAS PRÄPARAT ZEIGT EXEMPLARISCH DIE INTENSITÄTSSTUFE 2 DER SEMIQUANTITATIVEN EVALUATION. MAßSTABSBALKEN ZEIGT 50 µM.	61
ABBILDUNG 17: MESSWERTE DER EINZELNEN BIOMARKER BEI EINSCHLUSS UND IM FOLLOW-UP. ALLE MESSWERTE WERDEN IN NG/ML BEI EINSCHLUSS (LINKER BALKEN) UND FOLLOW-UP (RECHTER BALKEN) ANGEZEIGT, BALKEN IM STREUDIAGRAMM ZEIGEN MITTELWERT, FEHLERBALKEN ZEIGEN SEM. ** ZEIGT $P < 0,01$, N.S. ZEIGT $P > 0,05$	66
ABBILDUNG 18: BIOMARKER KONZENTRATION BEI EINSCHLUSS UND IM FOLLOW-UP IM BEZUG ZUR LVEF. ERHOBENE MESSWERTE WERDEN IN ZWEI GRUPPEN BETRACHTET: $\Delta LVEF \leq 15\%$ (BLAU, N = 18 BEI EINSCHLUSS, N = 8 IM FOLLOW-UP), $\Delta LVEF > 15\%$ (HELLBLAU, N = 13 BEI EINSCHLUSS, N = 9 BEI FOLLOW-UP), BL = EINSCHLUSS, FU = FOLLOW-UP, * ZEIGT $P < 0,05$. BALKEN ZEIGEN MITTELWERT, FEHLERBALKEN ZEIGEN SEM. LVEF = LINKSVENTRIKULÄRE EJEKTIONSFRAKTION.	68
ABBILDUNG 19: KORRELATION VON C-REAKTIVEM PROTEIN BEI AUFNAHME IM BEZUG ZU $\Delta LVEF$. $P < 0,05$, $r^2 = 0,09431$. DIE X-ACHSE ZEIGT DELTA DER LINKSVENTRIKULÄREN EJEKTIONSFRAKTION ($\Delta LVEF$), DIE Y-ACHSE ZEIGT C-REAKTIVES PROTEIN (CRP) IN U/L, N = 53. MW CRP = 0,99, MIN = 0,02, MAX = 4,9. (TEIL DES MANUSKRIPTS „CHANGES IN MYOCARDIAL METABOLISM AND INFLAMMATION MODIFY PROGNOSIS IN PATIENTS WITH TACHYCARDIOMYOPATHY – RESULTS FROM THE EMPATHY STUDY“ AKTUELL EINGEREICHT IN JACC).	69
ABBILDUNG 20: BIOMARKER KONZENTRATIONEN BEI AUFNAHME IM BEZUG ZU $\Delta LVEF$. PLASMA-KONZENTRATIONEN SIND IN NG/ML ANGEZEIGT. ES ZEIGTE SICH KEINE SIGNIFIKANTE KORRELATION (ALLE EINZELGRAPHEN $P > 0,05$). X-ACHSE ZEIGT DELTA DER LINKSVENTRIKULÄREN EJEKTIONSFRAKTION ($\Delta LVEF$), Y-ACHSE ZEIGT ENTSPRECHENDEN BIOMARKER IN NG/ML BEI EINSCHLUSS. PUNKTE ZEIGEN DIE EINZELWERTE.	71

11 Abkürzungsverzeichnis

A

AAD	<i>Antiarrhythmikum (Anti-Arrhythmic Drug)</i>
ANP	<i>Atrial Natriuretic Peptide</i>
ATP	<i>Adenosin-Tri-Phosphat</i>

B

BNP	<i>See Brain-Natriuretic-Peptide</i>
-----------	--------------------------------------

C

CRP	<i>C-reactive protein</i>
Cx	<i>Connexin</i>

D

DCM	<i>Dilatative Kardiomyopathie</i>
-----------	-----------------------------------

E

EKG	<i>Elektrokardiographie</i>
EMID	<i>Enrichment of mitochondria in close proximity to intercalated discs</i>
ESC	<i>European Society of Cardiology</i>

H

h ₂ O ₂	<i>Wasserstoffperoxid</i>
HSP-60	<i>Heatshock-Protein-60</i>

I

ICAM-1	<i>Intercellular adhesion molecule-1</i>
ICM	<i>Inflammatorische Kardiomyopathie</i>
IGFBP-4	<i>Insulin like Growth factor binding protein-4</i>
IgG	<i>Immunglobulin-G</i>
IHC	<i>Immunhistochemie</i>

L

LVEDD	5, 39, 40, <i>Linksventrikulärer enddiastolischer Durchmesser</i>
LVEF	<i>Linksventrikuläre Ejektionsfraktion</i>

M

Mb	<i>Myoglobin</i>
MIF	<i>Myokardiale interstitielle Fibrose</i>

MMP-2	<i>Matrix-metallo-proteinase-2</i>
MMP-9	<i>Matrix-metallo-proteinase-9</i>
MPO	<i>Myeloperoxidase</i>
MRP-8/14	<i>Myeloid-related protein-8/14</i>
MW	<i>Mittelwert/mean</i>
N	
NGAL	<i>Neutrophil gelatinase-associated lipocalin</i>
NO	<i>Stickstoffoxid</i>
NYHA	<i>New York Heart Association</i>
O	
OPN	<i>Osteopontin</i>
P	
PBS	<i>Phosphate-buffered Saline</i>
S	
SAA	<i>Serum-Amyloid-A</i>
SD	<i>Standardabweichung</i>
SEM	<i>Standard error of mean</i>
T	
TCM	<i>Tachykardiomyopathie</i>
TCMP	<i>Tachykardie-induzierte Kardiomyopathie</i>
V	
VCAM-1	<i>See Vascular adhesion molecule-1</i>

12 Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Im Plasma der PatientInnen gemessene Biomarker (Biolegend LegendPlex Immunopanel klinische Chemie)	20
Tabelle 2: Für die Dissertation verwendete Geräte sowie deren Herstellerangaben.....	28
Tabelle 3: Für die Dissertation verwendete Softwares und deren Herstellerangaben.....	28
Tabelle 4: Für die Dissertation verwendete Chemikalien/Lösungen und deren Herstellerangaben	29
Tabelle 5: Für die Dissertation verwendete Antikörper, IgG-Kontrollen und Färbelösungen.....	31
Tabelle 6: Für die Dissertation verwendeter Immunoassay der Biomarker-Bestimmung	32
Tabelle 7: Charakteristika des Kollektivs bei Einschluss. (n=53)	42

Tabelle 8: Art der Rhythmus- oder Frequenzkontrolle sowie postinterventionelle Medikation. (n=53, % in Bezug auf Gesamtkollektiv)	43
Tabelle 9: Echokardiographische Daten der PatientInnen bei Einschluss. (n=53, % in Bezug auf Gesamtkollektiv).....	45
Tabelle 10: Echokardiographische Daten der PatientInnen im follow-up. (n=47, % in Bezug auf Gesamtkollektiv).....	46
Tabelle 11: Elektrokardiographische Daten der PatientInnen bei Einschluss. (n=53, % in Bezug auf Gesamtkollektiv).....	49
Tabelle 12: Elektrokardiographische Daten der PatientInnen im follow-up. (n=47, % in Bezug auf Gesamtkollektiv).....	51
Tabelle 13: Mittlere Durchmesser in zellulären Querschnitten. (n=20)	62
Tabelle 14: Messwerte der Biomarker bei Einschluss und follow-up	64

13 Danksagung

Ich danke Herrn Univ. Prof. Dr. med. Meinrad P. Gawaz, Herrn PD Dr. med. David Heinzmann sowie Herrn Prof. Dr. med. Peter Seizer für die kontinuierliche Unterstützung während der gesamten Promotion sowie darüber hinaus, die ständige Beratung im Rahmen regelmäßiger Besprechungen und die inhaltliche Unterstützung durch wissenschaftliche Expertise. Durch die kontinuierliche Diskussion meiner Arbeit konnte ich viel lernen und mein wissenschaftliches Denken stetig erweitern.

Weiterhin möchte ich Herrn Dr. med. Malte Kranert für die Hilfe bei der klinischen Auswertung sowie Frau Daniela Eißler für die Durchführung des Immunoassays und Frau Dr. rer. nat. Saskia von Ungern-Sternberg, Frau Dr. rer. nat. Anne-Katrin Rohlfing, Herrn Dr. med. Manuel Sigle, Frau Kyra Kolb und Frau Valerie Dicenta und allen weiteren MitarbeiterInnen des Forschungslabors für die tagtägliche Unterstützung bei Fragen rund um die Laborarbeit danken.

Expliziter Dank gilt den PatientInnen, die ihr Einverständnis für die Untersuchung gegeben haben und ohne welche diese Forschungsarbeit nicht zu Stande gekommen wäre. Weiterhin möchte ich mich beim Promotionsbüro der medizinischen Fakultät in Tübingen für die Förderung meines Projektes und meiner Person sowie bei Dr. You-Shan Feng für die statistische Beratung bedanken.