

Aus der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Malte Kelm

# T2 Mapping Analyse steigert die Genauigkeit der MRT basierten Myokarditis Diagnostik.

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Maximilian Claus Spieker

2017

## Angabe der Referenten

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Referent: PD Dr. med. Ralf Westenfeld

Korreferent: PD Dr. med. Patric Kröpil

## Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

### Originalarbeiten:

Bönner, F., Janzarik, N., Jacoby, C., Spieker, M., Schnackenburg, B., Range, F., Butzbach, B., Haberkorn, S., Westenfeld, R., Neizel-Wittke, M., Flögel, U., Kelm, M. (2015). Myocardial T2 mapping reveals age- and sex-related differences in volunteers. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance: Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*, 17(1), 9. Impact Factor: 5.11

Bönner, F., Spieker, M., Haberkorn, S., Jacoby, C., Flögel, U., Schnackenburg, B., Reinecke, P., Kelm, M., Westenfeld, R. (2016). Myocardial T2 Mapping Increases Noninvasive Diagnostic Accuracy for Biopsy-Proven Myocarditis. *JACC. Cardiovascular Imaging*. <http://doi.org/10.1016/j.jcmg.2015.11.014>. Impact Factor: 7.815

## Zusammenfassung

Hintergrund: Die Myokarditis ist eine inflammatorische Erkrankung des Myokards mit einer Prävalenz von bis zu 0.1% in der Allgemeinbevölkerung und einem variablem klinischen Verlauf von subakuter Symptomatik bis hin zur Entwicklung eines kardiogenen Schocks, sodass eine sichere Diagnostik wünschenswert ist. Neben dem Goldstandard der Endomyokardbiopsie (EMB), die als einzige Methode eine exakte Erregerdiagnostik des entzündlichen Infiltrats ermöglicht, spielt die Magnetresonanztomographie (MRT) eine zunehmende Rolle in der Diagnosestellung. Vor allem im akuten Krankheitsstadium ist die Sensitivität der konventionellen MRT Bildgebung eingeschränkt. Seit kurzem haben parametrische MRT Verfahren wie das T2 Mapping Eingang in den Alltag der klinischen MRT Bildgebung gefunden. Bisher gibt es allerdings nur wenige Studien, die die Wertigkeit dieser Verfahren im Rahmen der Myokarditis Diagnostik untersucht haben.

Hypothese: T2 Mapping erhöht die Sensitivität und Spezifität der MRT basierten Diagnostik bei Patienten mit klinisch wahrscheinlicher akuter Myokarditis.

Methode: In einer prospektiven Beobachtungsstudie wurden 60 Patienten mit der Diagnose einer klinisch wahrscheinlichen akuten Myokarditis gemäß den Leitlinien der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie (ESC) eingeschlossen. Dazu gehören eine definierte klinische Symptomatik von weniger als 14 Tagen, sowie laborchemische oder bildgebungstechnische Hinweise in der Diagnostik. Eine relevante koronare Herzerkrankung wurde bei allen Patienten über 35 Jahren mittels Koronarangiographie ausgeschlossen. 64 gesunde Probanden gleichen Alters dienten als Kontrollgruppe. Die Ethikkommission der HHU Düsseldorf hat diese Studie im Vorfeld genehmigt (Studiennummer 4307).

Die MRT Untersuchung erfolgte an einem 1.5 Tesla MRT nach aktuellen Empfehlungen der ESC mit folgenden Sequenzen zur Myokarditis Diagnostik: Late Gadolinium Enhancement (LGE) und T2 weighted Imaging (T2w), sowie T2 Mapping mit einer Gradienten Spin Echo Sequenz (GRASE: 15 T2 Echos je 10ms, 3 Kurzachsenschnitte).

37 der 60 Patienten erhielten innerhalb von 48 Stunden um die MRT zusätzlich eine EMB.

Ergebnisse: In *ex-vivo* Phantomexperimenten zeigte sich, dass mit zunehmendem Wassergehalt im Gewebe die T2 Relaxationszeiten anstiegen.

70% der Patienten mit klinisch wahrscheinlicher akuter Myokarditis wiesen in der EMB ein entzündliches Infiltrat i.S. einer Myokarditis auf. Die Patienten mit bioptisch nachgewiesener akuter Myokarditis zeigten sowohl global erhöhte T2 Zeiten als auch vergrößerte Myokardbereiche mit erhöhter T2 Relaxationszeit im Vergleich zur Kontrollgruppe (14.7±9.4% vs. 3.3±2.7% Myokard mit einer T2 Zeit >80ms; p<0.001). *Receiver operating curve* Analysen erzielten bei einem definierten *cut-off* von über 7.6% Myokard mit einer T2 Zeit oberhalb von 80 ms eine Sensitivität von 92% und eine Spezifität von 90% im Kollektiv der bioptisch gesicherten Myokarditis im Vergleich zur Kontrollgruppe. Verglichen mit den konventionell etablierten Parametern lässt sich durch die Kombination verschiedener MRT Verfahren eine Steigerung der Sensitivität in der Myokarditis Diagnostik darstellen (Kombination aus T2w Imaging + LGE + T2 Mapping: Sensitivität 97%, Spezifität 90%, *accuracy* 93%).

Zusammenfassung: Die konventionellen MRT Verfahren ergänzen sich mit dem Goldstandard EMB in der Diagnostik der akuten Myokarditis. T2 Mapping verbessert Sensitivität und Spezifität der aktuell empfohlenen Kardio-MRT Verfahren in der Myokarditis Diagnostik.

## Abkürzungsverzeichnis

ACS	Akutes Koronarsyndrom
bpAMC	bioptisch nachgewiesene Myokarditis
BSG	Blutsenkungsgeschwindigkeit
CAR	Coxsackie-Adeno-Virus Rezeptor
CMR	kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie
CRP	C-reaktives Protein
DAF	<i>human decay accelerating factor</i>
DCM	Dilatative Kardiomyopathie
ECHO	Echokardiografie
EPI	<i>Echo-planar-imaging</i> Sequenz
EF	Ejektionsfraktion
EGE	<i>Early Gadolinium Enhancement</i>
EKG	Elektrokardiogramm
EMB	Endomyokardbiopsie
ESC	<i>European Society of Cardiology</i>
FCS	<i>fetal calb serum</i>
g	Gramm
GRASE	Gradienten Spinecho Sequenz
HIV	<i>human immunodeficiency virus</i>
HKU	Herzkatheteruntersuchung
HLA	<i>human leucoyte antigen</i>
IHC	Immunhistochemie
KHK	Koronare Herzerkrankung
LCA	<i>leucocyte common antigen</i>
LLC	Lake-Louise-Kriterien
LV	Linker Ventrikel
LVEDP	Linksventrikulärer Enddiastolischer Druck
mg	Milligramm
min	Minuten
ml	Milliliter
n	Anzahl
l	Liter
LGE	Late Gadolinium Enhancement
MRT	Magnetresonanztomographie
PAR2	<i>protease-activated-receptor-2</i>
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i>
RR	Blutdruck
RVEDP	Rechtsventrikulärer Enddiastolischer Druck
sAMC	klinisch wahrscheinlich akute Myokarditis
sAMC+EMBneg	Patienten mit klinisch wahrscheinlich akuter Myokarditis mit negativer EMB
sAMC-EMB	Patienten mit klinisch wahrscheinlich akuter Myokarditis ohne durchgeführte EMB
TNF-alpha	Tumornekrosefaktor-alpha
TSE	Turbospinecho Sequenz
T2w Imaging	T2 weighted Imaging
UKD	Uniklinik Düsseldorf

# I. Inhaltsverzeichnis

<b>ANGABE DER REFERENTEN</b>	<b>2</b>
<b>AUFLISTUNG PUBLIKATIONEN</b>	
<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>I</b>
<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS</b>	<b>II</b>
<b>I. EINLEITUNG</b>	<b>1</b>
1.1 ALLGEMEINE EINFÜHRUNG .....	1
1.2 DEFINITION MYOKARDITIS .....	2
1.3 EPIDEMIOLOGIE .....	3
1.4 ÄTIOLOGIE .....	3
1.5 PATHOGENESE .....	5
1.5.1 <i>Virusaufnahme und Entzündungsausbreitung</i> .....	5
1.5.2 <i>Mechanismen myokardialer Schädigung</i> .....	7
1.5.3 <i>Rolle als Wegbegleiter der DCM</i> .....	8
1.6 SYMPTOME .....	8
1.7 DIAGNOSTIK .....	9
1.7.1 <i>Laborbefunde</i> .....	9
1.7.2 <i>Elektrokardiogramm</i> .....	9
1.7.3 <i>Echokardiographie</i> .....	10
1.7.4 <i>Endomyokardbiopsie</i> .....	10
1.7.4.1 <i>Indikation zur EMB</i> .....	11
1.7.4.2 <i>Technik der EMB</i> .....	11
1.7.4.3 <i>Histologische Myokarditis Klassifikation SDallas Kriterien</i> .....	12
1.7.4.4 <i>Immunhistochemische Auswertung</i> .....	12
1.7.4.5 <i>Virusnachweis</i> .....	13
1.7.4.6 <i>Neue Biomarker</i> .....	13
1.8 <b>CARDIOVASKULÄRE MAGNETRESONANZTOMOGRAPHIE (CMR)</b> .....	13
1.8.1 <i>Allgemein</i> .....	13
1.8.2 <i>Physikalische Grundlagen</i> .....	14
1.8.2.1 <i>Kernspinresonanz</i> .....	14
1.8.2.2 <i>Relaxationsbegriff</i> .....	15
1.8.2.3 <i>Kontrastmittel Einsatz</i> .....	16
1.8.3 <i>Stellenwert in der Myokarditis Diagnostik</i> .....	16
1.8.3.1 <i>Klinische Erfahrung</i> .....	17
1.8.3.2 <i>Lake Louise Kriterien</i> .....	17
1.8.4 <i>Konventionelle Diagnosekriterien der Myokarditis im CMR</i> .....	17
1.8.4.1 <i>Darstellung von Fibrose und Nekrose (LGE)</i> .....	17
1.8.4.2 <i>Visualisierung von Hyperämie und kapillärer Schädigung (Early Gadolinium Enhancement)</i> .....	18
1.8.4.3 <i>T2 gewichtete Sequenzen zur Ödem Detektion</i> .....	19
1.9 <b>T2 MAPPING</b> .....	19
1.10 <b>THERAPIE DER MYOKARDITIS</b> .....	20
1.10.1 <i>Antivirale Therapie</i> .....	21
1.10.2 <i>Immunsuppressive Therapie</i> .....	21
1.11 <b>PROGNOSE</b> .....	21
1.12 <b>ZIELE DER ARBEIT</b> .....	22
<b>II. MATERIAL UND METHODEN</b>	<b>24</b>
2.1 <b>PATIENTENKOLLEKTIV/ PROBANDEN/ DATENGRUNDLAGE</b> .....	24
2.2 <b>EINSCHLUSSKRITERIEN</b> .....	25
2.3 <b>AUSSCHLUSSKRITERIEN</b> .....	26

2.4	EMB PROTOKOLL .....	26
2.5	BEHANDLUNG DER BIOPSIEN .....	27
2.6	PICROSIRIUSROTSTÄUBUNG .....	27
2.7	IMMUNHISTOCHEMISCHE FÄRBUNG .....	28
2.7.1	<i>Durchführung</i> .....	28
2.7.2	<i>Auswertungsmethodik</i> .....	30
2.8	MRT UNTERSUCHUNGSPROTOKOLL .....	31
2.8.1	<i>Kardiale Funktionsanalyse</i> .....	32
2.8.2	<i>T2 weighted Imaging</i> .....	32
2.8.3	<i>Late Gadolinium Enhancement</i> .....	32
2.8.4	<i>T2 Mapping</i> .....	32
2.9	BILDAUSWERTUNG DER T2 MAPS .....	34
2.9.1	<i>Segmentale Auswertung</i> .....	35
2.9.2	<i>Quantifizierung der Fläche mit T2 Zeiten über 80 ms</i> .....	37
2.10	MRT PHANTOMEXPERIMENTE ZUR T2 RELAXATIONSZEITMESSUNG .....	38
2.10.1	<i>ExZivo Versuch zur Korrelation von T2 Zeit und Wassergehalt</i> .....	38
2.10.2	<i>ExZivo Experiment zur globalen Wassergehaltsquantifizierung</i> .....	39
2.10.3	<i>ExZivo Darstellung eines lokalen Ödems</i> .....	39
2.11	STATISTISCHE TESTVERFAHREN .....	40
<b>III. ERGEBNISSE</b>		<b>42</b>
3.1	GRUNDLAGENVERSUCHE ZUR T2 RELAXATIONSZEITMESSUNG .....	42
3.1.1	<i>Einfluss des Wassergehalts auf die T2 Zeit</i> .....	42
3.1.2	<i>Detektion lokaler Ödeme im Schweinefleischmodell</i> .....	43
3.1.3	<i>Interobservervariabilität</i> .....	44
3.2	BESCHREIBUNG DES STUDIENKOLLEKTIVS .....	45
3.2.1	<i>Patientencharakteristika</i> .....	45
3.2.2	<i>Altersverteilung im Studienkollektiv</i> .....	47
3.3	QUANTITATIVE T2 ZEITANALYSE IM GESUNDEN MYOKARD UND BEI MYOKARDITIS PATIENTEN .....	48
3.3.1	<i>T2 Zeit Messung im gesunden Kontrollkollektiv</i> .....	48
3.3.2	<i>T2 Zeit Messung bei sAMC Patienten</i> .....	50
3.3.3	<i>Segmentale T2 Zeitanalyse bei gesunden Kontrollen und bei sAMC Patienten</i> .....	52
3.3.4	<i>Quantifizierung des inflammatorischen Myokardareals</i> .....	54
3.3.5	<i>Klinisches Korrelat der T2 Zeit</i> .....	55
3.4	HISTOLOGISCHE AUSWERTUNG DER MYOKARDBIOPSNIEN .....	59
3.4.1	<i>Virusnachweis</i> .....	59
3.5	SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT VON T2 MAPPING BEI MYOKARDITIS PATIENTEN .....	60
3.6	GEGENÜBERSTELLUNG DER T2 MAPPING TECHNOLOGIE MIT KONVENTIONELLEN CMR PARAMETERN .....	63
3.6.1	<i>LGE bei sAMC Patienten</i> .....	63
3.6.2	<i>LGE und T2 Mapping</i> .....	63
3.6.3	<i>T2 weighted Imaging bei Myokarditis Patienten</i> .....	66
3.6.4	<i>Sensitivität und Spezifität der konventionellen Verfahren</i> .....	66
3.6.5	<i>T2 Mapping und konventionelle CMR Verfahren im Vergleich zur EMB</i> .....	67
<b>IV. DISKUSSION</b>		<b>71</b>
4.1	GRUNDLAGEN DER T2 RELAXATIONSZEITMESSUNG .....	71
4.1.1	<i>Korrelation von Wassergehalt und T2 Zeit</i> .....	71
4.1.2	<i>Physiologische Grundlagen</i> .....	71
4.1.3	<i>Detektion lokaler Ödeme im Muskelgewebe</i> .....	72
4.2	EVALUATION DER QUANTITATIVEN T2 ZEITANALYSE VIA T2 MAPPING IM GESUNDEN HERZEN .....	72
4.2.1	<i>Verteilung der T2 Zeit im Myokard</i> .....	73
4.2.2	<i>Einflussfaktoren auf die T2 Zeit</i> .....	73
4.2.3	<i>Interobservervariabilität</i> .....	75
4.3	QUANTITATIVE T2 ZEITANALYSE MITTELS T2 MAPPING BEI AKUTER MYOKARDITIS .....	75
4.3.1	<i>Klinische Präsentation</i> .....	75

4.3.2	<i>T2 Zeitanalyse im entzündeten Myokard</i> .....	76
4.3.3	<i>Quantifizierung des inflammatorischen Myokardareals</i> .....	77
4.3.4	<i>Lokalisation der T2 Zeit Erhöhung im Herzen bei Myokarditis</i> .....	78
4.3.5	<i>Nachweis einer Struktur-Funktionsbeziehung mittels T2 Mapping</i> .....	79
4.4	VALIDIERUNG VON T2 MAPPING AM GOLDSTANDART EMB.....	82
4.4.1	<i>sampling error</i> .....	82
4.4.2	<i>Konkordanz von Biopsie und T2 Mapping</i> .....	83
4.5	EVALUATION DER SENSITIVITÄT UND SPEZIFITÄT VON T2 MAPPING IN DER MYOKARDITIS DIAGNOSTIK .....	84
4.6	GEGENÜBERSTELLUNG VON T2 MAPPING UND DEN KONVENTIONELLEN MRT VERFAHREN IM RAHMEN DER DIAGNOSTIK .....	85
4.6.1	<i>Übereinstimmung von LGE und T2 Mapping</i> .....	85
4.6.2	<i>Limitationen von T2w Imaging</i> .....	86
4.6.3	<i>Erhöhte Sensitivität durch Kombination verschiedener CMR Kriterien</i> .....	87
4.6.4	<i>Klinische Relevanz der Lake Louise Kriterien</i> .....	87
4.6	LIMITATIONEN DER STUDIE .....	89
<b>V.</b>	<b>SCHLUSSFOLGERUNGEN</b>	<b>90</b>
<b>VI.</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b>	<b>92</b>

# I. Einleitung

## 1.1 Allgemeine Einführung

Die Myokarditis ist eine inflammatorische Erkrankung des Myokards, die aufgrund ihres klinisch oft milden Verlaufs selten diagnostiziert wird. Ursache hierfür ist, dass die Endomyokardbiopsie (EMB) als Goldstandard zur Diagnostik vor allem bei schweren Verläufen mit ausgeprägter klinischer Symptomatik und eingeschränkter linksventrikulärer Funktion durchgeführt wird. (Cooper et al., 2007) Die Prävalenz der Myokarditis in der Allgemeinbevölkerung liegt bei 0.1% bis 5% in Autopsie Studien. (Carniel et al., 2004) Bis zu einem Viertel der an akuter Myokarditis erkrankten Patienten erleiden eine progrediente Verschlechterung der linksventrikulären Funktion, sodass bei jedem zwanzigsten Patienten infolge einer akuten Myokarditis in den folgenden Jahren eine Herztransplantation notwendig wird. (A. L. P. Caforio et al., 2013) (McCarthy et al., 2000) Häufiger noch (bei jedem fünften Patienten mit akuter Myokarditis) lässt sich der Übergang in eine Dilatative Kardiomyopathie (DCM) beobachten. (D'Ambrosio et al., 2001) Allein diese Zahlen verdeutlichen den *medical need* zu einer einfachen, gut verfügbaren und sicheren Diagnostik der akuten Myokarditis.

Die kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie (CMR) hat sich in den vergangenen Jahren zu einem modernen Diagnoseverfahren der akuten Myokarditis entwickelt. (Matthias G Friedrich et al., 2009) (Esposito et al., 2015) Die Vorteile der CMR liegen in einer zeitgleichen Beurteilung von kardialer Funktion, myokardialer Struktur und Inflammation sowie in der non-invasiven ambulant durchführbaren Diagnostik. Differenzierte Sequenzen ermöglichen die Darstellung von Fibrose (Narbengewebe), Ödem und Inflammation. Studien zur Diagnostik der akuten Myokarditis geben Sensitivitätswerte im Bereich von 70 bis 90% an, validiert an den Befunden der Myokardbiopsien. (Lurz, Eitel, Adam, Steiner, Grothoff, Desch, Fuernau, de Waha, et al., 2012) (Dickerson, Raman, Baker, & Leier, 2013) (De Cobelli et al., 2006) (Mahrholdt et al., 2004) (Francone et al., 2014b) Dennoch erscheint die diagnostische Genauigkeit der CMR gerade bei Patienten in akutem Krankheitsstadium und bei neu aufgetretener Herzinsuffizienz unbefriedigend. Um die Sensitivität der CMR für diese Patienten weiter zu verbessern, werden neue Methoden evaluiert die Patienten mit kardialer Beschwerdesymptomatik in unterschiedlichen Krankheitsstadien identifizieren und eine Risikostratifizierung für ein individuelles therapeutisches Vorgehen ermöglichen, um so langfristig die Prognose zu verbessern. (Raman & Siddiqui, 2014) Quantitative

Analyseverfahren könnten hier eine Option zur differenzierten Analyse der CMR Aufnahmen darstellen.

In der vorliegenden Arbeit haben wir eine T2 Mapping Sequenz in der Diagnostik der akuten Myokarditis evaluiert. Bisherige Studien zu T2 gewichteten Verfahren legen eine Korrelation von T2 Zeit und Wassergehalt im Gewebe nahe. (Higgins et al., 1983) (Giri et al., 2009) Dieser Zusammenhang soll es ermöglichen Ödeme im Myokard zu detektieren die im Rahmen des akuten Entzündungsvorgangs entstehen. Durch das Mapping Verfahren sollen die Nachteile bisheriger T2 gewichteter Sequenzen (Artefaktanfälligkeit, Sensitivität) überwunden werden. (Eitel & Friedrich, 2011)

In dieser Arbeit untersuchen wir die Hypothese, dass die quantitative Analyse der T2 Zeit mittels T2 Mapping die Sensitivität der CMR basierten Myokarditis Diagnostik erhöht. Vor diesem Hintergrund haben wir die folgenden Ziele definiert:

- 1) Beschreibung einer möglichen Korrelation zwischen dem Wassergehalt im Gewebe und der Höhe der T2 Relaxationszeit im MRT in *ex-vivo* Phantomversuchen.
- 2) Evaluation der quantitativen T2 Zeit im gesunden Myokard anhand von MRT Untersuchungen an gesunden Kontrollen. Anschließend soll die T2 Zeit bei Patienten mit Myokarditis untersucht werden.
- 3) Beurteilung der Sensitivität und Spezifität des T2 Mapping zur Diagnostik der Myokarditis im Kollektiv der bioptisch gesicherten Myokarditis und bei Patienten mit klinisch verdächtiger akuter Myokarditis ohne durchgeführte Myokardbiopsie.
- 4) Gegenüberstellung der T2 Mapping Technologie mit den konventionellen Methoden der CMR basierten Myokarditis Diagnostik.
- 5) Beschreibung einer Korrelation von pathologisch gesteigerter T2 Zeit und linksventrikulärer Funktion im Sinne einer Struktur-Funktionsbeziehung.

## **1.2 Definition Myokarditis**

Die Myokarditis ist eine entzündliche Erkrankung des Myokards, welche durch infektiöse Erreger, chemische und physikalische Noxen verursacht werden kann und ein klinisch breites Erscheinungsbild aufweist. (Schultheiss, Khl, & Cooper, 2011)

Die Erkrankung kann sich akut innerhalb weniger Tage manifestieren oder chronisch in einem Zeitraum von mehreren Monaten progredient fortschreiten. Das klinisch vielfältige

Erscheinungsbild bedingt eine nicht immer eindeutige Abgrenzung zu anderen Krankheitsentitäten, wie dem akuten Koronarsyndrom (ACS) oder der DCM.

Die Diagnosestellung erfolgt durch histologische, immunhistochemische und molekularbiologische Aufarbeitung von Myokardgewebe, das im Rahmen einer EMB gewonnen wird.

Anhand des dominierenden inflammatorischen Zelltyps lassen sich lymphozytäre, eosinophile, polymorphe und kardio-sarkoidotische Formen, sowie die Riesenzellmyokarditis unterscheiden. (A. L. P. Caforio et al., 2013) (Kindermann, Barth, Mahfoud, Ukena, Lenski, Yilmaz, Klingel, Kandolf, Sechtem, Cooper, & Bhm, 2012) Weiter differenzieren lässt sich zwischen einer viralen Form, einer autoimmunen Form und einer viralen und immunologischen Form der Myokarditis. (A. L. P. Caforio et al., 2013)

### **1.3 Epidemiologie**

Die Prävalenz der Myokarditis wird aufgrund der unterschiedlichen klinischen Erscheinungsform und des oft inapparenten Verlaufs in der Literatur unterschiedlich hoch eingestuft. In der Allgemeinbevölkerung wird die Prävalenz der Erkrankung durch Autopsie Studien auf 0.1% bis 5% beziffert. (Carniel et al., 2004)

In bestimmten Bevölkerungsgruppen wird die Erkrankung deutlich häufiger angetroffen: Tatsächlich belegen Autopsie Studien bei jedem fünften Adoleszenten mit plötzlichem Herztod histologische Zeichen einer akuten Myokarditis (Drory et al., 1991) (Basso, 2001) (Fabre & Sheppard, 2006) Schätzungen gehen davon aus, dass eine akute Myokarditis für 10% aller akuten Herzinsuffizienzen unbekannter Ursache verantwortlich ist. (Eckart, 2004) (Doolan, Langlois, & Semsarian, 2004)

In etwa jeder fünfte an Myokarditis erkrankte Patient entwickelt im weiteren Krankheitsverlauf eine progressive kardiale Funktionsverschlechterung, die den Übergang zur DCM kennzeichnet. (Billingham & Tazelaar, 1986) (D'Ambrosio et al., 2001) (Dennert, Crijns, & Heymans, 2008)

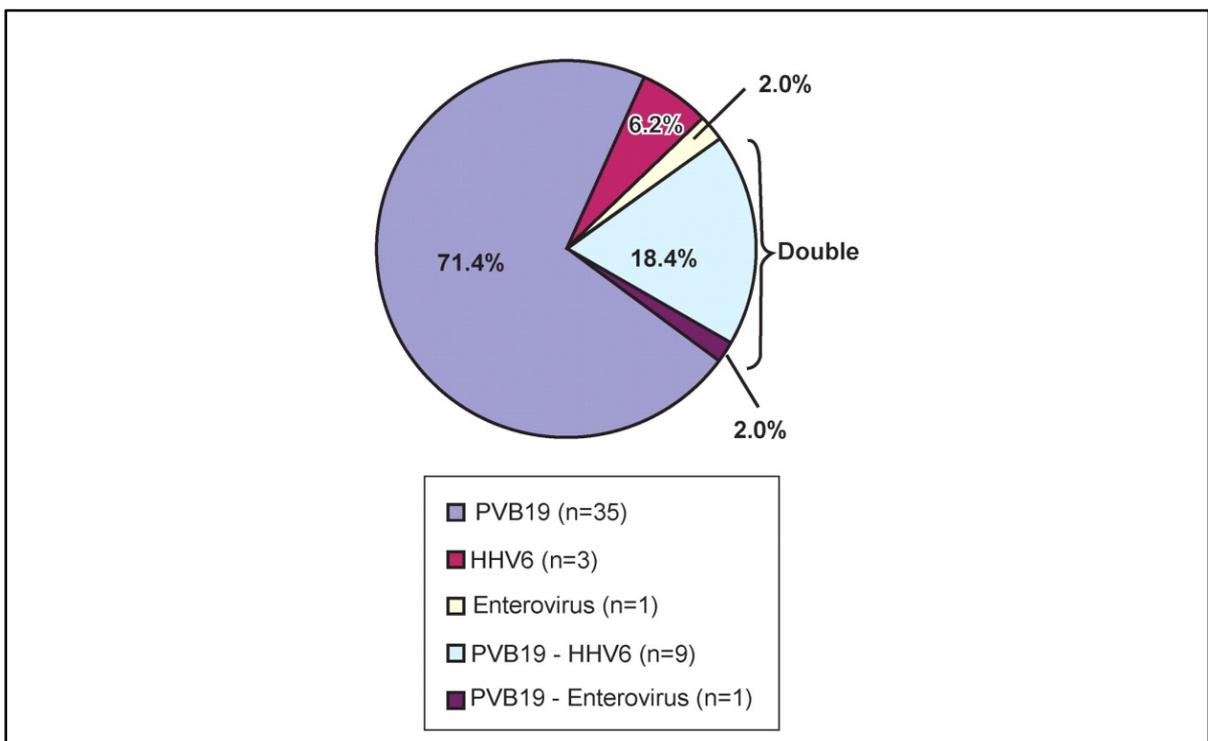
### **1.4 Ätiologie**

In Deutschland und Europa stellt die virale Infektion mit kardiotropen Viren die Hauptursache für Myokarditiden dar, auch wenn in bestimmten Endemiegebieten wie in mittel- und südamerikanischen Ländern die Chagas-Krankheit, ausgelöst durch eine Infektion mit *Trypanozoma Cruzi*, die führende Ursache einer Myokarditis mit Herzinsuffizienz ist. (Feldman, 2000) (Bonney & Engman, 2015) (Bonney, 2014).

### Virale Erreger

Die wichtigsten Erreger die für eine Infektion verantwortlich sind, sind Adeno-, Entero-, Cytomegalie-, Herpes simplex -1, 2, 6, Parvovirus B19 und das Rhinovirus. (Kühl, Pauschinger, Noutsias, et al., 2005) (Kühl, Pauschinger, Seeberg, et al., 2005) (Kandolf, 2004)

In Deutschland ist Parvovirus B19 der am häufigsten nachgewiesene virale Erreger, gefolgt von einer Doppelinfektion aus Parvovirus B19 und dem Humanem Herpes Virus 6, sowie einer Einzelvirus Infektion mit dem Humanem Herpes Virus 6. Eine geringe Rolle spielen zudem Enteroviren. (Abbildung 1) (Gutberlet et al., 2008) Weitere Studien, die die Virusätiologie in EMB untersuchten, wiesen ähnliche Ergebnisse auf. (Pankuweit, 2003) (Calabrese, Carturan, & Thiene, 2010) (Lurz, Eitel, Adam, Steiner, Grothoff, Desch, Fuernau, De Waha, et al., 2012)



**Abb. 1 Virusverteilung in Deutschland.** Die Abbildung zeigt die Verteilung kardirotroper Viren, die mittels PCR Analyse aus den Endomyokardbiopsien von 47 Patienten mit Myokarditis isoliert wurden. Parvovirus B19, Humanes Herpes Virus 6 und Enteroviren waren die am häufigsten detektierten Virustypen. 80% der Patienten wiesen eine Einzelinfektion auf. 20% zeigten eine Doppelinfektion mit zwei verschiedenen Virustypen. Quelle: (Gutberlet et al., 2008)

### *Weitere Ursachen*

Darüber hinaus gelten bestimmte Bakterien (u.a. *Mycobacterium tuberculosis* und *Corynebacterium diphtheria*), sowie Pilze, Würmer, Spirochäten, Protozoen und Rickettsien als weitere Verursacher einer Myokarditis.

Abzugrenzen hiervon sind autoimmune Ursachen und systemische Autoimmunerkrankungen, die mit der Erkrankung einhergehen können. An dieser Stelle müssen der systemische Lupus erythematodes, die Dermatomyositis, das Sjögren Syndrom, sowie weitere Kollagenosen (Sklerodermie), aber auch Morbus Crohn und die Wegener Granulomatose genannt werden. (A. L. P. Caforio et al., 2013)

Medikamente und Drogen können entweder direkt toxisch auf das Myokard wirken oder über eine Hypersensitivitätsreaktion eine Myokarditis auslösen. Zu nennen in diesem direkt toxischem Wirkmechanismus sind Anthrazykline sowie Cyclophosphamid, Phenytoin, Zidovudin und vermehrt Amphetamine. (Blauwet & Cooper, 2010) (J. Shi, Abdelwahid, & Wei, 2011) (Accordino, Neugut, & Hershman, 2014)

Bei der „Eosinophilen Myokarditis“ sind unterschiedliche Pathomechanismen von Bedeutung, die in einer Infiltration von eosinophilen Granulozyten münden. Das Churg-Strauss-Syndrom (Shanks, Ignaszewski, Chan, & Allard, 2003), Impfstoffe gegen Tetanus und Pocken, parasitäre Infektionen, sowie allergische Vorgänge spielen in diesem Zusammenhang eine Rolle. (Cassimatis et al., 2004) (Dilber et al., 2003)

## **1.5 Pathogenese**

Einigkeit herrscht darüber, dass virale und autoimmune Prozesse eine zentrale Rolle bei der Induktion und der weiteren Progression des Krankheitsverlaufes einnehmen. Liu P. et al. gliedern die Pathogenese der Myokarditis in drei Phasen: eine erste virale Phase, in der das Virus in die Myozyten eindringt und direkt schädigt, über eine zweite autoimmune Phase, in der Kreuz- und Autoantikörper körpereigene Proteine schädigen, gefolgt von der Phase des Übergangs in eine DCM im Sinne einer sich perpetuierenden Schädigung. (Liu & Mason, 2001)

### **1.5.1 Virusaufnahme und Entzündungsausbreitung**

Das heutige Wissen zum Entstehungsprozess der Myokarditis beruht hauptsächlich auf tierexperimentellen Studien an Mäusen nach Infektion mit kardiotropen Viren wie z.B. dem Coxsackie Virus B. Dieses Virus nutzt den Coxsackie-Adeno-Virus Rezeptor (CAR) an den Glanzstreifen des Myokards. (Bergelson, 1997) (Selinka, Wolde, Sauter, Kandolf, & Klingel, 2004) Eine Induktion dieses Rezeptors ohne parallele Virusinfektion trägt zur Entstehung

einer entzündlichen Kardiomyopathie bei. (Yuen, Smith, Caruso, Balan, & Opavsky, 2011) Neben sämtlichen Vertretern der Coxsackie Viren nutzen viele Enteroviren den Rezeptor zur Internalisierung. Die Coxsackie Viren B1, B3, B5 benötigen neben verschiedenen Kofaktoren den sog. *human decay accelerating factor* (DAF) um humane Zellen zu befallen und Adenoviren zusätzlich  $\alpha$ v-Integrine. DAF ist ein membranständiges Protein im Myokard welches C4b und C3b Fragmente erkennt und modulierende Wirkung auf das Komplementsystem entfaltet. Gleichzeitig dient es den Coxsackie Viren als Rezeptor. (Shafren et al., 1995) (Wickham, Filardo, Cheresch, & Nemerow, 1994)

Shi Y et al. konnten genetisch nachweisen, dass eine Elimination von CAR den Virusbefall der Zelle verhindert und dadurch die Inflammation des Myokards vermindert. (Y. Shi et al., 2009) Ähnliche Prozesse wurden bereits bei menschlichen Zellen beobachtet, die pathogenetische Bedeutung ist jedoch im humanen System nicht endgültig geklärt.

Nachdem das Virus in die Zellen eingedrungen ist, breitet es sich via Zell-zu-Zell Kommunikation weiter aus, was zur Entstehung lokaler Entzündungsfoci und einer fortschreitenden Organinfektion beiträgt. (Kandolf, 2004) Die Dauer und Intensität der Immunantwort ist von zentraler Bedeutung für den weiteren Krankheitsverlauf.

Im Rahmen der Immunantwort werden verschiedene Zytokine hochreguliert und nehmen distinkte Rollen ein. Auf der einen Seite mindern sie die Entzündungsreaktion, auf der anderen Seite werden negative Effekte auf das Fortschreiten der Erkrankung beschrieben. Hierzu zählen Tumor-Nekrose-Faktor-alpha (TNF-alpha), Toll-like Rezeptoren, Stickstoffmonoxid und Komplementfaktoren. Mausstudien legen dar, dass TNF-alpha die Viruslast im Blut senkt gleichzeitig aber erhöhte TNF-alpha Konzentrationen zu einer erhöhten Mortalität in Mausstudien führten. (C.-H. Huang, Vallejo, Kollias, & Mann, 2009) Ähnliches gilt für Stickstoffmonoxid welches die Virusreplikation herunterreguliert, auf der anderen Seite, hervorgerufen durch eine erhöhte Sekretion von IL-10 und IFN-gamma, zu einer ausgeprägten Schädigung der Myozyten führen kann. (Szalay et al., 2006)

Weitere Faktoren wurden identifiziert die fördernden Einfluss auf die myokardiale Inflammation haben können. Hierzu zählt u.a. *protease-activated-receptor-2* (PAR2) der die frühe autoimmune Abwehr negativ beeinflusst und zu einer progressiven myokardialen Dysfunktion führt. Dies konnte in murinen Studien nachgewiesen werden. In humanen Myokardbiopsien wurde eine erhöhte Expression von PAR2 mit einer stärkeren myokardialen Inflammation und einer reduzierten linksventrikulären Ejektionsfraktion verknüpft. (Weithauser et al., 2013)

## **1.5.2 Mechanismen myokardialer Schädigung**

### *Zelluläre Immunantwort*

Infektiöse Auslöser der Myokarditis sowie die Autoimmunformen konvergieren auf der Ebene der zellulären Immunantwort. Sie basiert auf dem Influx von Monozyten, Makrophagen und T-Lymphozyten. T-Lymphozyten eliminieren Zellen, welche virale Peptidfragmente präsentieren über eine gesteigerte Zytokinproduktion und Perforin-basierte Zytolyse. Im Anfangsstadium der Erkrankung kann die Virusreplikation durch diese Mechanismen unter Kontrolle gebracht und das Virus ohne bleibende myokardiale Schädigung eliminiert werden. Die Erkrankung verläuft subklinisch und kann in kurzer Zeit ausheilen. Es ist auch möglich, dass Bestandteile des kontraktile Apparats im Myokard durch T-Lymphozyten angegriffen und zerstört werden, wodurch der Übergang der Myokarditis in eine DCM beschleunigt werden kann. (Liu & Mason, 2001)

### *Antikörper und Zytokine*

Die Produktion von Antikörpern durch B-Lymphozyten auf die Präsentation von viralen Peptiden oder auch körpereigenen Proteinen verstärkt den Inflammationsprozess. Neumann et al. konnten zeigen, dass Mäuse nach Coxsackie Virus B3 Infektion eine autoimmune Myokarditis entwickeln mit Autoantikörperproduktion gegen kardiales Myosin. (Neumann, Rose, Ansari, & Herskowitz, 1994) Zahlreiche weitere Studien stellen zudem eine Autoantikörperproduktion im Verlauf einer Myokarditis dar und weisen in diesem Zusammenhang auf ein erhöhtes Risiko für die Entstehung einer DCM hin. (A. L. Caforio, Mahon, & McKenna, 2001) (A. L. P. Caforio, Mahon, Tona, & McKenna, 2002) (Pankuweit, Portig, Lottspeich, & Maisch, 1997)

Durch eine persistierende T-Lymphozyten Aktivierung kommt es zur Freisetzung von Zytokinen wie Interleukin 1, 2 und 6, sowie TNF-alpha, die über eine Induktion von Zelladhäsionsproteinen (CAM) in eine weitere Invasion von immunkompetenten Zellen mündet. (M Noutsias, Seeberg, Schultheiss, & Kühl, 1999)

### *Direkte Virusschädigung*

Einige Viren entfalten einen direkt schädigenden Einfluss auf das Myokard. Proteolytisch wirkende Enzyme (z.B. Protease 2A) spalten kontraktile myokardiale Proteine (z.B. Dystrophin oder Sakroglykan) und bewirken dadurch bei chronischen Krankheitsverläufen mit inadäquater Viruselimination eine Abnahme der Kontraktionseigenschaften des Myokards

und perpetuieren die Entwicklung einer progredienten Herzinsuffizienz (Badorff et al., 1999) (Xiong et al., 2007)

### **1.5.3 Rolle als Wegbegleiter der DCM**

Der Übergang einer chronischen Myokarditis hin zur inflammatorischen DCM ist fließend und gekennzeichnet durch eine fortschreitende Degeneration des kontraktiven Apparates. Neben der angesprochenen autoimmunvermittelten Schädigung des Myokards und der Myozytendegeneration durch Persistenz viraler Erreger, führen Kawai et al. in ihrer Studie eine durch Viren vermittelte Apoptose als zusätzlichen Mechanismus an. (Kawai, 1999)

Histologisch lassen sich bei fortschreitender Erkrankung charakteristische Veränderungen mit einer Abnahme der kontraktiven Elemente im Myokard zugunsten von Bindegewebe mit konsekutiv verminderter Elastizität und vermehrter Steifigkeit nachweisen. Der Anteil an Kollagen III nimmt relativ stärker zu als die Konzentration an Kollagen I. (Pauschinger et al., 1999) In der Folge kann histologisch und klinisch das Bild einer DCM mit progredienter Fibrosierung und Abnahme der ventrikulären Funktion entstehen, welches oftmals in terminaler Herzinsuffizienz mündet. (Dec & Fuster, 1994) (McCarthy et al., 2000) (Braunwald, 2013)

## **1.6 Symptome**

Das klinische Erscheinungsbild der Myokarditis unterliegt einer starken Variabilität, von stummen Verläufen bis hin zum akuten kardiogenen Schock.

Bedingt durch die Virusinfektion im Vorfeld der Manifestation einer kardialen Beteiligung berichten viele Patienten über grippeähnliche Symptome. Fieber, Myalgien, Arthralgien, Leistungsschwäche, Müdigkeit sowie respiratorische und gastrointestinale Symptomen sind möglich. (A. L. P. Caforio et al., 2013) Oftmals werden unspezifische kardiale Beschwerden wie Brustschmerz, Palpitationen, Synkopen, Leistungsminderung und Dyspnoe beobachtet. Hufnagel G. et al haben in ihrer Studie 3055 Patienten mit inflammatorischer Kardiomyopathie untersucht. Von diesen gaben 72% Dyspnoe an, ein Drittel der Patienten hatte Brustschmerzen und jeder Fünfte klagte über Herzrhythmusstörungen. (Hufnagel, Pankuweit, Richter, Schönian, & Maisch, 2000) In einigen Fällen wird über eine typische Angina-Pectoris Symptomatik bei Erwachsenen berichtet, die einhergehen kann mit ST-Streckenhebungen im Elektrokardiogramm (EKG) und einem ACS ähnlich ist. (Nucifora et al., 2013) (Kumar et al., 2014) Bei 78% der Patienten mit klinischem Verdacht auf einen akuten Myokardinfarkt und normaler Koronarangiografie wurde eine Myokarditis diagnostiziert. (Sarda et al., 2001)

## 1.7 Diagnostik

### 1.7.1 Laborbefunde

Laborchemisch gibt es keine etablierten spezifischen Biomarker für eine Myokarditis. Indikatoren einer systemischen Entzündung wie das C-reaktive Protein (CRP), die Blutsenkungsgeschwindigkeit (BSG) oder die Leukozytenzahl sind häufig im akuten Stadium der Krankheit pathologisch erhöht, ermöglichen jedoch keine spezifische Diagnosestellung. (Blauwet & Cooper, 2010)

Troponin-I und Troponin-T Werte in der Laboruntersuchung sind oft über die Norm erhöht und geben Hinweise auf einen myokardialen Schaden, der im Rahmen der Erkrankung auftreten kann. Die Diagnose kann bei pathologischer Erhöhung der Laborwerte mit einer Sensitivität von 53% und einer Spezifität von 94% bei Patienten mit klinischem Verdacht auf eine Myokarditis gestellt werden. (Lauer et al., 1997) Andere Quellen beschreiben eine Sensitivität von 34% und eine Spezifität von 89% validiert an Patienten mit bioptisch nachgewiesener Myokarditis. (Smith, Ladenson, Mason, & Jaffe, 1997). Die Troponin Erhöhung im Serum im Rahmen einer Myokarditis besitzt keine prognostische Relevanz. (Ammann et al., 2003) (Grün et al., 2012).

Die Bestimmung der Virusserologie im Blut ist nach aktueller Datenlage von untergeordneter Bedeutung: Lediglich bei 5 von 124 Proben (4%) konnte eine Übereinstimmung der Virustypen zwischen Blut und EMB dokumentiert werden. (Mahfoud et al., 2011)

Neue innovative Laborparameter sollen neben der Diagnosestellung auch prognostische Wertigkeit erlangen: Hierzu könnten in Zukunft erhöhte *sFas*- und *sFasL*- Konzentrationen (lösliche Apoptose stimulierende Proteinefragmente) als Indikatoren einer ungünstigen Prognose weiter evaluiert werden. (K. Fuse et al., 2000) Analog dazu konnten erhöhte Interleukin-10 Serumkonzentrationen mit einer erhöhten Mortalität assoziiert werden. (Nishii et al., 2004) (Koichi Fuse et al., 2005) (Izumi & Nishii, 2012) Zusammenfassend ist in der klinischen Routine aber bisher weder ein Serummarker für die sichere Diagnosestellung noch, zur Prognoseabschätzung etabliert.

### 1.7.2 Elektrokardiogramm

Die Durchführung eines EKG ist bei Patienten mit klinischem Verdacht auf eine Myokarditis indiziert. (A. L. P. Caforio et al., 2013) Oftmals besteht eine Sinustachykardie, sowie infarktähnliche Abnormalitäten von ST-Streckenveränderungen bis hin zu Q-Zacken Bildung. (Wang, Asinger, & Marriott, 2003) (Kumar et al., 2014) Die Häufigkeit für das Auftreten von ST-Hebungen wird in Studien unterschiedlich hoch mit 39 bis 80% angegeben.

Bei mehr als einem Drittel der Myokarditis Patienten treten QRS-Komplex-Veränderungen im EKG auf. Eine erhöhte Mortalität konnte für die Patienten nachgewiesen werden, die eine verlängerte QRS-Dauer aufwiesen. (Jhamnani, Fuisz, & Lindsay, 2014) (Meléndez-Ramírez et al., 2014) (Di Bella et al., 2012) (Nucifora et al., 2013) Häufig präsentieren sich Patienten mit neu aufgetretenen Herzrhythmusstörungen. So bestehen oftmals supraventrikuläre wie auch ventrikuläre Arrhythmien oder Erregungsleitungsstörungen. (Ukena et al., 2011) Um selten auftretende Herzrhythmusstörungen zu detektieren ist die Durchführung eine Langzeit-EKGs angebracht.

### **1.7.3 Echokardiographie**

Die Echokardiographie ist sinnvoll zur Abklärung der systolischen und diastolischen Funktion des Herzens sowie zur Beurteilung der Ventrikelgröße, der Wanddicke und dem Ausschluss möglicher Thromben. Zudem können strukturelle Herzerkrankungen wie Herzklappenfehler ausgeschlossen werden. Bislang fehlen spezifische Kriterien zur Diagnosesicherung einer Myokarditis mit echokardiographischen Techniken. (Blauwet & Cooper, 2010) Viele Patienten weisen eine eingeschränkte linksventrikuläre Funktion auf, welche mit lokalen oder globalen Wandbewegungsstörungen einhergehen kann, sodass unter Umständen ein Myokardinfarkt vorgetäuscht wird. (Nieminen, Heikkilä, & Karjalainen, 1984) (Angelini et al., 2000) Eine reduzierte linksventrikuläre Funktion, insbesondere wenn diese sechs Monate nach Diagnosestellung persistiert, ist mit einer langfristig ungünstigen Prognose assoziiert. (Anzini et al., 2013) An neuen Möglichkeiten der Myokarditis Diagnostik in der Echokardiographie wird derzeit geforscht, sodass Methoden wie das *echo-based strain imaging/ mapping*, *speckle tracking echocardiography* oder *real-time myocardial contrast echocardiography* eventuell in Zukunft weitere Optionen darstellen. (Di Bella et al., 2008) (Afonso et al., 2010) (Escher et al., 2013)

### **1.7.4 Endomyokardbiopsie**

Die EMB wird als Goldstandard in der Diagnostik der Myokarditis angesehen. (Kindermann, Barth, Mahfoud, Ukena, Lenski, Yilmaz, Klingel, Kandolf, Sehtem, Cooper, & Bhm, 2012) (Thiene, Bruneval, Veinot, & Leone, 2013) (A. L. P. Caforio et al., 2013) Nur diese Methode ermöglicht bisher den direkten quantitativen und qualitativen Nachweis der Inflammation mit hochsensitiven immunhistochemischen Methoden. Zusätzlich gelingt mit Hilfe molekularbiologischer Untersuchungstechniken (PCR, *polymerase chain reaction*) ein direkter Erregernachweis (z.B. Viren) in den Biopsien. Weiterhin bietet die EMB den Vorteil, dass durch den gezielten Erregernachweis eine zielgerichtete Therapie erfolgen kann.

Eine schnelle immunsuppressive Therapie ist beispielsweise bei der Riesenzellmyokarditis prognostisch relevant. (Cooper et al., 2008) Die Diagnosestellung dieser Krankheitsentität ist nur durch die EMB möglich.

#### 1.7.4.1 Indikation zur EMB

In der Literatur finden sich unterschiedliche Angaben zur Indikationsstellung der EMB bei Patienten mit klinischem Verdacht auf eine Myokarditis. Cooper et al. beschreiben in ihrer Arbeit 14 Szenarien, die eine EMB notwendig machen. Zusammenfassend lässt sich festhalten: Die Indikation zur EMB ist gegeben bei klinischem Verdacht auf eine akute Myokarditis, gekennzeichnet durch neu aufgetretene Symptome akuter Herzinsuffizienz unbekannter Ursache mit oder ohne Dilatation der Ventrikel bei einem Krankheitsverlauf von weniger als zwei Wochen.

Außerdem wird eine Biopsie angeraten bei Patienten die Symptome einer Herzinsuffizienz mit progressiven Verlauf in einem Zeitraum von zwei Wochen bis zu drei Monaten aufweisen, in Kombination mit dilatierten Ventrikeln, neu aufgetretenen Herzrhythmusstörungen, höhergradigen AV-Blockierungen oder bei Therapieresistenz.

Auch bei bestehenden kardialen Beschwerden in einem Zeitraum von über drei Monaten kann eine EMB zur Klärung der Ursache unter bestimmten Umständen sinnvoll sein.

Darüber hinaus wird die Empfehlung zur Durchführung einer EMB bei verschiedenen anderen klinischen Fragestellungen ausgesprochen wie z.B. bei Verdacht auf eine Anthrazyklin-induzierte Myokarditis oder bei Verdacht auf eine allergie-induzierte oder eosinophile Myokarditis. (Cooper et al., 2007)

Andere Autoren in der Literatur sprechen großzügigere Empfehlungen zur Durchführung einer EMB aus. In den *ESC guidelines* wird eine EMB bei allen Patienten mit klinisch verdächtiger Myokarditis angeraten unter der Voraussetzung, dass das durchführende Zentrum auf ausreichend Erfahrung zurückgreifen kann. (A. L. P. Caforio et al., 2013)

#### 1.7.4.2 Technik der EMB

Die EMB erfolgt über einen transvenösen oder transarteriellen Zugang in lokaler Anästhesie. Nach Einlage einer Biopsieschleuse können mit Hilfe einer Biopsiezange fünf bis acht Stecknadelkopf große Proben, meist aus der rechtsventrikulären Seite des interventrikulären Septums entnommen werden. Seltener erfolgt die Biopsie des linken Ventrikels. Die Proben werden anschließend histologisch, immunhistochemisch, sowie molekularbiologisch aufgearbeitet und anhand definierter Kriterien ausgewertet. Die Untersuchung hat eine niedrige Komplikationsrate, die aber insbesondere auch vor dem Hintergrund der

prognostischen sowie therapeutischen Konsequenzen individuell für den Patienten abgewogen werden sollte: So traten in der Studie von Holzmann et al. die die Komplikationsrate bei 2415 biopsierten Patienten untersuchten, bei 3 Patienten (0.12%) schwere Komplikationen wie eine Perikardtampnade, einen Apoplex oder einen AV-Block III. Grades auf. (Holzmann et al., 2008) Neuere Studien geben die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von schweren Komplikationen mit 0.64% bei linksventrikulären und mit 0.82% für rechtsventrikuläre Biopsien an. (Yilmaz et al., 2010)

#### 1.7.4.3 Histologische Myokarditis Klassifikation - Dallas Kriterien

Nach den 1987 eingeführten „Dallas-Kriterien“ erfolgte die Diagnosestellung einer akuten Myokarditis anhand der EMB nach klassischen histologischen Kriterien. Man spricht von einer „Aktiven Myokarditis“ bei dem Vorliegen der histologischen Trias von Leukozyteninfiltrat, Myozytolyse und Ödem. Eine „Fortbestehende Myokarditis“ ist charakterisiert wie die „Aktive Myokarditis“ in einer durchgeführten Verlaufsbiopsie. Die „Abheilende Myokarditis“ ist gekennzeichnet durch ein rückläufiges Infiltrat, fakultative Myozytolyse, sowie eine reparative Fibrose. Die „Borderline Myokarditis“ zeichnet sich durch einzelne eingestreute Lymphozyten ohne Myozytolysen aus.

Bei dieser Art der Auswertung treten zwei Probleme auf, die durch neuere Methoden zum Teil minimiert werden konnten. Zum einen manifestiert sich eine Myokarditis häufig lokal begrenzt im Myokard, sodass Biopsien aus dem interventrikulärem Septum einer Seite unter Umständen nicht die Inflammation im gesamten Myokard repräsentieren (*sampling error*). Da 45% der Myokardbiopsien aus dem rechten Ventrikel falsch-negative Ergebnisse aufweisen, können nur positive Befunde zur Diagnostik herangezogen werden. (Shanes et al., 1987) Verbessert hat sich dagegen durch immunhistochemische Methoden die Interobservervariabilität.

Ein weiterer Nachteil der Auswertung mittels Dallas-Kriterien besteht in der fehlenden prognostischen Relevanz einer als „Aktiven Myokarditis“ evaluierten Biopsie. Dies wird ebenfalls durch die immunhistochemische Auswertung verbessert. Hier konnte ein schlechteres *outcome* für diejenigen Patienten mit immunhistochemischem Nachweis einer Myokarditis beschrieben werden. (Anzini et al., 2013)

#### 1.7.4.4 Immunhistochemische Auswertung

Durch immunhistochemische Färbemethoden können verschiedene Zelltypen identifiziert und voneinander abgegrenzt werden. Außerdem kann das inflammatorische Infiltrat qualitativ und quantitativ charakterisiert werden. Üblich ist der Nachweis von anti-CD 3 (T-Lymphozyten), anti-CD 4 (T-Helfer Zellen), anti-CD 20 (B-Lymphozyten), anti-CD 68 (Makrophagen),

sowie anti-humanen leukozytären Antigenen (HLA). Dadurch wurde die Interobservervariabilität reduziert. (Michel Noutsias, Pauschinger, Schultheiss, & Kahl, 2002) (A. L. P. Caforio et al., 2013) Zudem erhöhte die immunhistochemische Auswertung der Proben die Sensitivität und Spezifität der Diagnostik und führte zu neuen immunmodulatorischen Behandlungsansätzen. (Kindermann, Barth, Mahfoud, Ukena, Lenski, Yilmaz, Klingel, Kandolf, Sechtem, Cooper, & Böhm, 2012)

#### 1.7.4.5 Virusnachweis

Die hochsensitive und quantitative Bestimmung des Virus sowie der Viruslast innerhalb des Myokards durch molekularbiologische Methoden erlaubt Aussagen über Ursachen und Pathogenese der Erkrankung und könnte in Zukunft größeren Stellenwert auch mit Blick auf neue medikamentöse Behandlungsmethoden erlangen. (Cooper et al., 2007) (Andréoletti, Lévêque, Boulagnon, Brasselet, & Fornes, 2009)

#### 1.7.4.6 Neue Biomarker

Zur Zeit werden neue diagnostische Möglichkeiten zur Auswertung der Myokardbiopsien erforscht. Heidecker et al. untersuchten in *microarray* Analysen die Expression von verschiedenen Genen in Patienten mit lymphozytärer Myokarditis. Sogenannte Toll-like-Rezeptoren (Tlr 1, 2 und 7) sowie CD 14 Zellen waren in den Biopsien der Patienten deutlich überexprimiert. An weiteren prognostischen Biomarkern auf Transkriptomebene wird zur Zeit geforscht. (Heidecker et al., 2011) (Fallach et al., 2010)

## 1.8 Kardiovaskuläre Magnetresonanztomographie (CMR)

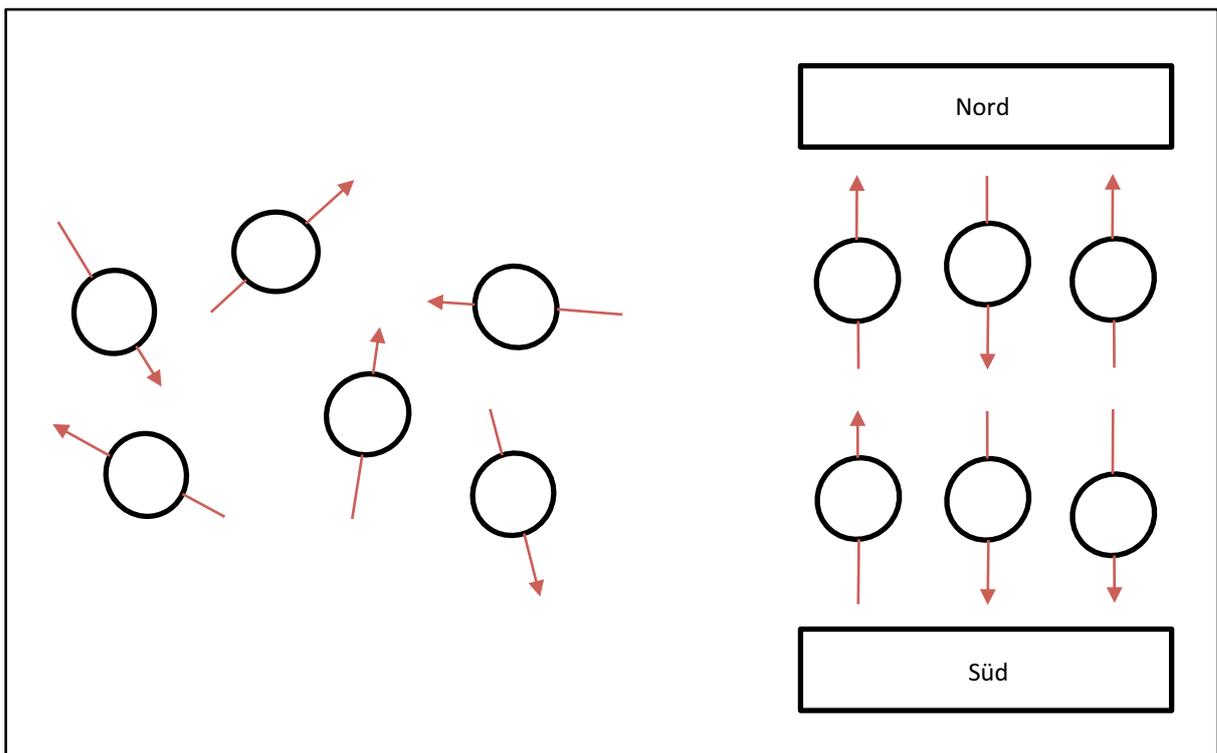
### 1.8.1 Allgemein

Die CMR hat sich in den letzten Jahren zu einer wichtigen Säule der kardialen Bildgebung entwickelt. Dafür verantwortlich ist die Tatsache, dass im CMR sowohl eine exakte Analyse der biventrikulären lokalen und globalen Funktion als auch eine genaue Betrachtung der myokardialen Textur (Hypertrophie, Läsionen etc.) möglich ist. Daher erlaubt das Verfahren eine differentialdiagnostische Abklärung unterschiedlicher kardialer Erkrankungen wie Herzklappenfehler, ischämischer bzw. dilatativer Kardiomyopathien oder der Myokarditis in einer einzigen Untersuchung. Neben dem Ischämienachweis ist die Untersuchung bei verschiedenen spezifischen Fragestellungen der myokardialen Texturanalyse indiziert, wie zum Beispiel zur Charakterisierung einer Amyloidose oder anderer Speichererkrankungen. (Kumar & Bagur, 2015)

## 1.8.2 Physikalische Grundlagen

### 1.8.2.1 Kernspinresonanz

Den physikalischen Grundstein der Technik bildet die Kernspinresonanz. Dieses Prinzip fußt auf den folgenden elementaren Eigenschaften des Atomkerns: 1. Masse, 2. Ladung und 3. Spin (Eigendrehimpuls). Durch Ladung und Drehimpuls besitzen Atomkerne ein messbares magnetisches Dipolmoment (Elementarmagnet). Wird nun ein äußeres, statisches magnetisches Feld angelegt, richtet sich der Atomkern in diesem entsprechend aus. (Abb. 2)

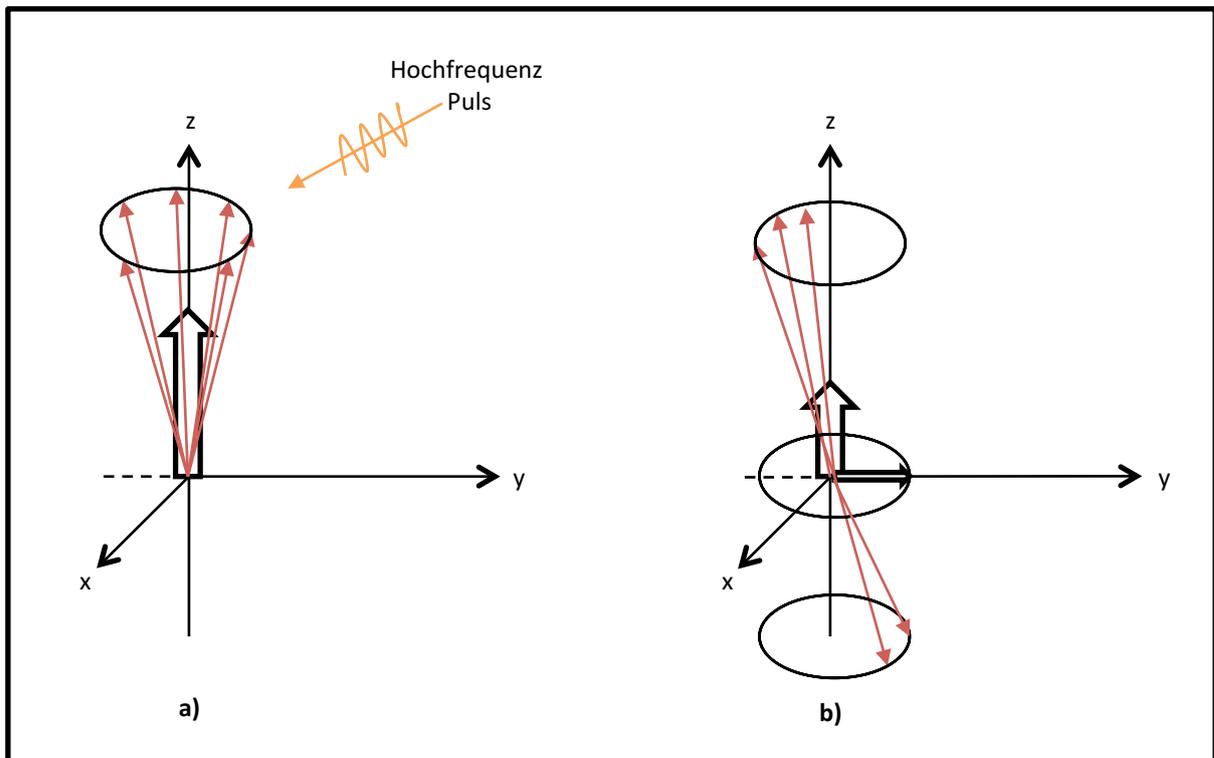


**Abb. 2 Kernspin und Längsmagnetisierung der Atomkerne.** Im normalen Zustand liegen die Atomkerne ungeordnet im Raum (links im Bild). Das ändert sich wenn ein starkes äußeres Magnetfeld angelegt wird. Die Atomkerne sind dann entweder parallel oder antiparallel zum Magnetfeld ausgerichtet (rechts im Bild). (Modifiziert nach Schild, 2005)

Innerhalb dieser Ausrichtbewegung, auch Präzessionsbewegung genannt, dreht sich die Drehimpulsorientierung des Kerns um die Richtung des angelegten Magnetfeldes. Dabei präzidieren sie immer dichter an das Magnetfeld heran, werden aber niemals ganz ausgerichtet. Die Präzessionsfrequenz ist abhängig von der Feldstärke des angelegten Magnetfeldes und der Art des präzedierenden Atomkerns (Lamorfrequenz). Mit folgender Gleichung wird die Lamorfrequenz berechnet:  $\omega_0 = \gamma \times B_0$ . Dabei gilt:  $\omega_0$ =Lamorfrequenz in Megahertz (MHz),  $\gamma$ =stoffspezifische Konstante, beträgt für Wasserstoffatome 42 MHz pro Tesla und  $B_0$ =Stärke des äußeren Magnetfeldes in Tesla (T). (Schild, 2005)

### 1.8.2.2 Relaxationsbegriff

Strahlt man nun Hochfrequenzimpulse mit der charakteristischen Larmorfrequenz ein, wird die Magnetisierung von der z-Achse ausgelenkt. (Abb. 3)



**Abb. 3 Magnetisierung nach Hochfrequenzimpulsen.** In einem äußeren Magnetfeld sind die Spins im Mittel entlang des Magnetfeldes (z-Achse) ausgerichtet (a). Ein Hochfrequenzimpuls hat zwei Effekte auf die Protonen: Es bringt die Protonen auf ein höheres Energielevel (rote Pfeile zeigen nach unten (b)) und führt dazu, dass die Protonen gleichzeitig präzidieren. Dadurch nimmt die Longitudinalmagnetisierung entlang der z-Achse ab und eine neue transversale Magnetisierung in der x-y-Ebene, die Transversalmagnetisierung, entsteht. RF pulse=Hochfrequenzpuls. (Modifiziert nach Schild, 2005)

Die Dauer und die Amplitude des Impulses bestimmen den Winkel dieser Auslenkung (Flip-Winkel). Nach jedem Hochfrequenzimpuls richten sich die Spins wieder in ihre frühere, energetisch günstigere Position im äußeren Magnetfeld aus. Dabei geben sie Energie in Form einer Hochfrequenzwelle an die Umgebung ab, welche als Information für die Bildentstehung genutzt wird. Dieses Phänomen wird durch den Begriff Relaxation beschrieben. Die Relaxationszeit gibt die Dauer an, die benötigt wird bis eine bestimmte Anzahl der Kerne in ihre Ausgangsposition zurück präzidiert ist. Die T1 Relaxation entspricht der longitudinalen Relaxation und beschreibt das Rückkippen des magnetischen Vektors nach dem Hochfrequenz-Impuls in Richtung des Magnetfeldes in einen energieärmeren Zustand. Die Zeitkonstante T1 ist von der Stärke des Magnetfeldes abhängig und gibt die Zeit an, in der 63% der ursprünglichen Longitudinalmagnetisierung erreicht ist. Die T2 Relaxation entspricht

der transversalen Relaxation. Die T2 Zeitkonstante gibt die Zeit an, in der die Transversalmagnetisierung auf 37% des Ausgangswertes zurückgegangen (dephasiert) ist.

Der Weichteilkontrast des Gewebes basiert neben der Spindichte auf unterschiedlichen T1- und T2-Relaxationszeiten des menschlichen Gewebes in Abhängigkeit von der Zusammensetzung aus Wasser, Fett und der Wechselwirkung von Wasser mit Makromolekülen (z.B. Proteinen). Die Bildrekonstruktion erfolgt durch mathematische Verrechnung der Signale, die mit Hilfe einer Empfängerspule detektiert werden. Durch entsprechende Pulssequenzen werden verschiedene Komponenten (RF-Pulse, Gradienten, Akquisitionsfenster) variiert und dadurch das Verhalten der beiden Relaxationen genutzt, sodass eine T1- bzw. T2-Gewichtung der Bilder möglich ist, wodurch bestimmte Komponenten und Eigenschaften der Gewebezusammensetzung besser dargestellt werden können (z.B. Fibrose, Ödeme).

Im konventionellen MRT Bild können pathologische Zustände im Myokard durch Veränderungen des eben beschriebenen Kontrastes detektiert werden. Wenn durch Nekrose oder ein interstitielles Ödem die Gewebezusammensetzung verändert ist, ändern sich dementsprechend auch die Relaxationszeiten, sodass die pathophysiologischen Vorgänge in der Bildgebung sichtbar werden. (Schild, 2005)

#### 1.8.2.3 Kontrastmittel Einsatz

Kontrastmittel (KM) in der MRT Bildgebung besitzen einen starken Einfluss auf die Relaxationseigenschaften des Gewebes. Sog. Lanthanoide wie Gadolinium haben einen elektrischen Dipol, der die Relaxation der Wassermoleküle der Umgebung beschleunigt. Bei entsprechender "Wichtung" des MRT Bildes durch entsprechende Puls-Sequenzen kann die lokale Signalintensität gesteigert werden. Nach intravenöser Gabe akkumulieren die KM in bestimmten pathologisch veränderten Regionen des Myokards (veränderte Influx/Eflux Kinetiken, verändertes Interstitium) und verändern hier die elektromagnetischen Eigenschaften des Gewebes, sodass im Bild ein stärkerer Kontrast entsteht (Schwitter et al., 1997). Gewöhnlich wird ein Chelat des Lanthanoids Gadolinium angewandt, welches die Longitudinalzeit (T1 Zeit) des Gewebes verkürzt.

### 1.8.3 Stellenwert in der Myokarditis Diagnostik

Die CMR Diagnostik erfreut sich in den letzten Jahren zunehmender Beliebtheit bei klinischem Verdacht auf eine Myokarditis, da sie einfach und nicht invasiv auch außerhalb des stationären Settings durchführbar ist. Auch in Zukunft verspricht die Technik durch neue Entwicklungen ihre Relevanz zur Beurteilung der Inflammation im Myokard weiter

auszubauen. Im Rahmen einer Untersuchung ist die Darstellung von verschiedenen pathophysiologischen Vorgängen im Myokard durch unterschiedliche Sequenzen möglich. So werden in der Literatur Möglichkeiten zur Darstellung von Ödem, Hyperämie sowie Fibrose und Nekrose im Myokard beschrieben. (Giri et al., 2009) (Mewton, Liu, Croisille, Bluemke, & Lima, 2011) (Francone et al., 2014b) (Matthias G Friedrich et al., 2009) (Yilmaz et al., 2013)

#### 1.8.3.1 Klinische Erfahrung

1991 beschrieben Gagliardi et al. erstmals bei T2 gewichteten MRT Aufnahmen pathologische Auffälligkeiten bei Kindern mit Myokarditis. (Gagliardi et al., 1991) 1998 wurde die erste kontrollierte Studie mit KM im CMR bei Myokarditis Patienten publiziert. (M G Friedrich et al., 1998) Seither haben zahlreiche Studien verschiedene CMR Techniken evaluiert. Diese attestieren dem Verfahren eine gute diagnostische Leistungsfähigkeit, sowie eine befriedigende Sensitivität und Spezifität. Die Diagnosestellung der Myokarditis ist im CMR bei Patienten mit entsprechendem klinischem Verdacht mit einer *accuracy* im Bereich von 70 bis 90% validiert an der EMB, möglich. (Mahrholdt et al., 2004) (Abdel-Aty et al., 2005) (Röttgen et al., 2011) (Chu, Flewitt, Mikami, Vermes, & Friedrich, 2013) (Ferreira et al., 2013) (Radunski et al., 2014) (Hinojar et al., 2015)

#### 1.8.3.2 Lake-Louise Kriterien

2008 wurden die sog. Lake-Louise Kriterien (LLC) zur CMR-basierten Diagnostik der Myokarditis beschrieben, die sich sowohl in verschiedenen Studien, als auch im klinischen Alltag etabliert haben. Diese implizieren, dass zwei von drei Kriterien (*T2 weighted Imaging* (T2w), *Early Gadolinium Enhancement* (EGE), *Late Gadolinium Enhancement* (LGE)) in der CMR Untersuchung eine Myokarditis nachweisen müssen, damit die Diagnose radiologisch gestellt werden kann. Diese haben im alltäglichen klinischen *setting* eine große Bedeutung erlangt. Eine Kombination aus den drei Sequenzen (T2w, EGE, LGE) ermöglicht die radiologische Diagnose der Myokarditis bei Patienten mit Verdacht auf diese Erkrankung mit einer Genauigkeit von 78%. (Matthias G Friedrich et al., 2009)

### 1.8.4 Konventionelle Diagnosekriterien der Myokarditis im CMR

#### 1.8.4.1 Darstellung von Fibrose und Nekrose (LGE)

Die Darstellung von Fibrose im CMR gelingt mit Hilfe von KM. Meist wird eine *inversion recovery pulse sequence* verwendet, um das Signal des normalen Myokards zu reduzieren und KM-anreichernde Areale mit erhöhtem Kontrast darzustellen.

Gewöhnlich kommt ein Chelat des Lanthanoids „Gadolinium“ zum Einsatz. Durch eine entzündungsbedingt vergrößerte interstitielle Matrix ist die sogenannte *wash-in* und *wash-out* Kinetik des KM verändert, sodass das Gadolinium länger im interstitiellen Raum verbleibt. Das *wash-out* erfolgt nach der Bolus Injektion entlang eines Gradienten in Abhängigkeit von der renalen Funktion nach zehn bis zwölf Minuten. In frühen Krankheitsstadien geschieht dies durch die geschädigte Zellmembran. Im weiteren Verlauf der Erkrankung werden die nekrotischen Areale im Myokard durch Fibrozyten ersetzt. Dadurch vergrößert sich der interstitielle Raum, woraus ein vergrößertes Verteilungsvolumen für das KM resultiert. Außerdem fördert eine reduzierte Perfusion im Narbengewebe die verzögerte Auswaschung des KM. (Kim, Chen, Lima, & Judd, 1996) (Kim et al., 1999) (Klein et al., 2004) (Matthias G Friedrich et al., 2009)

Verschiedene Studien korrelieren das Auftreten von LGE mit dem Nachweis von Nekrose, Fibrose und Narbengewebe nach reversibler und irreversibler Schädigung im Myokard. (Mahrholdt et al., 2004) (Abdel-Aty et al., 2005) (Gutberlet et al., 2008) (Röttgen et al., 2011) (Lurz, Eitel, Adam, Steiner, Grothoff, Desch, Fuernau, de Waha, et al., 2012) LGE besitzt eine nachgewiesene prognostische Relevanz bei Myokarditis, aber genauso bei anderen kardialen Erkrankungen wie dem Myokardinfarkt. (Neilan et al., 2015) Limitiert wird die Genauigkeit der Methode durch den Untersuchungszeitpunkt: Im frühen Stadium der Erkrankung besteht die Gefahr, dass die myozytären Schäden zu gering sind, um eine KM-Anreicherung im MRT Bild zu detektieren. Außerdem wird bevorzugt eine fokal auftretende myokardiale Schädigung im LGE detektiert, wohingegen eine diffuse myokardiale Inflammation häufig nicht erfasst wird. (Zagrosek et al., 2009)

#### 1.8.4.2 Visualisierung von Hyperämie und kapillärer Schädigung (*Early Gadolinium Enhancement*)

Eine lokale Entzündungsreaktion im Myokardgewebe wird von einer Mehrdurchblutung des entsprechenden Areals begleitet. Dies liegt u.a. an der durch die Entzündungskaskade hervorgerufene Vasodilatation. Durch die gesteigerte Perfusion und dem erhöhten Blutvolumen im betroffenen Gebiet wird in den frühen Stadien direkt nach Bolus Injektion mehr KM angeschwemmt. Dies kann im CMR visualisiert werden. Verschiedene Studien haben den diagnostischen Nutzen dieser Methode verdeutlicht und auch in den LLC wird das *Early Gadolinium Enhancement* als ein wichtiges Kriterium definiert und findet daher als sensitiver Marker Anwendung in der Diagnostik. (M G Friedrich et al., 1998) (Abdel-Aty et al., 2005) (Radunski et al., 2014) Limitiert wird das Verfahren durch die vermeintlich hohe Artefaktanfälligkeit aufgrund der überwiegend angewandten *fast spin echo* Sequenzen.

Besonders Arrhythmien und Bewegungsartefakte mindern die diagnostische Aussagekraft des Verfahrens. (M G Friedrich et al., 1998)

#### 1.8.4.3 T2 gewichtete Sequenzen zur Ödem Detektion

Higgins et al. haben 1983 erstmals nachgewiesen, dass die T2 Zeit im MRT mit dem Wassergehalt des untersuchten Myokardgewebes linear korreliert. Je höher dieser im infarzierten Myokard von Kaninchen war, desto größer war auch die im MRT gemessene T2 Relaxationszeit. (Higgins et al., 1983) Verantwortlich für den gesteigerten Wasseranteil ist ein myokardiales Ödem sekundär zur Zellmembranschädigung im Rahmen der Ischämie. Dieses ischämische Ödem ist zellular verortet. Im Rahmen der Ischämie verlieren die Zellen die Fähigkeit den osmotischen Gradienten aufrechtzuerhalten und beginnen anzuschwellen. Außerdem wird aus Proteinbindungen Wasser freigesetzt. Entzündliche Ödeme dagegen entstehen hauptsächlich extrazellulär. Vasodilatation und eine erhöhte Permeabilität im Rahmen einer inflammatorischen Reaktion können dies begünstigen. Letztgenannte tritt u.a. bei der Myokarditis oder als Begleiterscheinung bei bestimmten rheumatischen Erkrankungen auf. (Matthias G Friedrich, 2010) (Dongaonkar, Stewart, Geissler, & Laine, 2010) (D. Garcia-Dorado & Oliveras, 1993)

Die Auswertung der T2 gewichteten Sequenzen erfolgt u.a. im Vergleich mit der T2 Zeit des Skelettmuskels. Eine Erhöhung der myokardialen/ skelettalen T2 Zeit-Ratio über 1.9 spricht für eine myokardiale Inflammation und erlaubt die Detektion einer akuten Myokarditis im CMR mit Werten für die Sensitivität, Spezifität und *accuracy* von 84%, 74% und 79%. (Abdel-Aty et al., 2005) Die diagnostische Wertigkeit zur Detektion chronischer Krankheitsverläufe ist deutlich geringer. In klinischen Studien konnten 35 bis 52% der Patienten mit in der EMB gesicherter chronischer Myokarditis im CMR identifiziert werden. (Gutberlet et al., 2008) (De Cobelli et al., 2006) Die Sensitivität der Methodik leidet unter einer starken Artefaktanfälligkeit, bedingt durch Bewegung, Atmung und Arrhythmien. Dadurch werden kleine, fokal lokalisierte Krankheitsherde in der Bildgebung nicht erfasst. (Kellman, Aletras, Mancini, McVeigh, & Arai, 2007) Zudem besteht bei Patienten, die gleichzeitig an einer entzündlichen Skelettmuskelerkrankung leiden die Möglichkeit von falsch-positiven Befunden im MRT aufgrund von erkrankungsbedingten verstärkten Wassereinlagerungen im Gewebe.

## 1.9 T2 Mapping

Die direkte Messung der T2 Zeit stellt eine Alternative zu herkömmlichen T2 gewichteten Verfahren dar. Der Vorteil einer direkten Messung der T2 Zeit im Vergleich zu einem

gewichteten Bild liegt in a) einer sensitiveren Quantifizierung der myokardialen T2 Zeit b) einer geringeren Anfälligkeit für Artefakte, hervorgerufen durch Bewegungen und Arrhythmien und c) einer objektiveren und untersucherunabhängigeren Auswertung. (Baeßler et al., 2015) Deshalb gibt es die begründete Hoffnung, dass diese Messung die Sensitivität erhöht.

T2 Mapping als Methode basiert auf folgendem Messprinzip: Es werden mehrere Spinechos hintereinander mit jeweils veränderter Echozeit aufgenommen (EchoTrain). Die verschiedenen Echobilder unterscheiden sich hinsichtlich ihrer Intensität (je länger die Echozeit, desto stärker der T2 Abfall und somit schwächer das Signal). Betrachtet man jetzt einen beliebigen Punkt über den EchoTrain hinweg, so folgt dessen Intensität einem exponentiellen Abfall. Aus der Dämpfung der angepassten Kurve berechnet sich der T2 Wert für dieses Pixel. Dadurch kann entsprechend der T2 Zeit der Wassergehalt als isolierte Gewebeeigenschaft betrachtet werden. Gleichzeitig erlaubt die Mapping Methode den quantitativen Vergleich zwischen interindividuellen Untersuchungen. Lokale Entzündungsreaktionen im Gewebe können auf einer Karte mit Hilfe der Farbkodierung quantifiziert werden. Da der gewebeeigene Kontrast genutzt wird ist kein KM notwendig.

In den letzten Jahren wurden verschiedene T2 Mapping Verfahren verfolgt und unterschiedliche T2 Mapping Sequenzen in Studien am gesunden Menschen evaluiert. (Giri et al., 2009) (Thavendiranathan et al., 2012) (Wassmuth et al., 2013a) Unsere Arbeitsgruppe konnte experimentell im Phantom nachweisen, dass die T2 Werte im T2 Mapping linear mit dem Wassergehalt im Gewebe korrelieren (s.u.). Außerdem konnten wir systematische Änderungen der T2 Zeit im Alter und im weiblichen Geschlecht im Vergleich zu Männern, unabhängig von kardiovaskulären Risikofaktoren detektieren. (Bönner et al., 2015). T2 Mapping wurde in verschiedenen Patientengruppen evaluiert. Hierzu zählen Patienten mit Myokardinfarkt, Myokarditis, DCM, TakoTsubo-Kardiomyopathie und herztransplantierte Patienten. Unterschiedliche Patientengruppen wiesen erhöhte myokardiale T2 Werte gegenüber Probanden auf. (Thavendiranathan et al., 2012) (Markl et al., 2012) (Zia et al., 2012)

## **1.10 Therapie der Myokarditis**

Patienten mit akuter Myokarditis und Symptomen der Herzinsuffizienz sollten entsprechend den Leitlinien behandelt werden. An erster Stelle steht hier eine medikamentöse Therapie zur Minimierung des neurohumoralen *remodellings* um das Fortschreiten der Herzinsuffizienz zu verlangsamen. Die Patienten profitieren von den anerkannten Medikamenten zur Therapie der

Herzinsuffizienz, von einer Behandlung mit ACE-Hemmern, AT-1 Antagonisten, Beta-Blockern und Diuretika. (McMurray et al., 2012)

Bei Patienten mit hämodynamisch instabiler Herzinsuffizienz können bei Bedarf mechanische Unterstützungssysteme (z.B. IABP oder LVAD) zum Einsatz kommen. In überaus schweren Fällen kann eine Herztransplantation notwendig werden. (Blauwet & Cooper, 2010) (Chen & Yu, 2005) (Topkara et al., 2006) (Yoshizawa, Kato, Mancini, & Marboe, 2013)

#### 1.10.1 Antivirale Therapie

Da Viren die häufigste Ursache für eine Myokarditis darstellen, ist eine antivirale Therapie naheliegend. Verschiedene murine Studien konnten positive Effekte auf den Krankheitsverlauf bei experimentell-induzierter Myokarditis nachweisen und teilweise den Übergang in eine DCM mindern sowie die Mortalität reduzieren. (Yun et al., 2012) (Lim & Kim, 2014) (Stein et al., 2015) (Stein et al., 2015) Bei Patienten ist die Anwendung antiviraler Medikamente umstritten, da viele Myokarditiden erst Wochen nach der Virusinfektion diagnostiziert werden. Lediglich einzelne Fallbeschreibungen konnten erfolgreich eine antivirale Behandlung anwenden. (Dennert et al., 2010) (Kuchynka et al., 2010) (Kalimuddin et al., 2013) Analog konnten Kühl et al. in ihrer Arbeit darstellen, dass eine antivirale Behandlung mit Interferon-beta bei 22 Patienten zur Eliminierung der Adeno- bzw. Enteroviren und bei 15 Patienten zur Verbesserung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (EF) führte. (Kühl et al., 2003). Prospektiv randomisierte Studien existieren in diesem Feld jedoch nicht, sodass die aktuellen Leitlinien keine antivirale Therapie empfehlen.

#### 1.10.2 Immunsuppressive Therapie

Einzig bei der Riesenzellmyokarditis führt eine immunsuppressive Therapie mit Prednisolon und Ciclosporin zur Prognoseverbesserung. (Cooper et al., 2008). Ähnliche Therapieregime werden teilweise bei Patienten mit allergie-induzierter Myokarditis und bei autoimmunbedingten Myokarditiden, sowie akuten lymphatischen Myokarditiden ohne Virusnachweis und für chronischen Myokarditiden diskutiert, ohne dass bislang evidenzbasierte Therapie Empfehlungen existieren. (Parrillo, 2001) (Frustaci, 2003)

### 1.11 Prognose

Die Prognose der Myokarditis ist abhängig vom Krankheitsverlauf und dem klinischen Erscheinungsbild der Erkrankung. Bei inapparenten Verläufen und oligosymptomatischen Patienten ist die Aussicht auf eine spontane Heilung deutlich höher als bei Patienten mit

Herzrhythmusstörungen und Symptomen der Herzinsuffizienz. (Blauwet & Cooper, 2010) (Kindermann, Barth, Mahfoud, Ukena, Lenski, Yilmaz, Klingel, Kandolf, Sechtem, Cooper, & Böhm, 2012)

Bei Patienten mit akuter Myokarditis heilt die Erkrankung in der Hälfte der Fälle innerhalb der ersten Tage bis Wochen spontan aus. Dagegen entwickelt jeder Vierte eine langsam progrediente kardiale Dysfunktion. Weitere 12-25% erleben eine akute starke Verschlechterung, entwickeln zügig eine schwere DCM oder versterben innerhalb kurzer Zeit nach Symptombeginn. (A. L. P. Caforio et al., 2013) Bei jedem zwanzigsten Patienten mit akuter Myokarditis wird innerhalb der nächsten fünf Jahre nach Diagnosestellung eine Herztransplantation notwendig. (McCarthy et al., 2000)

Verschiedene prognostische Parameter konnten identifiziert werden. Dazu zählen NYHA-Klassifikation, links- und rechtsventrikuläre Funktionseinschränkungen, niedriger arterieller Blutdruck, erhöhter Pulmonalarteriendruck, sowie das Auftreten von Synkopen. Für erwachsene Patienten mit klinischen Symptomen der Herzinsuffizienz, sowie einer linksventrikulären EF von unter 45% konnte eine 4-Jahres-Mortalitätsrate von 56% dokumentiert werden. (Cappola, 2002) (Blauwet & Cooper, 2010) (Ukena et al., 2011) Für die Dallas-Kriterien und den Nachweis von Viren wurde keine prognostische Relevanz für den Krankheitsverlauf der Patienten nachgewiesen. Dennoch konnte gezeigt werden, dass eine Kombination aus klinischen Parametern, Biopsie Ergebnissen und der Behandlungsform eine prognostische Aussage ermöglicht. Patienten mit NYHA III oder IV, positiver Immunhistochemie und ohne Therapie mit beta-Blockern weisen eine Fünf-Jahres-Überlebensrate von nur 39% auf. (Kindermann et al., 2008) (Kindermann, Barth, Mahfoud, Ukena, Lenski, Yilmaz, Klingel, Kandolf, Sechtem, Cooper, & Böhm, 2012)

Der Übergang einer chronischen Myokarditis in eine DCM ist mit einem deutlich schlechteren *outcome* behaftet. In dieser Gruppe verstirbt jeder fünfte Patient innerhalb von fünf Jahren. Die Frequenz dieser Entwicklung wird in verschiedenen Studien allerdings unterschiedlich hoch beschrieben und bewegt sich zwischen 14 und 40%. (D'Ambrosio et al., 2001) (Ammann et al., 2003) (Towbin et al., 2006) (A. L. P. Caforio et al., 2007) (Dennert et al., 2008)

## **1.12 Ziele der Arbeit**

In der vorliegenden Arbeit untersuchen wir die Hypothese, dass die quantitative Analyse der T2 Zeit mittels T2 Mapping die Sensitivität der MRT-basierten Myokarditis Diagnostik erhöht. Von dieser Überlegung ausgehend haben wir die folgenden Ziele definiert:

- 1) In *ex-vivo* Phantomversuchen soll der Nachweis einer Korrelation zwischen Wassergehalt im Gewebe und Höhe der T2 Relaxationszeit gelingen. Hintergrund dieser Überlegung ist, dass die im Rahmen der Entzündungsvorgänge betroffenen Areale des Myokards einen erhöhten Wassergehalt (entzündliches Ödem) aufweisen.
- 2) Die quantitativen T2 Zeit im gesunden Myokard soll evaluiert werden. Um Referenzwerte zu generieren werden gesunde Probanden im MRT gescannt. Gleichzeitig soll die physiologische Schwankungsbreite der T2 Werte im Herzen untersucht und mögliche Einflussfaktoren auf die T2 Zeit identifiziert werden. Dieses Vorgehen soll die Spezifität der Methodik gewährleisten. Anschließend sollen Referenzwerte festgelegt werden, die als Grundlage für die T2 Zeitmessung der Patienten mit bioptisch nachgewiesener akuter Myokarditis dienen. Die MRT Untersuchungen sollen Aufschluss über die T2 Werte im sicher erkrankten Myokard liefern. Ziel ist eine sichere Differenzierung zwischen gesundem und erkranktem Myokard anhand der T2 Zeiten.
- 3) Ein weiteres Ziel ist die Evaluation der Sensitivität und Spezifität von T2 Mapping bei Patienten mit bioptisch nachgewiesener akuter Myokarditis und bei Patienten mit klinisch wahrscheinlicher akuter Myokarditis. Die beiden Patientengruppen unterscheiden sich darin, dass bei Erstgenannten eine Inflammation im Myokard vorliegt, sodass von einer hohen Sensitivität der MRT Untersuchung auszugehen ist. Bei Patienten mit klinischem Verdacht auf eine Myokarditis ohne histologischen Nachweis wird die Sensitivität womöglich geringer ausfallen. Die Differenzierung der Patientengruppen ist von Bedeutung, um mögliche Nachteile bisheriger Untersuchungsmethoden aufzudecken (*sampling error* im Rahmen von Myokardbiopsien, geringe Sensitivität der MRT Sequenzen bei akuten Krankheitsverläufen).
- 4) Die Gegenüberstellung von T2 Mapping mit den konventionellen MRT Verfahren soll zeigen, ob die Sensitivität und Spezifität der MRT-basierten Myokarditis Diagnostik mittels T2 Mapping gesteigert werden kann.
- 5) Zudem möchten wir weitere Zusammenhänge untersuchen: Korreliert die Höhe der T2 Werte mit Ausprägung der myokardialen Schädigung? Gibt es einen Zusammenhang zwischen pathologisch gesteigerter T2 Zeit und myokardialer Funktion im Sinne einer Struktur-Funktionsbeziehung?

## II. Material und Methoden

### 2.1 Patientenkollektiv/ Probanden/ Datengrundlage

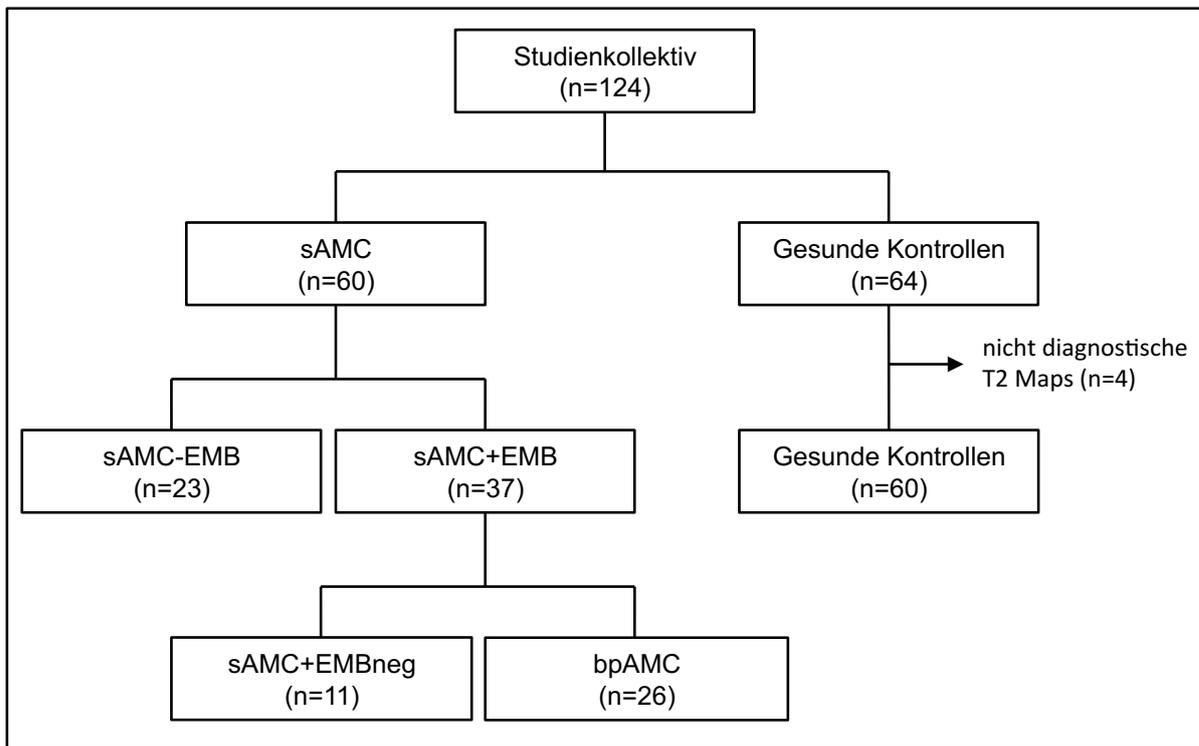
In den Jahren 2013 bis 2015 haben wir prospektiv 60 Patienten mit klinisch wahrscheinlicher akuter Myokarditis eingeschlossen, die im angegebenen Zeitraum in der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie des Universitätskrankenhauses Düsseldorf behandelt worden sind. Die Patienten wurden im ersten Klinikaufenthalt rekrutiert und nach definierten Kriterien longitudinal nachverfolgt.

Alle Patienten haben eine MRT Untersuchung erhalten. Bei 56 Patienten wurde zusätzlich eine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt und 37 Patienten unterzogen sich einer EMB. Abbildung 4 gibt einen Überblick über die Zusammensetzung des Studienkollektivs.

Zusätzlich wurden in den Jahren 2013 und 2014 gesunde Probanden (n=64) im MRT untersucht. Die Studie ist von der Ethikkommission der Heinrich-Heine-Universität genehmigt (Studennummer 4307).

Zur Auswertung der Daten wurden die Patienten in die folgenden vier Gruppen eingeteilt (Abb.5):

- 1) *suspected Acute Myocarditis*: sAMC (n=60), umfasst alle Patienten mit klinisch wahrscheinlicher akuter Myokarditis.
- 2) *biopsy proven Acute Myocarditis*: bpAMC (n=26), beinhaltet 26 der 60 Patienten mit bioptisch gesicherter Myokarditis.
- 3) *suspected Acute Myocarditis with negative EMB result*: sAMC+EMBneg (n=11), umfasst die 11 Patienten ohne Myokarditis Nachweis in der Biopsie.
- 4) *suspected Acute Myocarditis without EMB*: sAMC-EMB (n=23), beinhaltet 23 der 60 Patienten bei denen keine Myokardbiopsie durchgeführt worden ist.



**Abb. 4 Konsort Diagramm zum Studieneinschluss.** Eingeschlossen in die Studie wurden Patienten mit klinisch wahrscheinlicher akuter Myokarditis (sAMC), sowie gesunde Kontrollen. Innerhalb der Patienten wurden 37 Patienten biopsiert (sAMC+EMB), die restlichen 23 Patienten nicht (sAMC-EMB). Bei mehr als zwei Drittel der biopsierten Patienten wurde eine Myokarditis nachgewiesen (bpAMC). Bei knapp einem Drittel konnte keine Myokarditis bioptisch gesichert werden (sAMC+EMBneg). sAMC=klinisch wahrscheinliche Myokarditis, sAMC-EMB=klinisch wahrscheinlich akute Myokarditis ohne durchgeführte Myokardbiopsie, sAMC+EMB=klinisch wahrscheinlich akute Myokarditis mit durchgeführter Myokardbiopsie, sAMC+EMBneg=klinisch wahrscheinliche akute Myokarditis mit negativer Myokardbiopsie, bpAMC=bioptisch nachgewiesene akute Myokarditis.

## 2.2 Einschlusskriterien

Die Einschlusskriterien der Studie orientieren sich an den Leitlinien der ESC für Patienten mit sAMC. (A. L. P. Caforio et al., 2013) Im Folgenden werden die entsprechenden Kriterien aufgeführt:

a) *Klinische Präsentation* mit Symptomen wie Brustschmerz, Dyspnoe, sowie Leistungsminderung oder Müdigkeit, mit oder ohne Zeichen rechts- oder linksventrikulärer Herzinsuffizienz. Weitere klinische Kriterien sind Herzrhythmusstörungen, Synkopen, sowie unerklärbarer akuter kardiogener Schock und plötzlicher Herztod. Zur Studie wurden nur Patienten zugelassen, die einen akuten Krankheitsverlauf von unter 14 Tagen bis zum ersten Arztkontakt aufwiesen.

b) *Diagnostische Kriterien* sind Auffälligkeiten im EKG (ST- oder T-Streckenveränderungen, Erregungsleitungsblöcke, Herzrhythmusstörungen u.ä.), sowie eine Erhöhung der myokardialen Laborparameter (Troponin-T und -I, CK-MB). Außerdem werden strukturelle

und funktionelle Abnormalitäten in der Bildgebung und pathologische Befunde in verschiedenen MRT Sequenzen in den Leitlinien beschrieben, die ebenfalls Eingang in die Kriterien der Studie finden.

Zur Diagnosestellung einer sAMC wird mindestens eines der oben aufgeführten klinischen Symptome gefordert. Zudem muss mindestens ein diagnostisches Kriterium erfüllt sein. Außerdem soll eine Koronare Herzerkrankung (KHK) in der Herzkatheteruntersuchung ausgeschlossen worden sein (Koronarstenose >50%), genauso wie andere kardiovaskuläre Erkrankungen oder nicht-kardiologische Ursachen, welche die Symptomatik des Patienten erklären können.

Bei vier Patienten wurde keine Herzkatheteruntersuchung durchgeführt. Diese waren alle unter 35 Jahre alt und eine KHK war aufgrund fehlender Risikofaktoren unwahrscheinlich.

Die Probanden wurden nur zur Studie zugelassen wenn sie über 18 Jahre alt und gesund waren.

### **2.3 Ausschlusskriterien**

Die Ausschlusskriterien der Studie ergaben sich bei den Patienten durch die Kontraindikationen für eine MRT Untersuchung im Allgemeinen. Hierzu zählt das Tragen von ferromagnetischen Materialien am Körper (Herzschrittmacher, Defibrillatoren, Aneurysmaclips). Weiterhin stellte Klaustrophobie eine Kontraindikation dar. Schwangere und stillende Frauen wurden ebenfalls nicht zur Studie zugelassen. Patienten und Probanden deren MRT Bilder nicht auswertbar waren, wurden ebenfalls ausgeschlossen.

Abbruchkriterien der Studie waren ein Auftreten der oben aufgeführten Ausschlusskriterien oder ein Widerruf der Einwilligungserklärung.

### **2.4 EMB Protokoll**

Im Rahmen der Herzkatheteruntersuchung wurde die rechte Femoralvene der Patienten punktiert und eine 9-French Schleuse (MeritMedical, Salt Lake City, USA), gefolgt von einer 55cm langen 7-French Biotom Schleuse eingeführt und unter Röntgendurchleuchtung im rechten Ventrikel positioniert. Hierzu wurde ein 6-French Mehrzweck Katheter (Medtronic, Minneapolis, USA) verwendet. Mit Hilfe eines Endomyokard Biotoms (Wolfgang Meiners Medizintechnik GmbH, Monheim, Deutschland) wurden jeweils fünf bis acht Biopsien aus dem interventrikulären Septum entnommen und in 10% Formalin bei Raumtemperatur, sowie in RNA-later für die molekularbiologische Virusdiagnostik fixiert.

## **2.5 Behandlung der Biopsien**

Die Biopsien wurden für die weitere Behandlung nach Entnahme bei  $-80^{\circ}\text{C}$  im Tiefkühlschrank gelagert. Zur Verarbeitung wurden die Biopsien in Tissue Tek eingebettet und fixiert. Dazu wurde zuerst Methylbutan in einem Behälter mit flüssigem Stickstoff auf  $-40^{\circ}\text{C}$  heruntergekühlt. Anschließend erfolgte die Einbettung der Gewebestücke in Tissue Tek im gekühlten Methylbutan Behälter bei  $-40^{\circ}\text{C}$  damit eine möglichst gleichmäßige und schnelle Fixierung gewährleistet werden konnte.

Anschließend wurden die Biopsien bei  $-20^{\circ}\text{C}$  zwischengelagert oder direkt im Gefriermikrotom geschnitten. Zum Schneiden wurde ein Kryotom der Firma Leica CM 3050 S verwendet. Die beste Temperatur zum Schneiden lag bei  $-20$  bis  $-25^{\circ}\text{C}$  in der Kammer und am Objekthalter. Die zu bevorzugende Schnittdicke betrug fünf  $\mu\text{m}$ . Die Schnitte wurden auf  $24 \times 60$  mm große Deckgläser aufgetragen und anschließend zehn Minuten in einer  $5^{\circ}\text{C}$  kalten Acetonlösung fixiert. Danach konnten diese nach mindestens zehn minütiger Lufttrocknung direkt gefärbt oder bei  $-20^{\circ}\text{C}$  gelagert werden.

## **2.6 Picrosirius-Rot-Färbung**

Die Picrosirius Rot Färbung dient zur Anfärbung von kollagenen Fasern und retikulären Fibrillen im extrazellulären Raum. Sirius-Rot anfärbbar sind die Kollagen Typen I und III. Hierdurch lassen sich fibrotische Areale und andere Strukturen, die Kollagen enthalten unter dem Lichtmikroskop zur Darstellung bringen. Üblicherweise wird Kollagen rot gefärbt, wohin gegen zelluläre Bestandteile gelb und durch die Gegenfärbung mit Hämalaun, Zellkerne blau zur Darstellung kommen. Die einzelnen Schritte der Färbung sind Tabelle 1 zu entnehmen. Verwendet wurde ein Färbekitt der Firma Morphisto (Artikelnummer 13425). Vor Beginn der Färbung wurden die Deckgläser mit den Biopsien für 25 Minuten in erwärmtem Bouin fixiert.

	Vor Beginn der Färbung werden die Biopsien bei 40 C° für 25 Minuten in Bouin-Lösung in der Wärmekammer fixiert.		
	Färbelösung	Zeit in Stunden	Färbevorgang
1.	Aqua nondest.	00:04:00	Wässern
2.	Weigerts A und B	00:08:00	Färben
3.	Aqua dest.	00:00:05	Spülen
4.	Aqua nondest.	00:10:00	Fließend Bläuen
5.	Auqa dest.	00:01:00	Spülen
6.	Picosirius-Rot	01:00:00	Färben
7.	Essigsäure 30%	00:01:00	Schwenkend Spülen
8.	Essigsäure 30%	00:01:00	Schwenkend Spülen
9.	Ethanol 96%	00:02:00	Entwässern
10.	Ethanol 96%	00:02:00	Entwässern
11.	Isopropranol	00:02:00	Entwässern
12.	Xylol	00:07:00	Entwässern
13.	Xylol	00:07:00	Entwässern
14.	Eindeckmittel invitro-cloud	00:04:00	Eindecken

**Tabelle 1 Picosirius-Rot Färbeprotokoll.** Angegeben wird in der linken Spalte das Färbemedium ggf. mit dem prozentualen Anteil der jeweiligen Lösung, in der mittleren Spalte die Färbedauer und in der rechten Spalte zusätzliche Anweisungen bzgl. des Färbevorgangs.

## 2.7 Immunhistochemische Färbung

### 2.7.1 Durchführung

Die immunhistochemische Färbung (IHC Färbung) der Myokardbiopsien erfolgte durch verschiedene Antikörper um bestimmte Zellen differenziert anzufärben und später in der Lichtmikroskopie auszuwerten. Verwendet wurden HLA I und II, 25F9, CD 2, CD 3, CD 31 und CD 68 Antikörper. HLA I und II gelten als unspezifischer inflammatorischer Marker. Zahlreiche neuere Studien legen einen Zusammenhang zwischen einem bestimmtem HLA-Polymorphismus und dem Auftreten einer Myokarditis nahe. (Portig, Sandmoeller et al. 2009) (Pankuweit, Ruppert et al. 2013) 25F9 und CD 68 sind Antikörper zur Detektion von Makrophagen, die im Rahmen von Entzündungsreaktion in den betroffenen Arealen nachgewiesen werden können. Mit Hilfe von CD 2 und CD 3 lassen sich T-Lymphozyten, sowie Natürliche Killerzellen detektieren. CD 31 gehört zur Gruppe der Thrombozyten-Endothelzell-Adhäsionsmoleküle (PECAM-1) und wird im Rahmen inflammatorischer Reaktionen verstärkt exprimiert.

Für die immunhistochemische Färbung ist es notwendig zuerst die Primärantikörper gemäß

dem Schema in Tabelle 2 anzusetzen.

Antikörper	Volumen in $\mu\text{l}$	Menge in $\mu\text{g}$	Volumen 10% FCS in PBS in $\mu\text{l}$
HLA I	25	1,8	975
HLA II	20	2	980
25F9	20	2	980
CD 2	20	5	980
CD 3	20	5	980
CD 31	10		990
CD 68	10		990
Negativkontrolle			1000
Für maximal 10 Proben und Negativkontrolle (22 Objektträger)			

**Tabelle 2 Färbeprotokoll Immunhistochemie.** In der Tabelle wird das Protokoll zur Färbung mit folgenden Antikörper beschrieben: HLA I, HLA II, 25F9, CD2, CD3, CD31, CD68. Angegeben ist das Volumen in  $\mu\text{l}$ , die Menge in  $\mu\text{g}$  und das Volumen der verwendeten 10% FCS in PBS in  $\mu\text{l}$ . IHC=Immunhistochemie, FCS= *fetal calb serum*.

Zu Beginn wurden die Primärantikörper (80  $\mu\text{l}$ / Schnitt) vorsichtig auf die Schnitte pipettiert, sodass die Schnitte jeweils vollständig benetzt waren. Anschließend folgte die Inkubation in der Feuchtkammer bei 32°C für 45 Minuten. Nach der Inkubation mussten die Proben drei Mal für je fünf Minuten in 1fach PBS gespült werden, bevor die Schnitte mit dem Sekundärantikörper benetzt werden konnten. Dieser setzte sich zusammen aus 30  $\mu\text{l}$  RamPox AK, 1200  $\mu\text{l}$  Volumen *fetal calb serum* (FCS) und 4800  $\mu\text{l}$  1fach PBS bezogen für acht Proben (18 Objektträger). Danach erfolgte eine zweite Inkubation für 45 Minuten in der Feuchtkammer bei 32°C. Nach der Inkubation wurden die Proben drei Mal für jeweils fünf Minuten in 1fach PBS gespült. Im Folgenden wurden die Schnitte mit Carbazol gefärbt. Dazu wurde ein Färbekit der Firma Vector (ImmPACT AEC Peroxidase Substrat, SK-4205) verwendet. Die Schnitte wurden mit je 80  $\mu\text{l}$  der Färbelösung benetzt und in einer dunklen Feuchtkammer für 25 Minuten inkubiert. Danach wurde einmal fünf Minuten in 1fach PBS gespült. Als Letztes folgte die Hämalalaun-Gegenfärbung für zwei Minuten und anschließend noch einmal Spülen für 30 Sekunden in Leitungswasser.

Zur Konservierung wurden die Schnitte mit Aquatex (Firma Vector H5501) beschichtet und

Luftblasen frei mit Deckgläsern überdeckt. Überschüssiges Aquatex konnte mit Hilfe von Ethanol entfernt werden.

### **2.7.2 Auswertungsmethodik**

Zur Auswertung wurden modifizierte Kriterien von Maisch et al. zur Myokarditis Diagnostik in EMB herangezogen. Demnach wurden sowohl T-Lymphozyten Marker (CD2 und CD3 Antikörper), als auch Antikörper zur Detektion von Makrophagen (25F9 und CD68) und *leucocyte common antigen* -Zellen (LCA Zellen) untersucht. Außerdem wurde die HLA-Expression beurteilt und Zelladhäsionsmarker ausgewertet. Zur Einzelbewertung der T-Lymphozyten war es notwendig, dass mindestens zwei CD2 oder CD3 Zellen pro Gesichtsfeld vorhanden waren oder die Zellen in Nestern vorlagen. Bei den LCA Zellen (CD31) mussten mindestens 3.7 Zellen pro Gesichtsfeld im Durchschnitt nachweisbar sein. Die HLA 1- und HLA 2- Expression wurde nach subjektivem Einschätzen in negativ (-/+), grenzwertig (+/++) und positiv (+++) eingeteilt, genauso wie das Erscheinen der Zelladhäsionsmarker.

Zur Gesamtbewertung eines Befundes als "grenzwertig" wurde gefordert, dass mindestens zwei CD2 oder CD3 Zellen pro Gesichtsfeld vorhanden waren oder die Zellen in Nestern vorlagen, sowie eine vermehrte HLA Expression (++/+++). Gleichzeitig musste der Nachweis der LCA-Zellen negativ sein (unter 3.7 Zellen pro Gesichtsfeld).

Zur Wertung des IHC-Befundes als positiven Befund wurde gefordert, dass entweder die LCA-Zellen und Makrophagen zusammen unter 3.7 Zellen pro Gesichtsfeld nachweisbar waren unter der Bedingung, dass die Einzelmakrophagen mindestens grenzwertig (über eine Zelle pro Gesichtsfeld) und bei der Auswertung der LCA Zellen mindestens 3.7 Zellen im Durchschnitt pro Gesichtsfeld positiv waren. Ansonsten mussten für einen positiven Befund in der Biopsie durchschnittlich über 3.7 LCA Zellen pro Gesichtsfeld nachweisbar sein oder aber die LCA Zellen in Nestern vorliegen.

Insgesamt wurden zehn Gesichtsfelder ausgezählt und der Durchschnittswert der einzelnen ausgezählten Zellen gebildet. Da die Biopsien zum Teil zu klein waren, konnten nicht immer zehn Gesichtsfelder ausgewertet werden, sodass in diesen Fällen weniger Gesichtsfelder in die Auswertung eingeschlossen wurden. Tabelle 3 gibt einen Überblick über die immunhistochemische Auswertung der Myokardbiopsien. Insgesamt wurden die grenzwertigen und positiven Biopsie Befunde zusammengefasst (Inflammationsnachweis führte zur Wertung EMB positiv).

<b>a) Einzelbewertung</b>		
T-Lymphozytenmarker CD2, CD3	Negativ Positiv Positiv	<2 Zellen/ GF >2 Zellen/ GF Mit Nestern
LCA	Positiv Positiv	>3.7 Zellen/ GF LCA mit Nest
Makrophagen 25F9, CD68	Negativ Grenzwertig Positiv	<1 Zelle/ GF 1-1.5 Zellen/ GF >1.5 Zellen/ GF
HLA Expression	Negativ Grenzwertig Positiv	-/+ +/++ ++/+++
Adhäsionsmarker	Negativ Positiv	- +
<b>b) Gesamtbewertung</b>		
<b>IHC-Befund Grenzwertig</b>	CD2, CD3  <i>Plus</i>  HLA I/II LCA muss negativ sein	>2 Zellen/ GF    ++/+++
<b>IHC-Befund Positiv</b>	LCA und Makrophagen  <i>Oder</i>  Wenn LCA <3.7 Zellen/ GF oder deutliche LCA Nester	>3.7 Zellen/ GF Einzelmakrophagen >1Zellen GF LCA Marker >3 Zellen/ GF

**Tabelle 3 Immunhistochemische Auswertung der Endomyokardbiopsien.** a) zeigt die Kriterien für die Einzelauswertung der Endomyokardbiopsien. Hierbei werden Lymphozytenmarker, Makrophagenmarker, die HLA-Expression, sowie Adhäsionsmarker bewertet. b) zeigt die für die Gesamtbewertung wichtigen Kriterien zusammengefasst für eine grenzwertige Befundbewertung und für eine positive Befundbeurteilung. GF=Gesichtsfeld, LCA= *leucocyte common antigen*, HLA= *human leucocyte antigen*, IHC=Immunhistochemie.

## 2.8 MRT Untersuchungsprotokoll

Die magnetresonanztomographischen Untersuchungen wurden an einem Standard 1.5 Tesla Scanner (Achieva, Philips, Best, the Netherlands) in der Klinik für Kardiologie, Angiologie und Pneumologie des Universitätsklinikums Düsseldorf durchgeführt. Das 1.5 Tesla-MRT Gerät wird dort in Verbindung mit dem unmittelbar benachbarten Herzkatheterlabor (Philips, Best, the Netherlands) als Hybridanlage betrieben.

Die Vorbereitungen und die MRT Untersuchungen selber wurden von einer speziell ausgebildeten TA unter Aufsicht eines erfahrenen Kardiologen durchgeführt, welcher mit der Technik und Methodik vertraut ist.

Es wurden im Rahmen der MRT Untersuchung nur bereits in der klinischen Routine etablierte KM wie Gadolinium DTPA (Gadovist, Bayer Healthcare) eingesetzt. Die Patienten wurden mit kommerziell erhältlichen Bildaufnahmesequenzen untersucht. Jeder Patient wurde rechtmäßig über die geplante Untersuchung aufgeklärt und musste schriftlich einwilligen. Die MRT Untersuchung enthielt verschiedene Pulssequenzen zur Beurteilung der globalen Herzfunktion und der regionalen Wandbewegung. Die nach dem standardisierten Untersuchungsprotokoll durchgeführte Untersuchung betrug in der Regel ungefähr 45 Minuten.

Im Einzelnen wurden folgende Untersuchungssequenzen durchgeführt:

### **2.8.1 Kardiale Funktionsanalyse**

Bei jedem Patienten wurde eine linksventrikuläre Volumetrie durchgeführt. Mit Hilfe der Scheibchensummationsmethode können enddiastolische, endsystolische Volumina, Schlagvolumina, Ejektionsfraktionen sowie die myokardiale Masse berechnet werden. Die Auswertung der kardialen Funktion, sowie die Beurteilung der Anatomie erfolgte jeweils in Kurzachsenschnitten und im Vierkammerblick (*cine-loops in 3 short axis (SAX) slices and in four chamber view (4CH), balanced SSFP cine-MRI: TR/TE = 2.9/1.5, FA = 60, spatial resolution 8 x 1.5 x 1.5 mm<sup>3</sup>, 35 phases, breathhold*).

### **2.8.2 T2 weighted Imaging**

T2 weighted Imaging wurde konventionell mit einer T2 STIR Sequenz durchgeführt (*TSE-STIR: TR = 2 RR-intervalls, TE = 58 ms, spatial resolution 2 x 2 x 10mm<sup>3</sup>, imaging in mid-diastole, breathhold*).

### **2.8.3 Late Gadolinium Enhancement**

Zur LGE Sequenz diente eine dreidimensionale *gradient-spoiled turbo fast field echo sequence* mit einer nichtselektiven *inversion recovery (pre-pulse-triggered to end-diastole)*, die den gesamten linken Ventrikel abdeckt (*TR/TE = 3.2/1.16; FA = 15; spatial resolution: 1.5 x 1.7 x 10 mm<sup>3</sup>, patient-adapted prepulse delay = 200-300 ms, breathhold*). Als Kontrastmittel kam Gadolinium DTPA (Gadovist, Bayer Healthcare) zur Anwendung.

### **2.8.4 T2 Mapping**

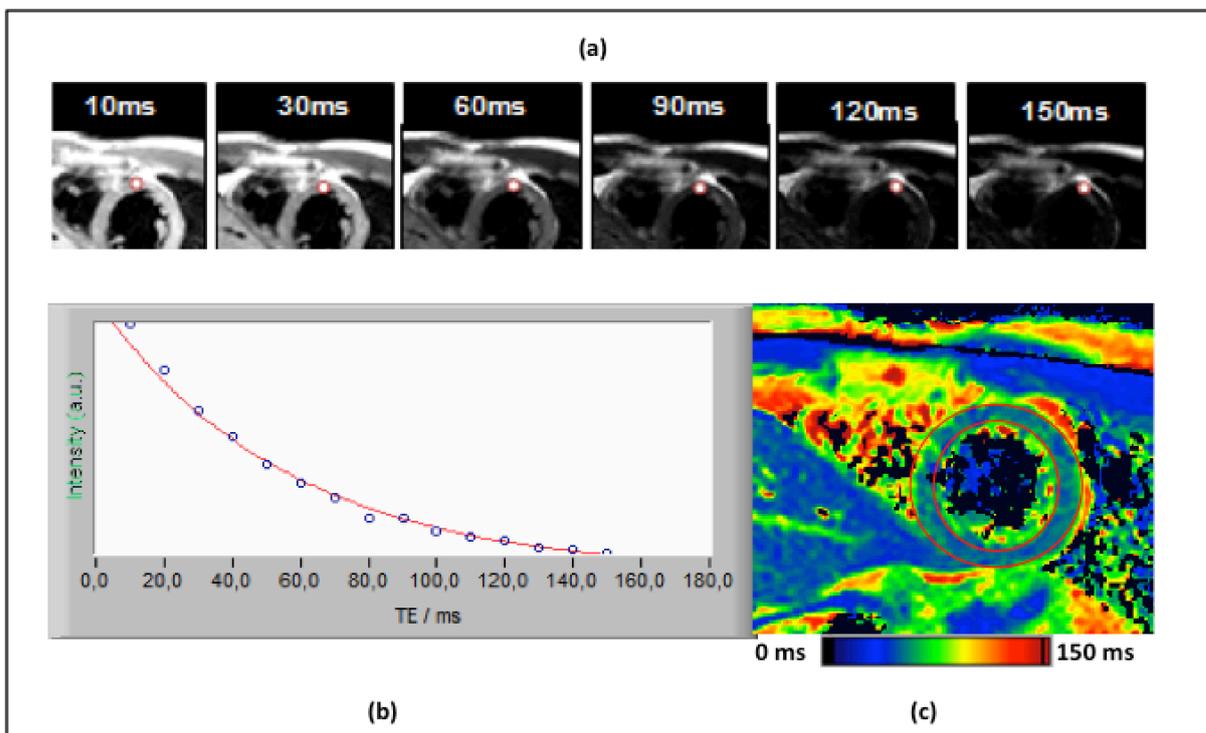
Die Akquisition der lokalen T2 Daten erfolgte über eine gegatete Multi-Slice Multi-Echosequenz. Konkret kam eine kombinierte Gradienten-Spinecho Sequenz (*GRASE*) zum Einsatz. Diese Sequenz vereint eine Turbospinecho-Sequenz (TSE) mit einer Echo-planar-

imaging-Sequenz (EPI) durch eine Abfolge von  $180^\circ$  Pulsen und einer Anzahl von Gradientenechos. In der TSE Sequenz mit  $m$  Echopulsen werden zwischen diesen Refokussierpulsen  $n$  Gradientenechos gemessen. Die Messzeit in der Sequenz wird neben der Anzahl der Messungen und der Repetitionszeit durch den Turbospinecho-Faktor  $m$  ( $m$ =Anzahl der Echopulse in einer Messung) und dem EPI-Faktor ( $n$ =Zahl der Gradientenechos) bestimmt. (Meier, 2013)

Die Sequenz wurde entsprechend den RR Intervallen getriggert und ein respiratorischer Navigator eingesetzt, sodass die Sequenz unter freier Atmung ablaufen konnte (*GRASE: TR = 1 cardiac cycle, EPI factor 3, 15 echos with 10 ms interecho spacing, FA = 90, resolution 2 x 2 x 10 mm<sup>3</sup>, end-diastolic-trigger*). (Bönner et al., 2015)

Pro Spinanregung werden durch die Sequenz 15 Echos mit jeweils um 10 ms ansteigender Echozeit akquiriert. Mit zunehmender Echozeit sinkt die myokardiale Signalintensität aufgrund des T2 Abfalls ab. Für jeden Bildpunkt wurde durch Anpassung der exponentiellen

Daten an die Funktion  $f(t) = y_0 + h \cdot \exp\left(-\frac{t}{T_2}\right)$  die T2 Zeit berechnet. Die lokale T2 Zeit wird dann auf einer Map des Herzens farbkodiert abgebildet.



**Abb. 5 T2 Map Erzeugung mittels Gradienten-Spinecho Sequenz (GRASE).** Pro Spinanregung entstehen Echobilder mit ansteigender Echozeit von 10 bis 150 ms (a). Die für jedes Voxel errechnete Kurve des Signalintensitätsabfalls ist in (b) aufgeführt. Dargestellt ist ein Kurzachsenschnitt des linken Ventrikels. Die angegebene Skala korreliert die Farbe mit der T2 Zeit in ms (c).

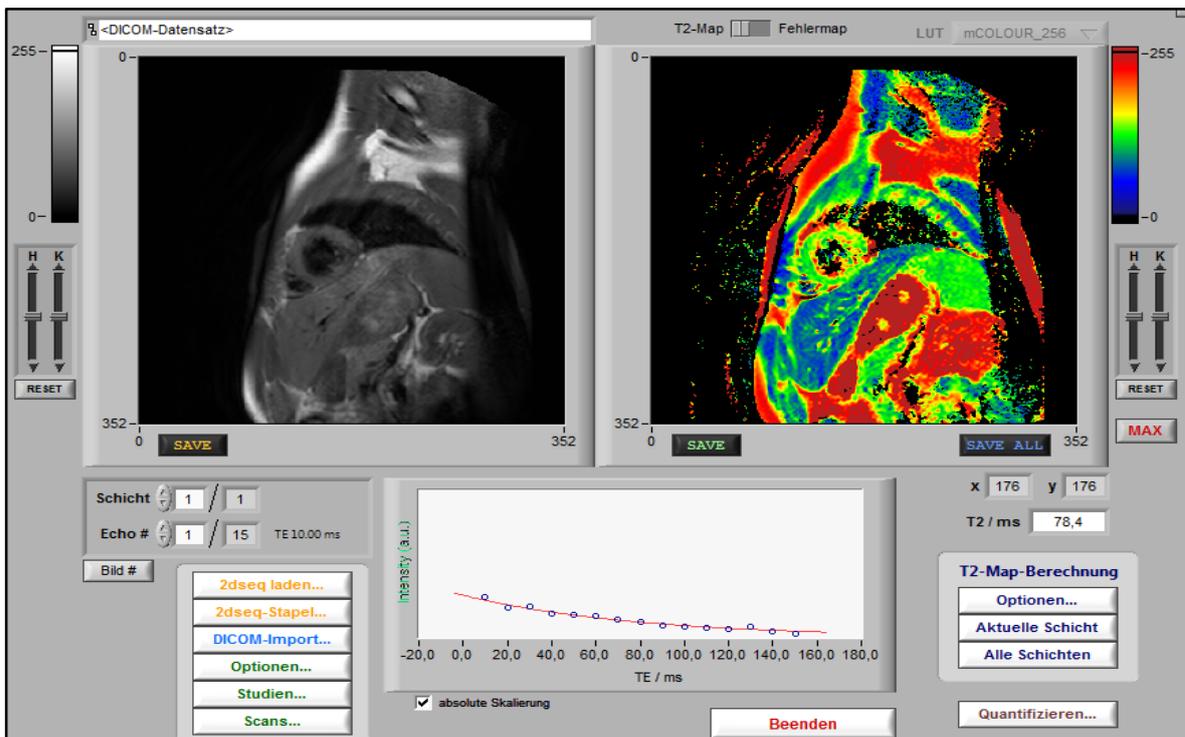
Zur Unterdrückung von blutbedingten Artefakten in den subendokardialen Schichten kam

eine *double inversion block blood pulse* zum Einsatz.

## 2.9 Bildauswertung der T2 Maps

Die Auswertung der zu untersuchenden T2 Mapping Sequenz erfolgte mit Hilfe einer Software, die auf LABView (National Instruments, Austin, TX) basiert. Eine exponentielle Kurve wurde an den Intensitätsabfall über die 15 Bilder der Multiechosequenz für jedes einzelne Bildpixel angepasst. Der Bias wurde über dem mittleren Hintergrund aller 15 Bilder ermittelt. Dadurch konnte die Exponentialgleichung linearisiert und ein Regressionskoeffizient ( $R^2$ ) als *goodness-of-fit* Parameter eingeführt werden um Zufallsfehler zu minimieren. Falls  $R^2$  nicht im gewählten Toleranzintervall zwischen 0.7 bis 1.0 lag wurde der zugehörige T2 Wert nicht dargestellt.

Abbildung 6 zeigt ein *screenshot* des T2 Mapping Tools.

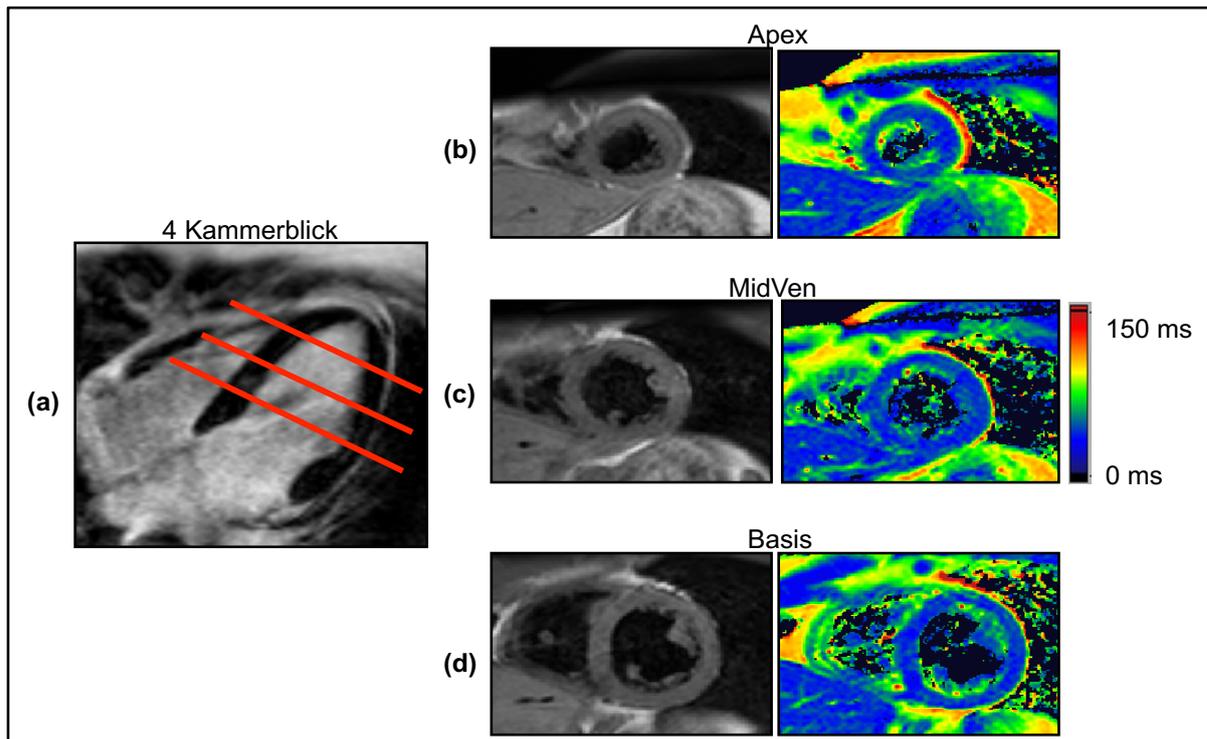


**Abb. 6 Auswertungsoberfläche des T2 Mapping Tools.** Dargestellt ist die Auswertungsoberfläche des T2 Mapping Tools. Zu sehen ist ein natives T2 gewichtetes Bild links. Daneben farbig unterlegt die dazugehörige T2 Map des Patienten. Mittig unten kennzeichnet die rote Linie den Intensitätsabfall der T2 Zeit entlang der 15 Echobilder für ein definiertes Pixel.

Ausgewertet werden jeweils drei Kurzachsenschnitte des linken Ventrikels, welche repräsentativ in Abbildung 7 dargestellt sind. Für jede einzelne Schicht wird eine individuelle ROI eingezeichnet. Im Anschluss folgt die Addition der T2 Werte der drei Schichten und die Berechnung des Mittelwertes. Zur detaillierteren Analyse erfolgt eine segmentale Auswertung

der T2 Maps.

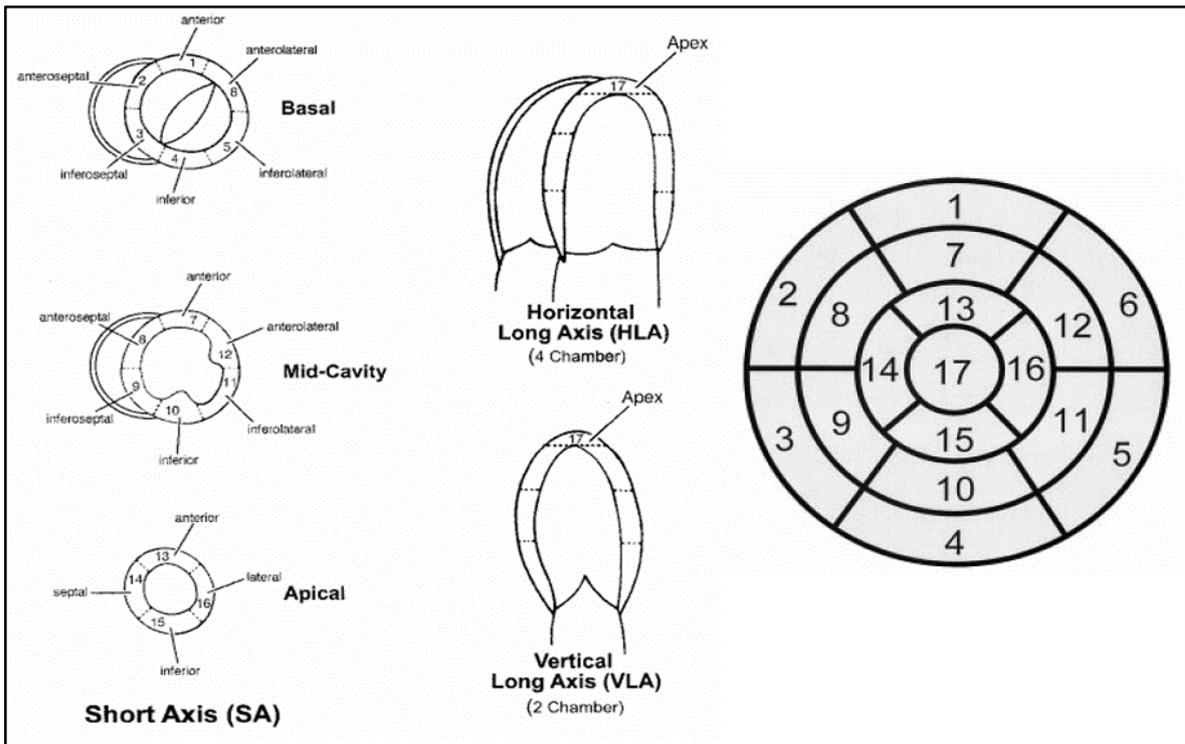
Das auf „LabView“ basierende Auswertungsprogramm erlaubt die Berechnung der T2 Maps sowohl für lokal begrenzte Bezirke im linken Ventrikel, als auch für das gesamte linksventrikuläre Myokard. Mit dem Programm werden Mittelwerte, Median und Standardabweichung sowie das entsprechende Histogramm über die Verteilung der T2 Werte automatisch berechnet und angegeben.



**Abb. 7 Auswertung der T2 Maps.** Abbildung (a) zeigt einen Vierkammerblick im nativen MRT Bild. Die rot eingezeichneten Linien kennzeichnen die drei Ebenen der Kurzachsenschnitte des linken Ventrikels, welche auf der rechten Bildseite ((b)-(d)) sowohl als T2w Imaging Bild, als auch in der T2 Map von apikal nach basal dargestellt sind. MidVen=midventrikulär.

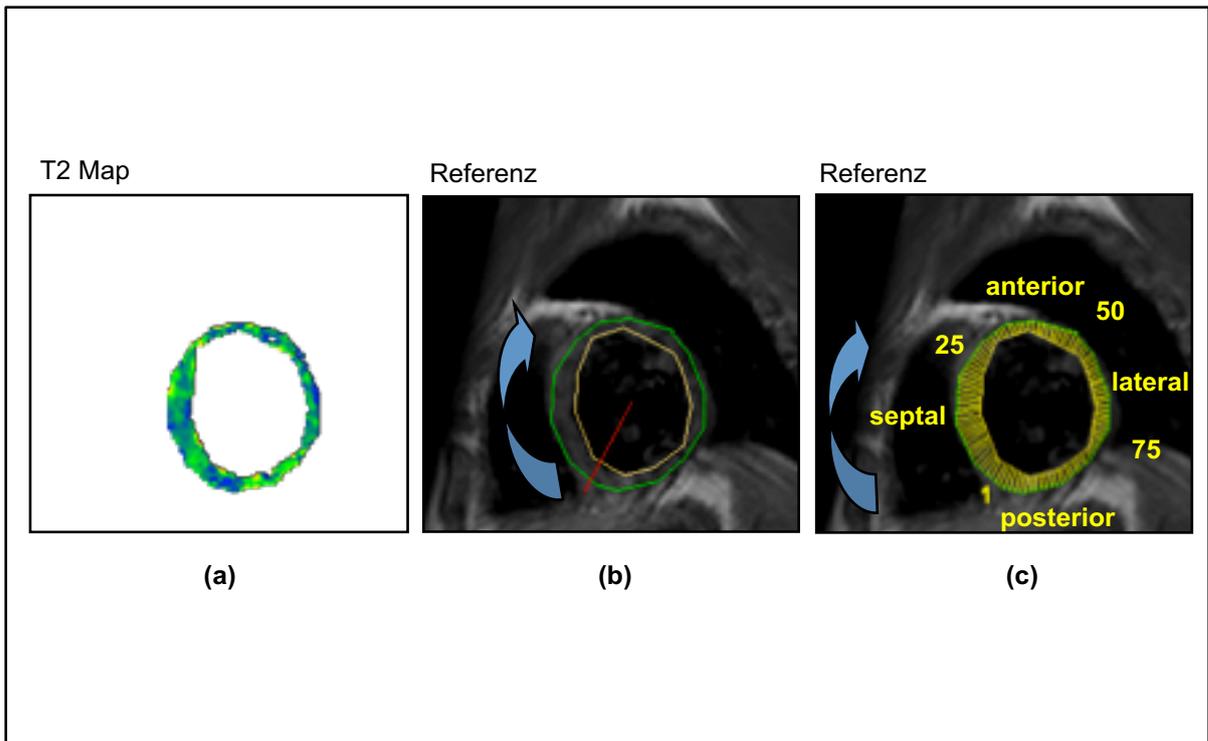
### 2.9.1 Segmentale Auswertung

Zusätzlich wurden die segmentalen T2 Werte nach dem 17 Segmentmodell der *American Heart Association* (AHA) im Kurzachsenschnitt berechnet. (Abbildung 8) (Cerqueira et al., 2002) Hierbei wird der linke Ventrikel vom posterioren Ansatz des rechten Ventrikels (unterer Insertionspunkt) im Uhrzeigersinn in hundert Sektoren eingeteilt. In der apikalen Schicht bilden die ersten 25 Sektoren das septale Segment 14, die Sektoren 26 bis 50 das anteriore Segment 13, die Sektoren 51 bis 75 das laterale Segment 16 und das inferiore Segment 15 wird von den Sektoren 76 bis 100 gebildet. Ein Segment rekrutiert sich daher folglich aus 25 Sektoren.



**Abb. 8 17 Segmentmodell des Herzens.** Links im Bild sind die Segmente der drei Kurzschnittanschnitte schematisch gezeigt. Basal oben, midventrikulär in der Mitte und apikal unten. In der Mitte des Bildes sind die Segmente im Vier- und Zweikammerblick abgebildet. Rechts ist das 17-Segment Modell dargestellt. (Quelle: Cerqueira et al., 2002)

Mit derselben Methodik wurden die midventrikuläre und die basale Schicht in Sektoren unterteilt und die entsprechenden T2 Werte berechnet. Hierbei muss beachtet werden, dass die midventrikuläre und die basale Schicht aus sechs Segmenten zusammensetzen. Abbildung 9 stellt die sektorielle Analyse grafisch dar.

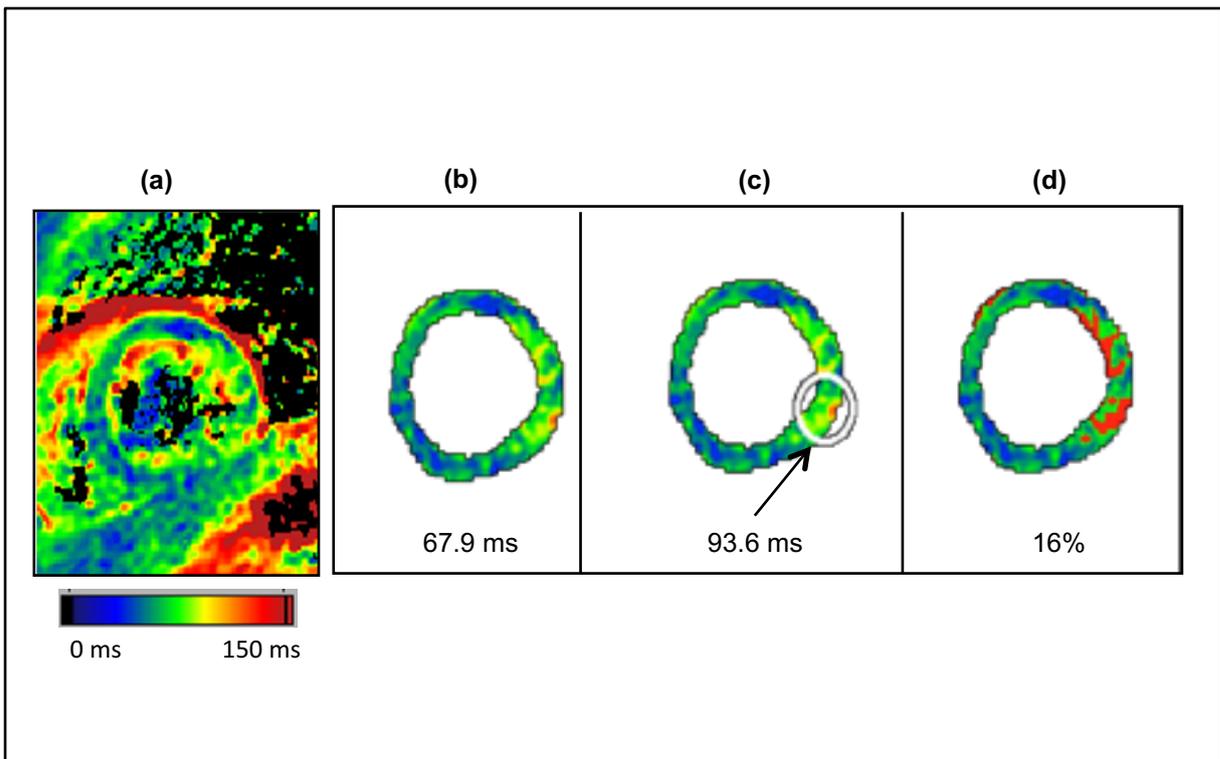


**Abb. 9 Sektorielle Analyse der T2 Zeit.** In Abbildung (a) ist die *region of interest* (ROI) einer T2 Map des linken Ventrikels gezeigt. In Abbildung (b) ist die Methodik der segmentalen Auswertung dargestellt. Eine endomyokardiale (gelb) und eine epikardiale (grün) ROI umgeben den linken Ventrikel. Der rote Strich kennzeichnet den Startpunkt der Berechnung und der Pfeil (blau) zeigt die Richtung an. Rechts im Bild (c) wurden 100 Sektoren eingezeichnet (gelbe Striche) und die Sektoren 1, 25, 50 und 75 beschriftet. ROI= *region of interest*.

### 2.9.2 Quantifizierung der Fläche mit T2 Zeiten über 80 ms

Ein mit Hilfe von *receiver operating curve* Analysen (ROC Analysen) definierter *cut-off* von einer T2 Zeit über 80 ms diente zur Differenzierung zwischen gesundem und entzündetem Myokard, sodass myokardiales Gewebe mit einer T2 Zeit oberhalb von 80 ms als pathologisch eingestuft wurde. Die entsprechende ROC Analyse wurde anhand der T2 Werte von 26 Patienten mit bioptisch nachgewiesener Myokarditis und den T2 Werten von 60 gesunden Probanden berechnet. Die Fläche des linken Ventrikels mit einer T2 Zeit oberhalb von 80 ms wurde jeweils individuell in drei Kurzachsenschnitten errechnet und der Mittelwert der berechneten Fläche über die drei Schichten hinweg gebildet. Abbildung 10 verdeutlicht das gewählte Vorgehen anhand einer Beispiel-T2 Map eines Patienten mit akuter Myokarditis. Dargestellt ist die midventrikuläre Schicht eines Myokarditis Patienten. Die globale T2 Zeit des linken Ventrikels beträgt 67.9 ms. Der in Abbildung (b) weiß eingekreiste entzündliche Foci weist eine mittlere T2 Zeit von 93.7 ms auf. Da diese lokale Entzündungsreaktion nur geringen Einfluss auf die globale T2 Zeit des gesamten linken Ventrikels nimmt, wurde die prozentuale Fläche mit einer pathologisch erhöhten T2 Zeit quantifiziert. Dadurch sollten kleinere Entzündungsherde im Myokard besser detektiert

werden.



**Abb. 10 Quantifizierung des inflammatorischen Myokards.** (a) zeigt die T2 Map eines Myokarditis Patienten. Abbildungen (b) bis (d) illustrieren die midventrikuläre *region of interest* (ROI) des linken Ventrikels. Die globale T2 Zeit des linken Ventrikels beträgt 67.9 ms (b). Die fokale T2 Zeit im weiß eingekreisten Entzündungsfokus lateral beträgt 93.6 ms. Die Fläche mit einer berechneten T2 Zeit über 80 ms (rot) liegt bei 16% (c). ROI= *region of interest*.

## 2.10 MRT Phantomexperimente zur T2 Relaxationszeitmessung

### 2.10.1 Ex-vivo Versuch zur Korrelation von T2 Zeit und Wassergehalt

Zur Korrelation der T2 Relaxationszeit mit dem Wassergehalt im Muskelgewebe wurde folgendes Trocknungsexperiment durchgeführt: Ein homogenes Stück Schweinefleisch aus dem örtlichen Supermarkt als Modell des peripheren Muskels, wurde in 12 gleich große Stücke zerteilt. Jedes Stück wog ca. 30 g. Nach dem Wiegen aller Stücke wurden diese entsprechend einem Protokoll bei 70 C° im Heizschrank getrocknet. (Tabelle 4) Nach dem Trocknen wurde wiederum das Gewicht bestimmt um anhand der Gewichtsabnahme den prozentualen Anteil des entzogenen Wassers zu bestimmen. Im MRT wurde die T2 Zeit ermittelt und mit dem Wassergehalt im Gewebe verglichen. Dafür wurden alle 12 Stücke entsprechend der Reihenfolge der Trocknungszeit nebeneinander auf einer Stoffunterlage im MRT gescannt und die T2 Werte berechnet.

Nummer Fleischstück	Trocknungszeit bei 70 C° in Minuten	Relativer Wassergehalt des Gewebephantoms in Prozent (%)
1.	0	100
2.	15	95
3.	45	90
4.	90	80
5.	180	70
6.	240	60
7.	360	52
8.	480	45
9.	600	40
10.	900	36
11.	1200	32
12.	1440	30

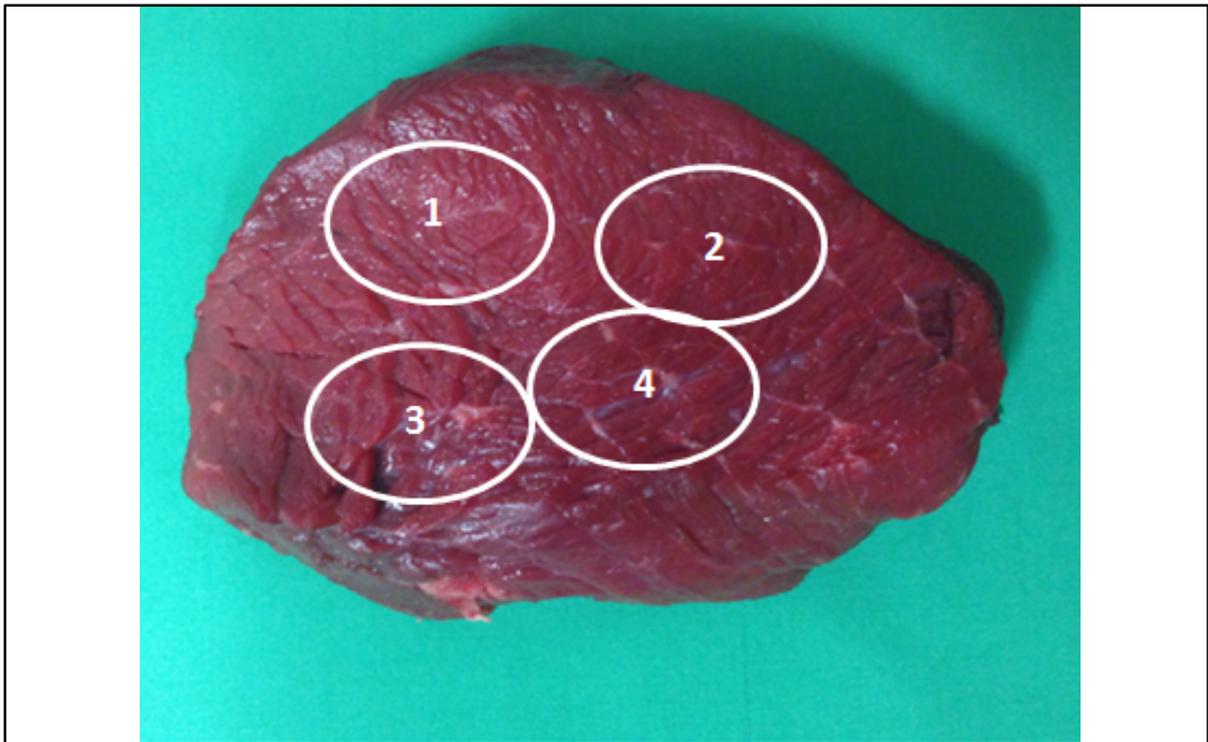
**Tabelle 4 Protokoll Trocknungsexperiment.** In der linken Spalte wird die Nummer des jeweiligen Schweinefleischstückes angegeben. In der mittleren Spalte wird die Trocknungszeit bei einer Temperatur von 70 C° in Minuten abgebildet. Die rechte Spalte gibt den relativen Wassergehalt des Schweinefleisches, bezogen auf den Ausgangswassergehalt, an.

### 2.10.2 Ex-vivo Experiment zur globalen Wassergehaltsquantifizierung

Ein 100 g schweres Stück Schweinefleisch aus dem örtlichen Supermarkt wurde als Muskelphantom im MRT untersucht bevor es für drei Stunden in Speisesalz eingelegt wurde. Nach drei Stunden wurde das Stück Fleisch erneut im MRT gescannt. Anschließend erfolgte eine 30 minütige Rehydratation in Leitungswasser, bevor das Stück erneut im MRT gescannt wurde.

### 2.10.3 Ex-vivo Darstellung eines lokalen Ödems

Zur Darstellung eines lokalen Ödems im Muskel wurde ein Stück Schweinefleisch als Modell des peripheren Muskels verwendet. Zuerst wurde das Stück Schweinefleisch im MRT gescannt und die globale T2 Zeit errechnet. Anschließend wurden mit Hilfe einer 2 ml Spritze jeweils 0.5 ml und 1 ml Natrium-Chlorid Lösung und 0.5 ml und 1 ml Sonnenblumenöl in das Stück Schweinefleisch entsprechend Abbildung 11 infiltriert. Danach wurde das Stück Fleisch wieder im MRT gescannt und die T2 Zeit berechnet.



**Abb. 11 Versuchsaufbau zur Darstellung eines lokalen Ödems im MRT.** Ein Stück Schweinefleisch aus dem örtlichen Supermarkt wurde auf einem grünen Stofftuch im MRT gescannt. Die nummerierten Kreise zeigen die Bereiche in denen jeweils vor und nach MRT Untersuchung 0.5 ml bzw. 1 ml Natrium-Chlorid-Lösung bzw. Sonnenblumenöl infiltriert wurde.

## 2.11 Statistische Testverfahren

Zur statistischen Auswertung der Daten wurde die Software Sigma Stat2010 (Systat GmbH), sowie GraphPad Prism 7 herangezogen. Bei den angegebenen metrischen Variablen und den daraus errechneten arithmetischen Mittelwerten wird nach dem Symbol „ $\pm$ “ die Standardabweichung der Werte angegeben.

Die statistische Auswertung der gesammelten und generierten Daten erfolgte mit dem verbundenen und ungebundenem *students t-test*. Dieser dient dazu aus einer beobachteten Stichprobe Rückschlüsse auf eine Grundgesamtheit zu schließen, dem diese zugrunde liegt. Durch verbundene Stichproben können Daten untersucht werden die zweimal am gleichen Patienten erhoben worden sind, wobei die Differenzen der beiden Stichproben unter Voraussetzung der Normalverteilung berücksichtigt werden. Unverbundene Stichproben spielen eine Rolle, wenn verschiedene Gruppen miteinander verglichen werden sollen. Hierbei werden die Mittelwerte der Stichproben unterschiedlicher Patienten gegenübergestellt, wobei eine konstante Varianz in den beiden Gruppen vorausgesetzt wird. Ab einem Niveau von unter 0.05 wurden die P-Werte als signifikant angesehen.

Außerdem wurden ROC Analysen angewandt um die Sensitivität und Spezifität von

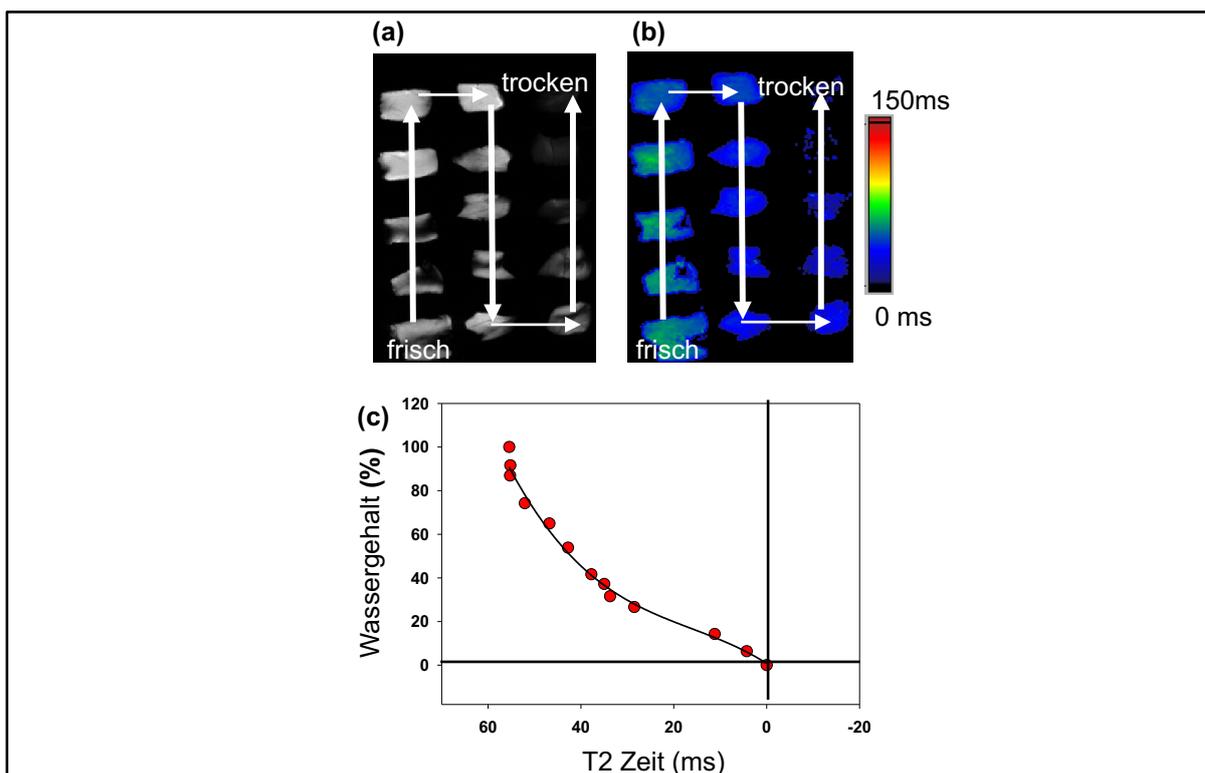
verschiedenen MRT Sequenzen zu beurteilen. Durch Berechnung von Sensitivitäten, Spezifitäten, sowie positiven und negativen prädiktiven Werten und der *area under the curve* (AUC) kann ein optimaler Schwellenwert berechnet werden ab dem eine Untersuchung ein positives Testergebnis aufweist.

### III. Ergebnisse

#### 3.1 Grundlagenversuche zur T2 Relaxationszeitmessung

##### 3.1.1 Einfluss des Wassergehalts auf die T2 Zeit

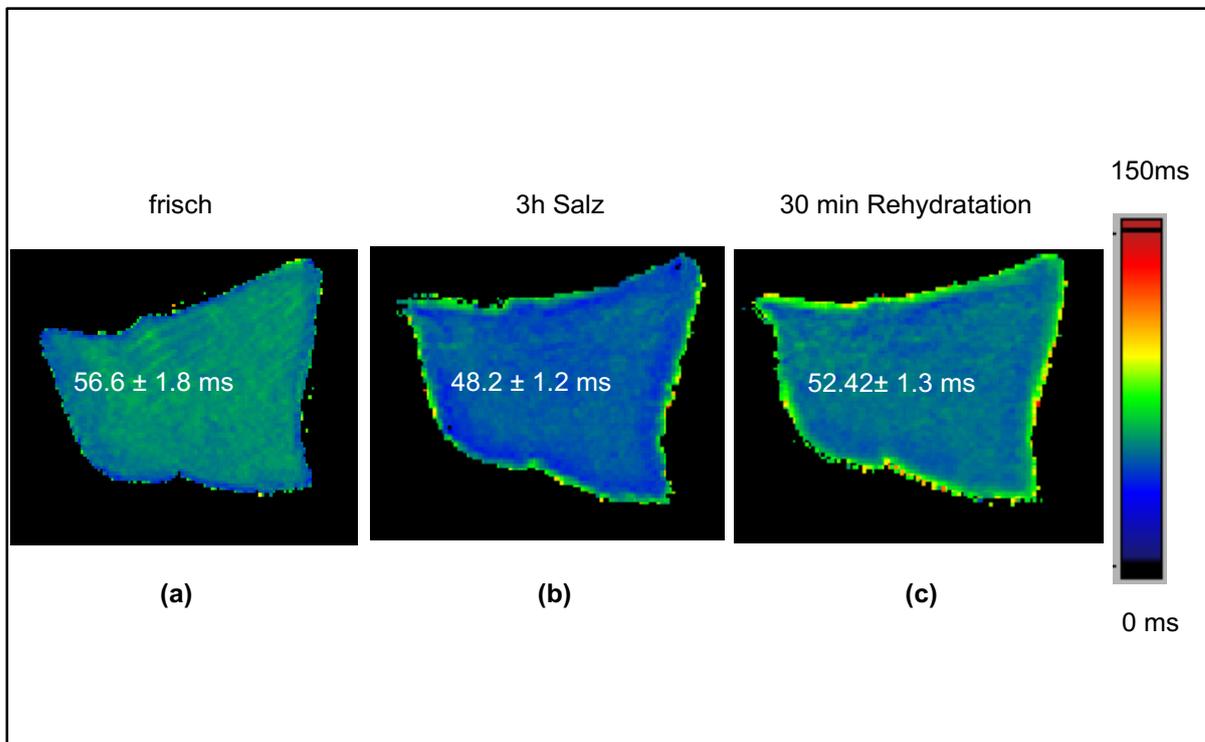
Im Phantomtrocknungsexperiment zeigte sich eine Korrelation zwischen T2 Zeit und Wassergehalt der getrockneten Muskelphantome. Mit zunehmendem Wassergehalt im Fleischmodell stieg die T2 Zeit an. Bei einem frischen Fleischstück mit hohem Wassergehalt (relativer Wassergehalt 100% vom Ausgangswassergehalt) betrug die T2 Zeit 55.0 ms. Hohe Schwankungen des Wassergehalts im oberen Bereich korrelierten mit stärkeren Schwankungen der T2 Zeit. Mit längerer Trocknungszeit sank der relative Wassergehalt der Muskelphantome weniger stark. Dementsprechend nahm die T2 Zeit weniger stark ab. Abbildung 12 zeigt die Ergebnisse des Versuchs im Überblick.



**Abb. 12 Korrelation von Wassergehalt und T2 Zeit im Schweinefleischmodell *ex-vivo*.** Abbildung (a) zeigt die anhand der Trocknungszeit sortierten Schweinefleischstücke im T2 Bild. Die weiß eingezeichneten Pfeile kennzeichnen die Sortierung der Stücke nach der Trocknungszeit beginnend mit dem Fleischstück mit der kürzesten Trocknungszeit. Abbildung (b) zeigt die dazugehörige T2 Map. (c) trägt den berechneten prozentualen Wassergehalt (%) gemessen am Ausgangswassergehalt der Fleischstücke gegen die T2 Zeit (ms) auf. Die roten Punkte entsprechen den Werten der einzelnen getrockneten Fleischmodelle.

In einem zweiten Experiment wurde ein Muskelphantom vor und nach Einlegen in Salz für drei Stunden und nach 30 minütiger Rehydratation in Leitungswasser im MRT untersucht. Die T2 Zeit im Schweinefleisch betrug  $56.6 \pm 1.8$  ms. Nach Einlegen in Salz für drei Stunden

betrug die T2 Zeit  $48.2 \pm 1.2$  ms. Damit sank die T2 Zeit um 14.8%. Nach 30 minütiger Rehydratation in wässriger Lösung wurde im MRT eine T2 Zeit von  $52.4 \pm 1.3$  ms gemessen. Dieser Wert entsprach 92.2% des ursprünglichen T2 Wertes. Abbildung 13 zeigt die T2 Maps des Muskelphantoms zu den drei unterschiedlichen Zeitpunkten.

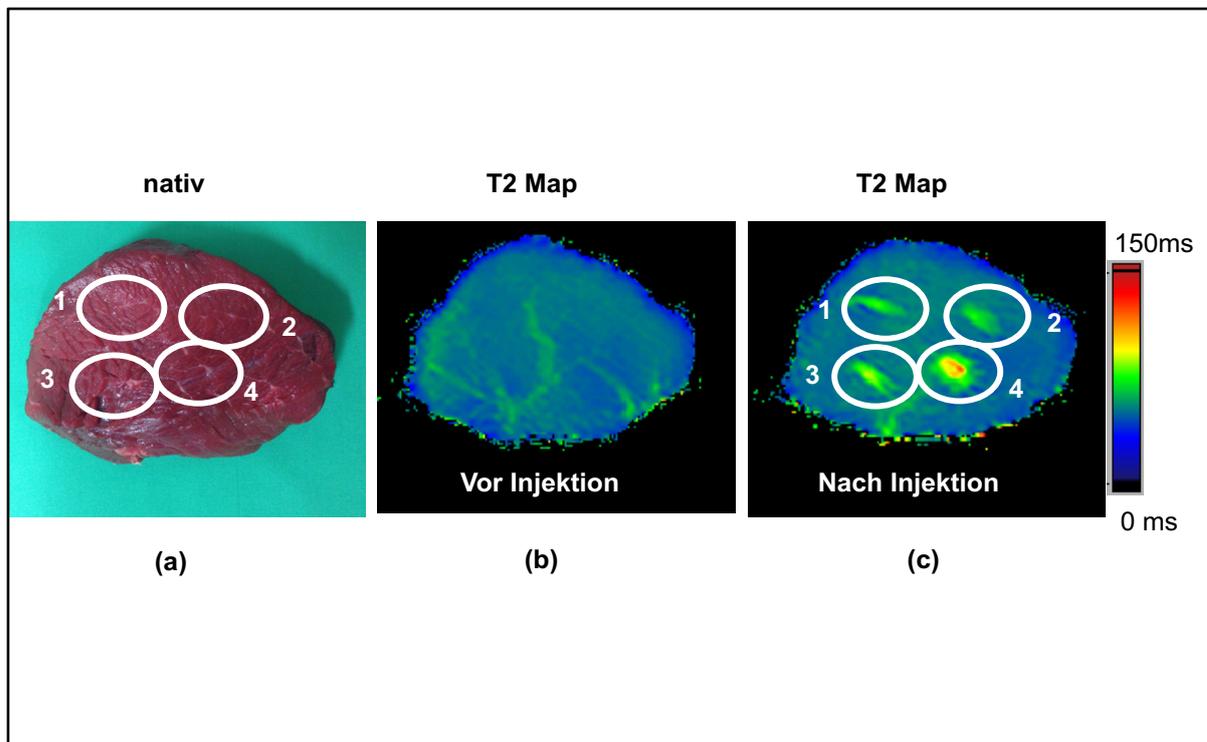


**Abb. 13 Darstellung eines globalen Ödems im Pökelexperiment.** In der linken Abbildung (a) ist die T2 Map eines nativen Muskelphantoms dargestellt. Mittig (b) ist die T2 Map des Fleischstückes nach drei stündigem Einlegen in Salz gezeigt. Rechts (c) ist die T2 Map 30 Minuten nach Rehydratation illustriert. Die angegebenen Zahlen entsprechen der gemessenen T2 Zeit in ms. Die Farbskala korreliert mit der Höhe der T2 Zeit in ms.

### 3.1.2 Detektion lokaler Ödeme im Schweinefleischmodell

Die T2 Maps wiesen lokal erhöhte T2 Werte in den Bereichen in denen Flüssigkeit infiltriert wurde auf. Visuell grenzen sich die vier Areale mit Flüssigkeitsapplikation durch ihre grün-gelb-rote Farbe vom übrigen Schweinefleisch ab. (Abb. 14) Die globale T2 Zeit im untersuchten Phantomgewebe betrug vor Injektion  $52.3 \pm 2.5$  ms. Nach Injektion der angegebenen Menge Natrium-Chlorid-Lösung und Sonnenblumenöl betrug die globale T2 Zeit  $54.4 \pm 8.2$  ms. Dies entsprach einem Zuwachs von 4.1%. In Segment eins betrug die T2 Zeit  $62.4 \pm 7.9$  ms, in Segment zwei  $62.3 \pm 5.6$  ms, in Segment drei  $70.7 \pm 11.2$  ms und in Segment vier  $84.8 \pm 14.4$  ms. In den Arealen mit Flüssigkeitsapplikation war die T2 Zeit mindestens um 10 ms höher als im umliegenden unbehandelten Muskelphantom. Zudem waren die T2 Zeiten in den Segmenten zwei und vier mit Natrium-Chlorid-Injektion höher als in den Segmenten eins und drei. Nach Sonnenblumenöl Applikation stieg die lokale T2 Zeit

im Muskelphantom von 52.3 ms auf 66.5 ms um 27.3% an. Bei lokaler Natrium-Chlorid-Infiltration stiegen die T2 Werte von 52.3 ms auf 73.5 ms um 40.6% an. Zudem waren die T2 Werte in den Segmenten mit 1 ml Injektionslösung im Mittel höher. Die Differenz zwischen Segment drei und Segment eins betrug 8.3 ms, dies war ein Anstieg der T2 Zeit um 13.4%. Die Differenz zwischen Segment vier und Segment zwei betrug 22.6 ms (+36.4%).

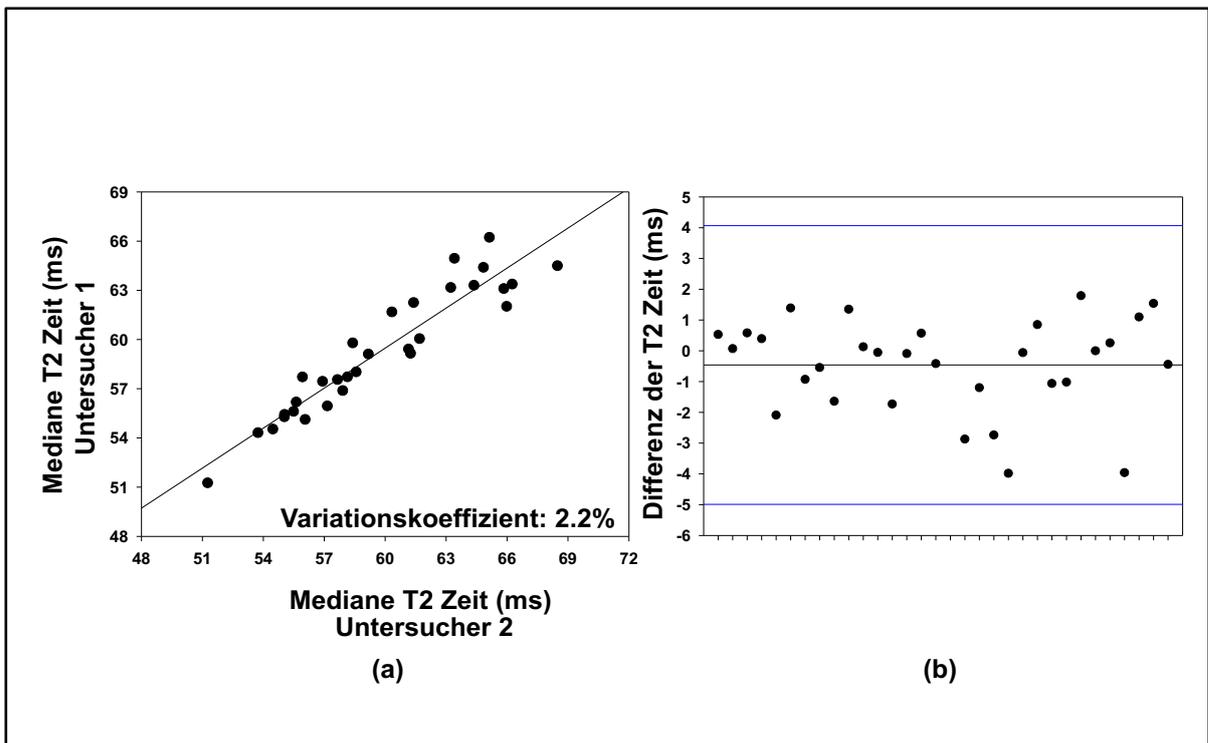


**Abb. 14** *Ex-vivo* Phantomversuch zur Darstellung eines lokalen Ödems im Gewebe. Links ist das untersuchte Fleischstück vor Injektion auf grüner Stoffunterlage gezeigt. Weiß eingezeichnet sind die Bereiche in denen jeweils Natrium-Chlorid-Lösung bzw. Sonnenblumenöl infiltriert worden ist. In die Kreise 1 und 3 wurde Sonnenblumen-Öl infiltriert und in die Kreise 2 und 4 Natrium-Chlorid-Lösung. Mittig ist die T2 Map des nativen Fleischstücks vor Injektion gezeigt. (c) zeigt die T2 Map des Fleischstücks nach Injektion.

### 3.1.3 Interobservervariabilität

Die T2 Maps von 30 gesunden Probanden wurden zur Überprüfung der Untersucherabhängigkeit von jeweils zwei Untersuchern unabhängig voneinander ausgewertet.

Dabei ergab die Berechnung des Variationskoeffizienten einen Wert von 2.2%. Die mittlere Differenz der T2 Werte betrug  $0.004 \pm 1.68$  ms ( $R=0.94$ ). Es zeigten sich T2 Wert Differenzen im Bereich von +2 bis -4 ms in der Auswertung der T2 Maps der beiden Untersucher. Abbildung 15 zeigt die dazugehörige grafische Darstellung.



**Abb. 15 Untersuchung der Interobservervariabilität:** Abbildung (a) trägt die von zwei Untersuchern unabhängig gemessene mediane T2 Zeit gegeneinander grafisch auf. Die Punkte repräsentieren die jeweils gemessenen T2 Werte der zwei Untersucher. Abbildung (b) zeigt die berechneten T2 Zeit Differenzen, die sich aus der Differenz der T2 Werte von Untersucher 1 abzüglich der Werte von Untersucher 2 ergaben. Dabei zeigen sich T2 Wert Differenzen im Bereich von +2 bis -4 ms.

## 3.2 Beschreibung des Studienkollektivs

### 3.2.1 Patientencharakteristika

Die kardiovaskulären Risikofaktoren bewegten sich im Patientenkollektiv in der gleichen Größenordnung wie die der Probanden. Arterielle Hypertonie war bei 23.1% der bpAMC Patienten bekannt, Diabetes Mellitus bei 4.0%, Hyperlipidämie bei jedem Fünften (21.7%) und knapp ein Drittel (30.7%) der Patienten waren regelmäßige Raucher. In der Kohorte der Probanden gaben 27.3% arterielle Hypertonie an, 6.0% einen Diabetes Mellitus, 30.6% eine bekannte Hyperlipidämie und 20.8% der Probanden waren regelmäßige Raucher. Drei Viertel der bpAMC Patienten (76.2%) klagten über einen respiratorischen oder gastrointestinalen Infekt vor der initialen kardialen Beschwerdesymptomatik.

Im Labor ließ sich bei 81.0% der bpAMC Patienten eine Erhöhung der myokardialen Troponin Werte nachweisen mit einem durchschnittlichen Wert von  $319 \pm 550$  pg/ml. 71.0% der sAMC+EMBneg zeigten laborchemisch erhöhte Troponin Werte. Der mittlere Wert betrug  $215 \pm 356$  pg/ml. Bei 82.0% der sAMC-EMB Patienten war eine Troponin Erhöhung im Bereich von  $164 \pm 262$  pg/ml detektierbar. Diese Unterschiede waren nicht signifikant

( $p > 0.05$ ).

EKG Veränderungen im Sinne der Eingangskriterien ließen sich bei 82.3% der bpAMC Patienten, bei mehr als der Hälfte der sAMC+EMBneg Patienten (54.5%), sowie bei 63.2% der sAMC-EMB Patienten dokumentieren.

Über Dyspnoe bei leichter körperlicher Belastung (NYHA Stadium III) klagten 30.7% der bpAMC Patienten, 27.3% der Patienten der sAMC+EMBneg Gruppe und 21.7% der sAMC-EMB Kohorte. Dyspnoe bereits in Ruhe (NYHA Stadium IV) gaben 21.7% der bpAMC Patienten, 9.1% der sAMC+EMBneg Patienten und 17.4% der sAMC-EMB Patienten an.

Die weiteren klinischen Symptome lagen in den verschiedenen Patientengruppen in der selben Größenordnung: 36.6 bis 54.0% der Patienten gaben Brustschmerzen an, über Palpitationen klagten 9.1 bis 28.0% und über Leistungsschwäche 40.0 bis 81.8%.

Tabelle 6 fasst die aufgeführten Ergebnisse zusammen.

	Probanden (n=60)	bpAMC (n=26)	sAMC+EMBneg (n=11)	sAMC - EMB (n=23)
Alter	42.9±19.6	42.5±16.1	44.1±14.3	43.6±15.5
weiblich	28%	38%	18%	18%
Kardiovaskuläre RF				
Hypertonie	22.3 %	23.1 %	18.1 %	21.7 %
Diabetes	6.0 %	4.0 %	9.1 %	8.7 %
Hyperlipidämie	30.6 %	21.7 %	9.1 %	13.4 %
Raucher	26.8 %	30.7 %	27.3 %	21.7 %
Klinische Präsentation				
Infektionsanamnese	0 %	76.2 %	45.5 %	73.9%
hsTnT (pg/ml)	<14	319 ±550	215±356	164±262
hsTnt >14 pg/ml	0 %	81 %	71 %	82 %
EKG-Veränderungen	0 %	82.3%	54.5 %	63.2 %
Kreatinin (mg/dl)	n.a.	0.95±0.2	0.92±0.8	0.91±0.4
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	25±3	25±3	25±3	25±3
NYHA (%)				
I	n.a.	23.1 %	45.5 %	26.1 %
II	n.a.	26.9 %	18.1 %	34.7 %
III	n.a.	30.7 %	27.3 %	21.7 %
IV	n.a.	21.7 %	9.1%	17.4 %
Brustschmerzen	n.a.	40.0 %	36.6 %	54.0 %
Palpitationen	n.a.	28.0 %	9.1%.	20.0 %.
Leistungsschwäche	n.a.	40.0 %.	81.8 %	45.0 %

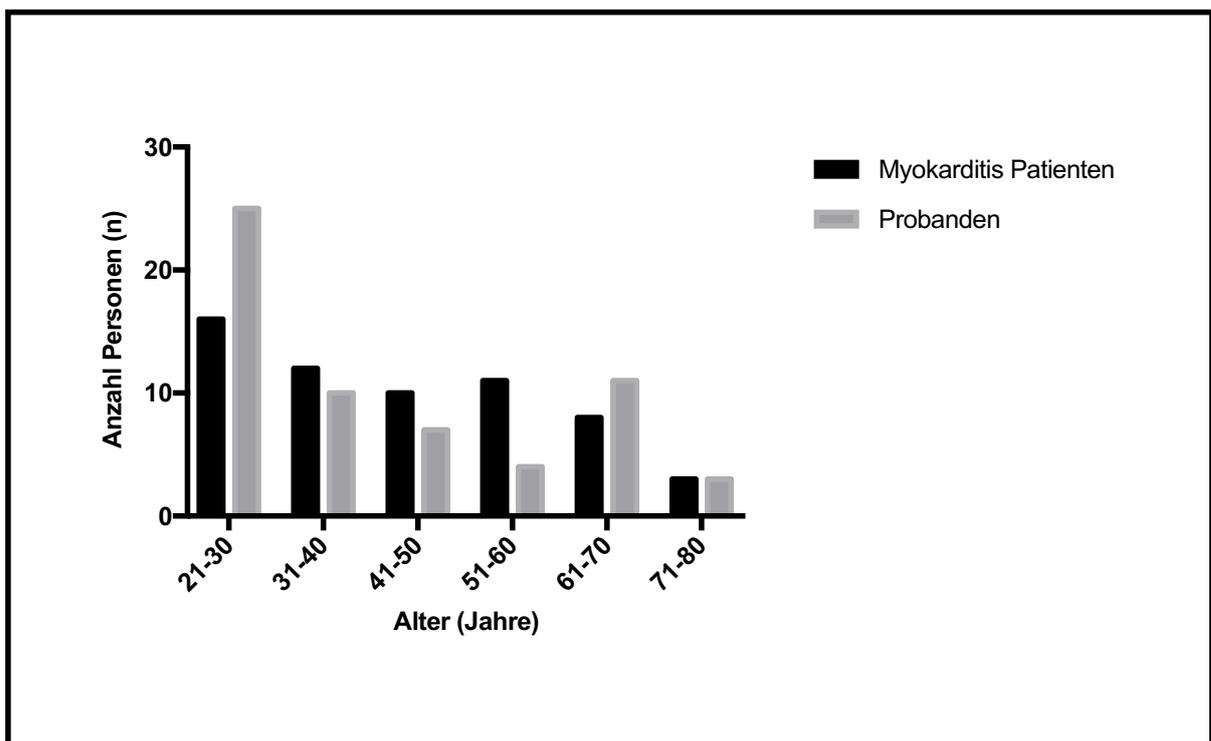
**Tabelle 6 Patientencharakteristika.** Übersicht über die kardiovaskulären Risikofaktoren (RF) und klinische Präsentation der Probanden und der Patienten (bpAMC, sAMC+EMBneg, sAMC-EMB). bpAMC=bioptisch

nachgewiesene akute Myokarditis, sAMC+EMBneg=klinisch wahrscheinliche akute Myokarditis mit negativer Myokardbiopsie, sAMC-EMB=klinisch wahrscheinliche akute Myokarditis ohne durchgeführte Myokardbiopsie, RF= Risikofaktoren, hsTnT= hochsensitives Troponin T (ng/ml), EKG=Elektrokardiogramm, BMI= *body-mass-index*, NYHA= *New York Heart Association*.

### 3.2.2 Altersverteilung im Studienkollektiv

Das Alter der bpAMC Patienten betrug  $42.5 \pm 16.1$  Jahre. 38% der Patienten waren weiblich, mit einem Durchschnittsalter von  $43.3 \pm 16.2$  Jahren. Der Anteil der männlichen Studienteilnehmer betrug 62% mit einem durchschnittlichen Alter von  $41.2 \pm 15.3$  Jahre. Der jüngste Patient war 21 Jahre alt und der älteste Patient 77 Jahre alt.

Das Alter der 60 gesunden Probanden betrug  $42.9 \pm 19.6$  Jahre. 28% der Probanden waren weiblich mit einem Durchschnittsalter von  $45.0 \pm 21.6$  Jahren. Die 62% männlichen Kontrollen waren  $39.6 \pm 19.2$  Jahre alt. Der jüngste Proband war 21 Jahre alt und der älteste Proband 71 Jahre alt. (Abb. 16)

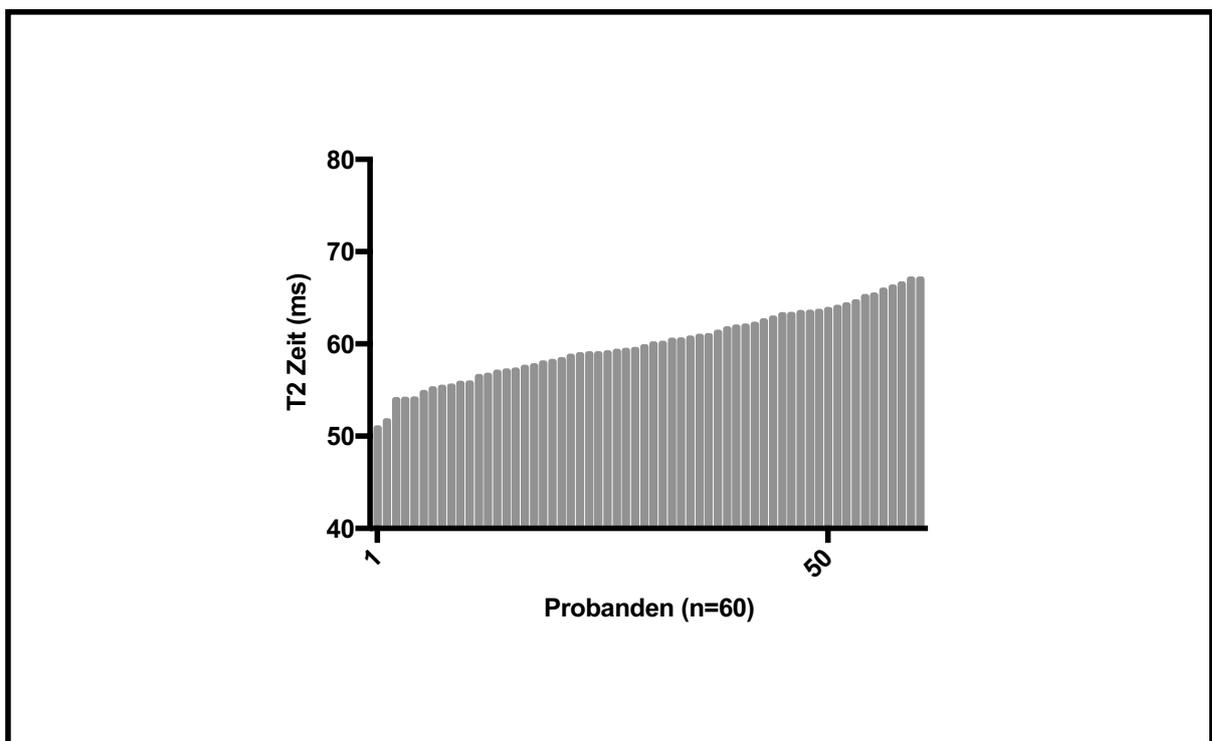


**Abbildung 16 Altersverteilung.** Dargestellt wird die Altersverteilung im Studienkollektiv unterteilt nach Myokarditis Patienten (dunkelgrau) und Probanden (hellgrau).

### 3.3 Quantitative T2 Zeitanalyse im gesunden Myokard und bei Patienten mit Myokarditis

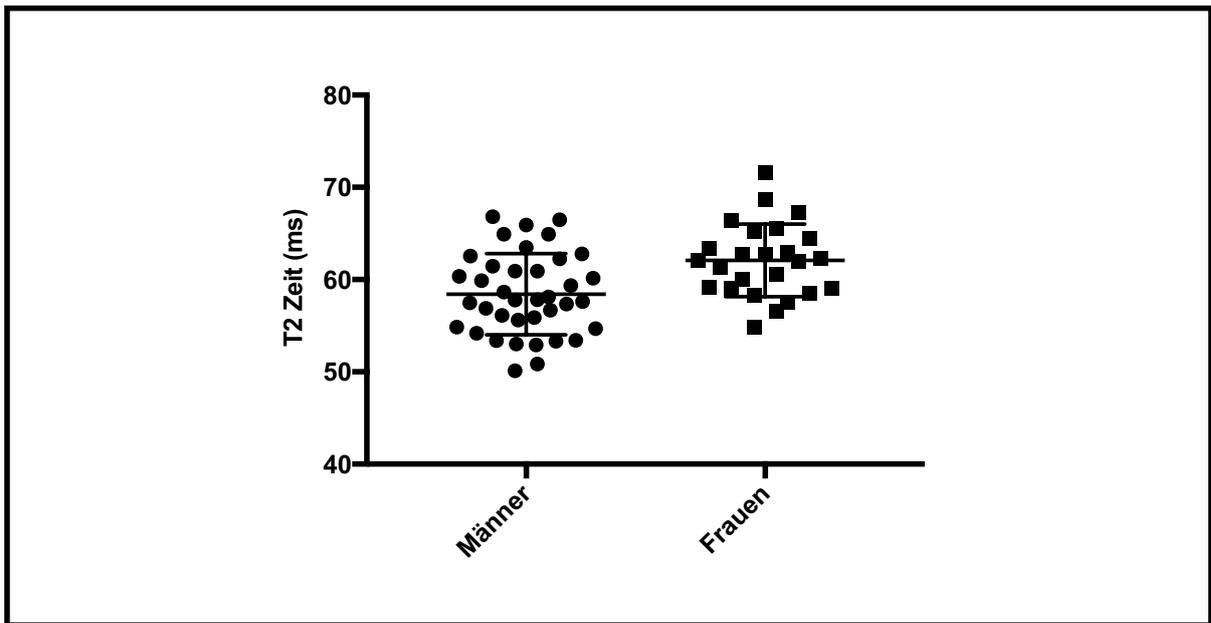
#### 3.3.1 T2 Zeit Messung im gesunden Kontrollkollektiv

Abbildung 17 zeigt die gemessenen T2 Werte der Probanden aufgetragen in einem Säulendiagramm. Die mittlere T2 Zeit der Probanden betrug 59.9 ms, mit einem Medianwert von 59.9 ms und einer Standardabweichung von 4.3 ms. Der geringste erfasste T2 Wert betrug 50.9 ms und der höchste T2 Wert 69.9 ms. Die Differenz zwischen höchsten und niedrigsten Wert betrug 19.0 ms.



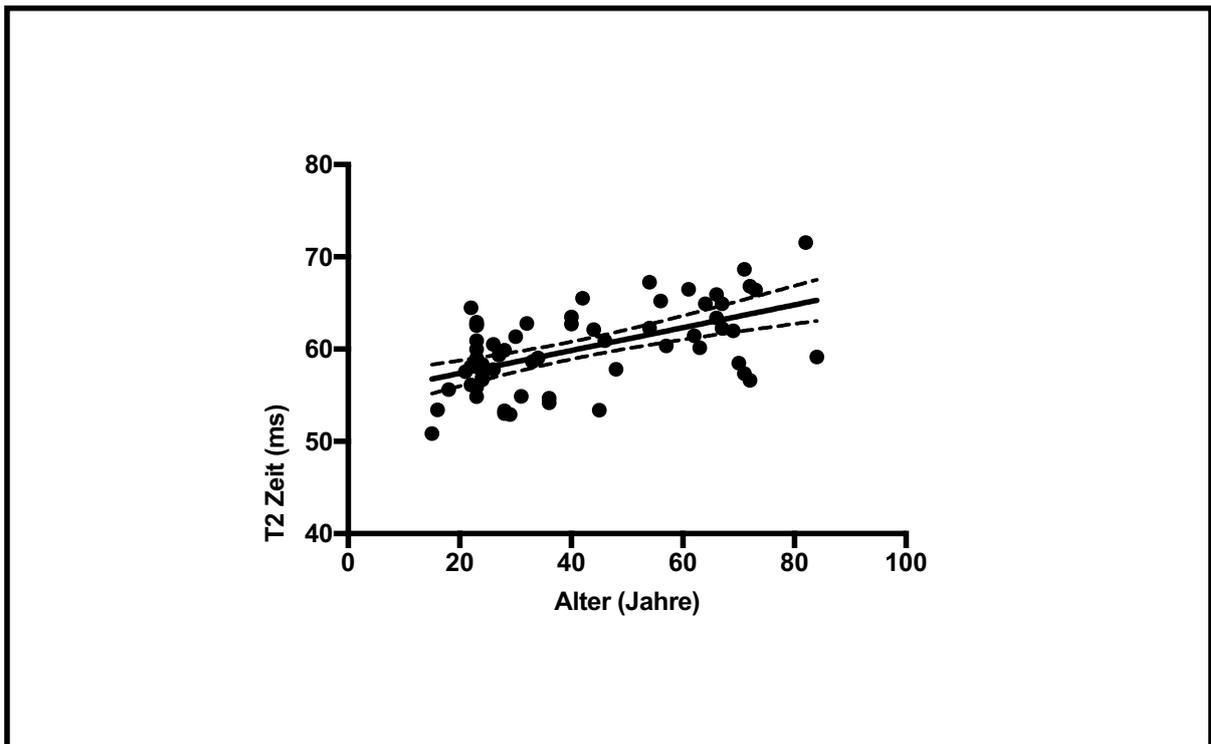
**Abb. 17 T2 Werte der Probanden.** Die Abbildung zeigt die aufsteigend nach Größe sortierten mittleren T2 Werte aller Probanden in ms.

Die T2 Zeit der weiblichen Studienteilnehmer stellte sich als signifikant höher als die der männlichen Probanden dar ( $p < 0.05$ ). Die weibliche Kohorte wies eine mittlere T2 Zeit von  $62.1 \pm 4.5$  ms auf. Die untersuchten Männer hatten eine T2 Zeit von  $58.4 \pm 4.5$  ms im Mittel. (Abb. 18)



**Abb.18 Vergleich der T2 Zeiten von männlichen und weiblichen Probanden.** Die Abbildung repräsentiert die mittleren T2 Werte (ms) der gesunden Kontrollen geschlechterspezifisch aufgeteilt und visualisiert in *scatter dot plots*. Bei den weiblichen Studienteilnehmern wurde eine signifikant höhere T2 Zeit detektiert ( $p < 0.05$ ).

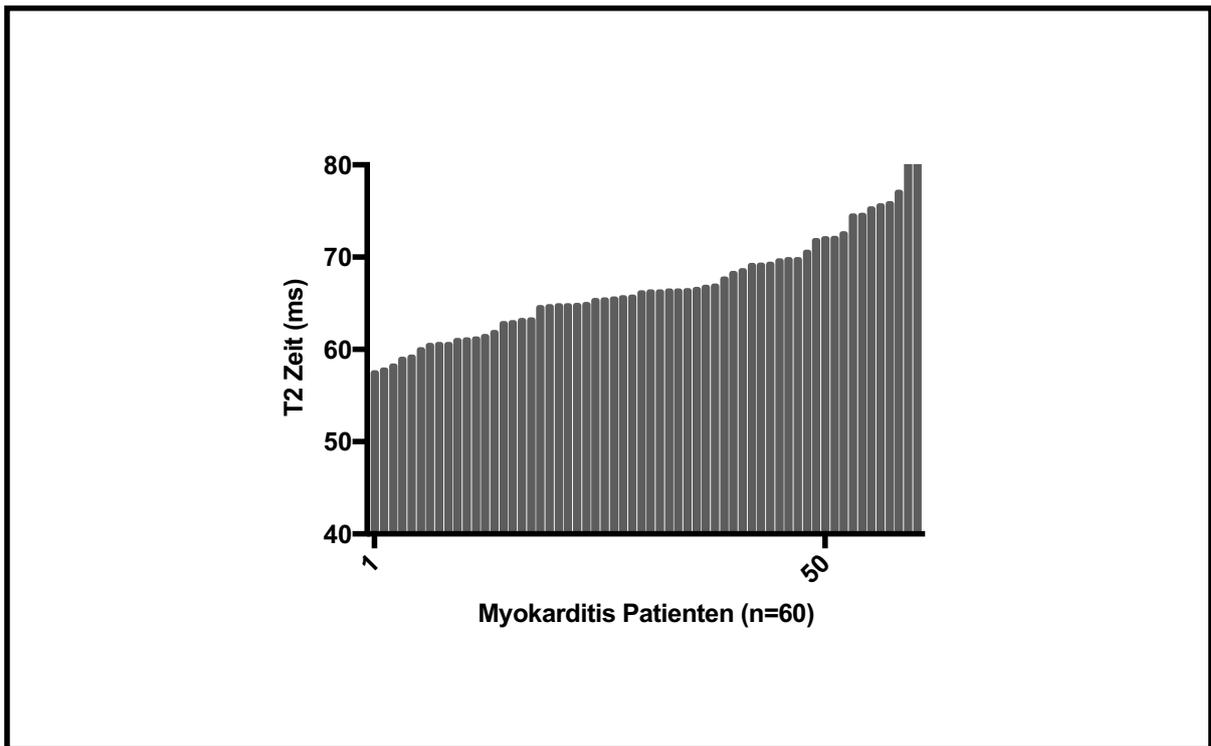
Bei der Hälfte der älteren Studienteilnehmer aus der Kohorte der Probanden wurden höhere T2 Werte gemessen, als bei den jüngeren fünfzig Prozent der Teilnehmer. Dies stellte sich bei beiden Geschlechtern gleichermaßen dar. Es zeigte sich eine lineare Korrelation der T2 Zeit in Abhängigkeit vom Alter ( $R^2 = 0.31$ ,  $p < 0.01$ ). Die Funktion  $y = 54.9 + 0.1237x$  beschreibt die Abhängigkeit der T2 Werte vom Alter. Dies wird in Abbildung 19 gezeigt.



**Abb. 19 Korrelation von T2 Zeit und Alter.** Die Abbildung korreliert das Alter (Jahre) der gesunden Kontrollen mit den erfassten mittleren T2 Werten (ms). Hierbei wurde eine lineare Korrelation zwischen der Höhe der T2 Werte und dem Alter der Probanden detektiert.

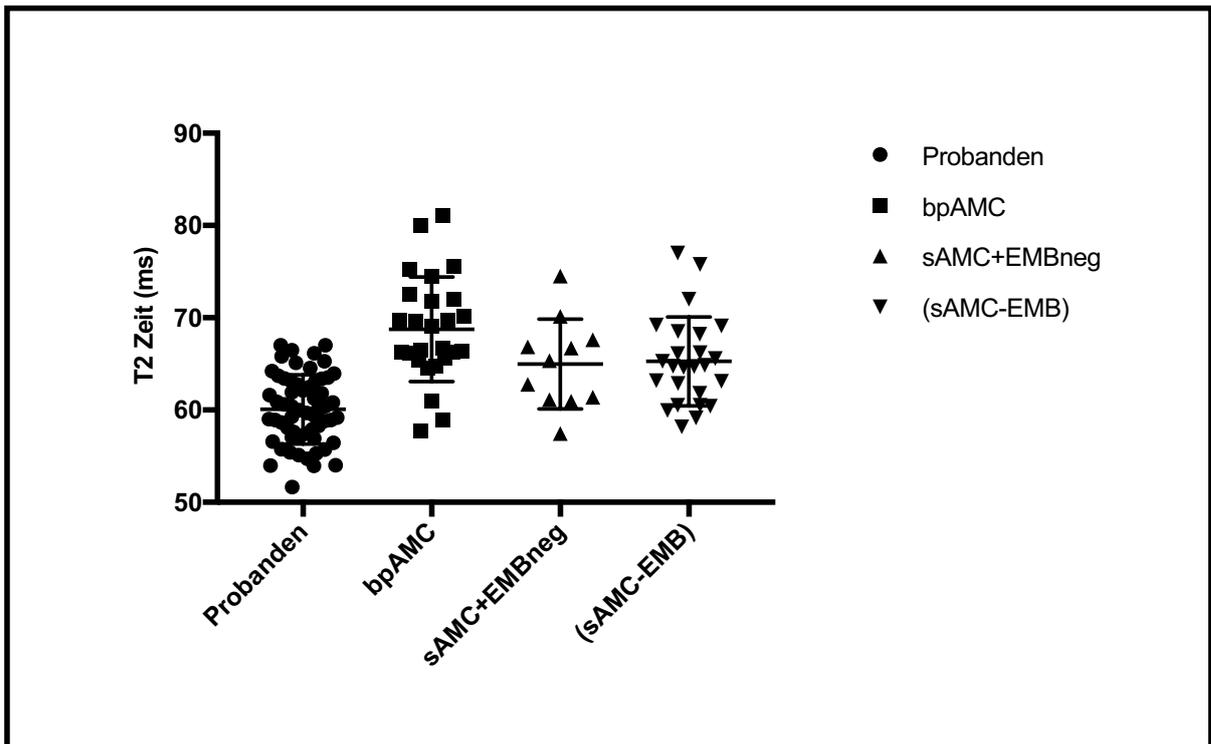
### 3.3.2 T2 Zeit Messung bei sAMC Patienten

Im Patientenkollektiv betrug die gemessene mittlere T2 Zeit 66.7 ms, die mediane T2 Zeit 66.2 ms und die Standardabweichung 5.4 ms. Der kleinste gemessene Wert betrug 57.5 ms und der höchste gemessene Wert 81.1 ms. Die Differenz zwischen höchstem und niedrigstem Wert betrug 23.6 ms. Abbildung 20 zeigt die T2 Werte der Myokarditis Patienten im Überblick.



**Abb. 20 T2 Werte der sAMC Patienten.** Die Abbildung trägt die mittleren T2 Werte (ms) aller Myokarditis Patienten der Größe nach sortiert in einem Säulendiagramm auf. sAMC=klinisch wahrscheinliche akute Myokarditis.

Der Vergleich der T2 Werte der Patienten mit denen der Probanden, sowie der Vergleich der T2 Werte der verschiedenen Patientenuntergruppen untereinander (bpAMC, sAMC+EMBneg, sAMC-EMB) erbrachte folgende Ergebnisse: Die mittlere T2 Zeit der Probanden betrug  $59.9 \pm 4.3$  ms. Die mittlere T2 Zeit der bpAMC Gruppe lag bei  $68.8 \pm 5.7$  ms. Die T2 Zeit der sAMC+EMBneg Gruppe betrug  $65.2 \pm 5.1$  ms. Die mittlere T2 Zeit der sAMC-EMB Patienten war  $64.5 \pm 4.1$  ms. Damit waren die gemessenen T2 Werte der drei Patienten Gruppen jeweils signifikant höher als die der Probanden ( $p < 0.05$ ). (Abbildung 21)



**Abb. 21 T2 Werte der Studiengruppen.** T2 Werte der Probanden und der drei Kollektive: bpAMC, sAMC+EMBneg und sAMC-EMB. Die Abbildung trägt die mittleren T2 Werte (ms) der verschiedenen Patientengruppen verglichen mit denen der gesunden Kontrollen in *scatter dot plots* nebeneinander auf. Die mittlere T2 Zeit der drei Patienten Gruppen war jeweils signifikant erhöht gegenüber der T2 Zeit der Probanden ( $p < 0.05$ ). Die sAMC-EMB Patienten, die Patienten mit klinisch verdächtiger Myokarditis ohne durchgeführte Myokardiopsie, sind der Vollständigkeit halber mit aufgeführt. bpAMC=bioptisch nachgewiesene akute Myokarditis, sAMC+EMBneg=klinisch wahrscheinliche akute Myokarditis mit negativer Myokardbiopsie, sAMC-EMB=klinisch wahrscheinliche akute Myokarditis ohne durchgeführte Myokardbiopsie.

### 3.3.3 Segmentale T2 Zeitanalyse bei gesunden Kontrollen und bei sAMC Patienten

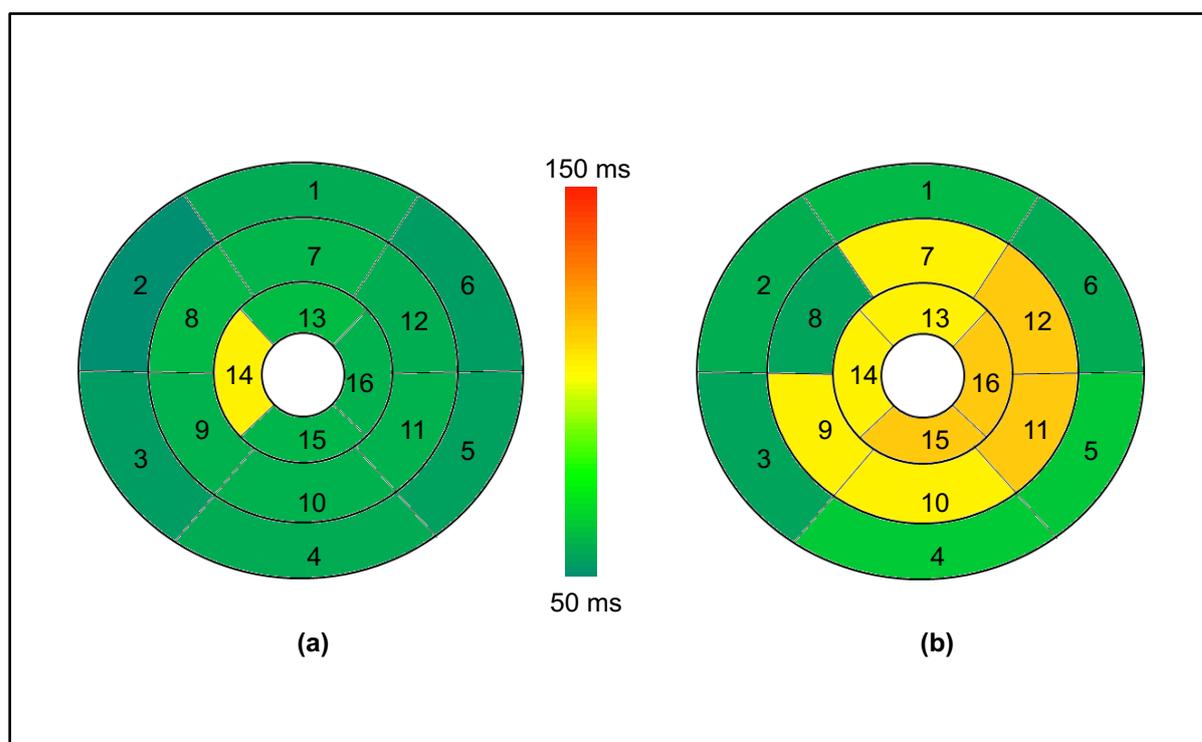
Im Myokard der gesunden Kontrollen zeigte Segment 14 die höchsten T2 Werte. Die niedrigsten Werte fanden sich in den Segmenten fünf und zwei.

Die Probanden wiesen in den basalen Schichten geringere Werte auf, als in den apikalen Schichten. Bei den jungen Probanden waren die medianen T2 Werte in den apikalen Schichten signifikant höher als in den basalen Schichten. Dies galt für männliche (apikal:  $57.5 \pm 3.5$ ms; basal:  $53.4 \pm 3.1$ ms,  $p < 0.01$ ) und weibliche Probanden (apikal:  $64.5 \pm 4.0$ ms; basal:  $57.3 \pm 3.8$ ms,  $p < 0.01$ ). Auch bei den älteren Probanden war der apikal-basale Gradient ausgeprägt. Männliche Probanden zeigten folgende Werte: apikal:  $63.7 \pm 4.7$ ms und basal:  $60.3 \pm 4.6$ ms ( $p < 0.05$ ). In der Gruppe der weiblichen Kohorte höheren Alters waren folgende Werte zu beobachten: apikal:  $66.1 \pm 5.4$ ms; basal:  $60.3 \pm 3.7$ ms ( $p < 0.05$ ). Die T2 Zeiten waren homogen im linken Ventrikel der Probanden verteilt.

Die höchsten Werte für die T2 Zeit wurden im Myokard bei den sAMC Patienten in den Segmenten 11 (71.8 ms), 12 (71.6 ms), 15 (69.9 ms) und 16 (71.9 ms) berechnet. Die niedrigsten Werte in den Segmenten zwei, drei, sechs und acht. Die Werte in den apikalen Schichten waren höher als die T2 Werte in den basalen Schichten. Der apikal-basale Gradient war in diesem Kollektiv weniger stark ausgeprägt.

Abbildung 22 gibt einen Überblick über die segmentale Auswertung von 30 gesunden ausgewerteten Probanden und 30 Patienten mit klinisch diagnostizierter Myokarditis. Die Auswertung erfolgte in gleichem Alters- und Geschlechtsverhältnis.

Die Patienten mit klinisch verdächtiger akuter Myokarditis zeigten in den folgenden Segmenten signifikant erhöhte T2 Werte gegenüber den Probanden: Segment 16 (62.6 ms vs. 71.9 ms,  $p < 0.05$ ), 15 (63.9 ms vs. 69.9 ms,  $p < 0.05$ ), 12 (61.6 ms vs. 71.6 ms,  $p < 0.05$ ), 11 (62.3 ms vs. 71.8 ms,  $p < 0.05$ ), 10 (62.5 ms vs. 68.9 ms,  $p < 0.05$ ), 5 (59.5 ms vs. 65.8 ms,  $p < 0.05$ ), 4 (61.3 ms vs. 66.2 ms,  $p < 0.05$ ). Damit wurden die größten T2 Differenzen in den lateralen und inferioren Arealen des linken Ventrikels gemessen. Auch in den restlichen ausgewerteten Segmenten hatten die Patienten höhere Werte als die gesunden Kontrollen. Hier waren die Werte nicht signifikant erhöht.



**Abb. 23 Segmentale Auswertung der T2 Zeit im 17 Segmentmodell.** Abbildung (a) zeigt die mittleren T2 Werte (ms) der Probanden im 17 Segmentmodell und (b) die T2 Werte der Myokarditis Patienten. Die in der Farbskala von grün nach gelb nach rot wechselnde Farbe veranschaulicht die ansteigende T2 Zeit (ms). Niedrige Werte sind grün unterlegt, hohe T2 Werte gelb bis orange. Bei Patienten mit klinisch wahrscheinlicher akuter Myokarditis ließen sich die höchsten T2 Werte lateral und inferior in apikalen und midventrikulären Segmenten detektieren.

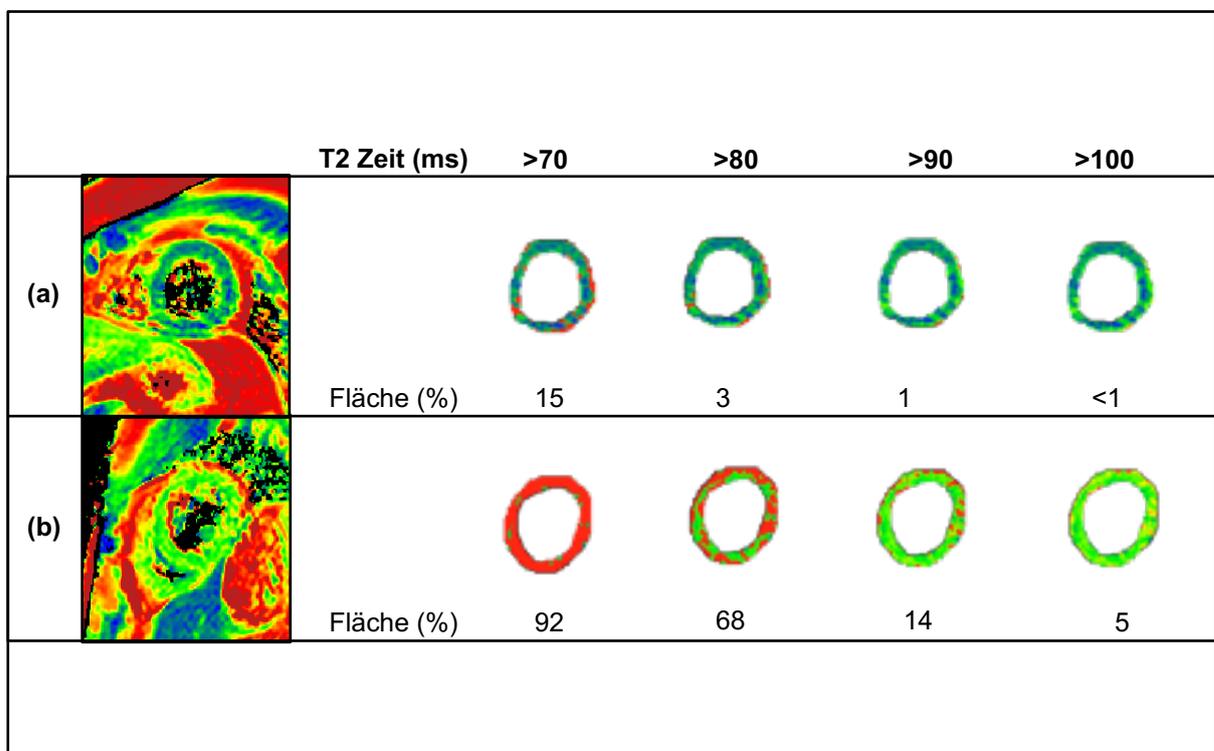
### 3.3.4 Quantifizierung des inflammatorischen Myokardareals

Da eine lokale Entzündungsreaktion nur geringen Einfluss auf die globale T2 Zeit des gesamten linken Ventrikels nimmt, haben wir die Flächen mit einer pathologisch erhöhten T2 Zeit summiert und in Relation zum gesamten Myokard angegeben. So erhofften wir uns eine bessere Differenzierung zwischen gesundem und erkranktem Myokard (siehe Methodik Teil, 2.10.3). Im Studienkollektiv haben wir die Fläche mit einer T2 Zeit über einem definierten T2 Schwellenwert in drei Schichten (apikal, midventrikulär, basal) bestimmt und folgend den Mittelwert der drei Schichten gebildet. Die definierten Schwellenwerte lagen bei 70 ms, 80 ms und 90 ms.

Die Fläche mit einem berechneten T2 Wert über 70 ms betrug bei den gesunden Kontrollen durchschnittlich 13%. Die Fläche über 80 ms 4.1% und die Fläche über 90 ms unter 1.0% der gesamten linksventrikulär eingezeichneten Fläche.

Bei den Myokarditis Patienten betrug die durchschnittliche Fläche über 70 ms 23.0%, die Fläche über 80 ms 14.5% und die Fläche über 90 ms 5.5% der ROI des linken Ventrikels.

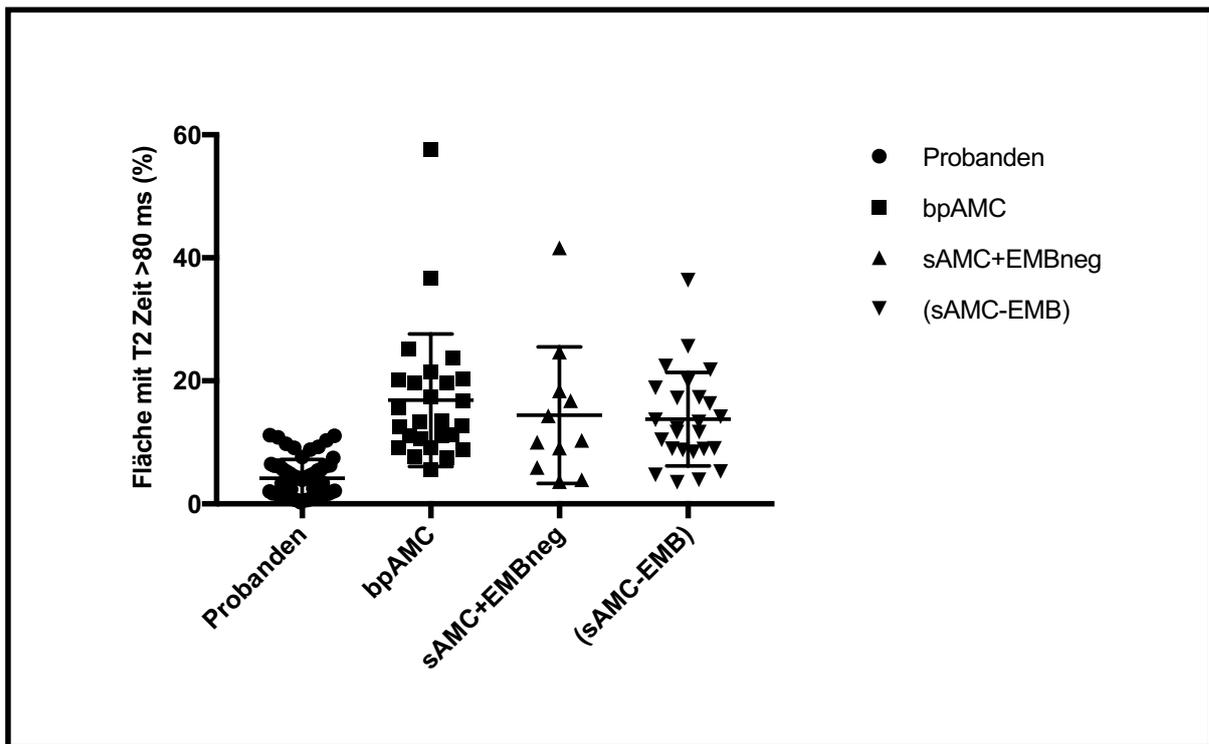
Abbildung 23 gibt einen Überblick über die oben aufgeführte Auswertung, beispielhaft an einem gesunden Probanden und einem Patienten mit hochgradiger Entzündung in der EMB.



**Abb. 23 Quantifizierung der linksventrikulären Fläche über einem definiertem T2 Schwellenwert.** (a) zeigt die T2 Map eines Probanden und (b) die eines Patienten mit klinisch wahrscheinlicher akuter Myokarditis (sAMC). Gezeigt wird jeweils die T2 Map, sowie die rot gekennzeichneten Flächen über einem definierten T2 Wert (70 ms/ 80 ms/ 90 ms/100 ms). Diese sinkt bei höheren Schwellenwerten.

Mittels ROC Analysen wurde ein *cut-off* von 80 ms generiert zur Differenzierung zwischen gesundem und entzündetem Myokard.

Die myokardiale linksventrikuläre Fläche mit einer T2 Zeit über 80 ms betrug bei den gesunden Probanden durchschnittlich  $4.1 \pm 2.9\%$ . In der bpAMC Patienten Kohorte lag der Wert signifikant höher bei  $16.9 \pm 10.8\%$  ( $p < 0.05$ ). Bei den sAMC+EMBneg Patienten lag der Wert bei  $14.4 \pm 11.1\%$  ( $p < 0.05$ ) und bei den sAMC-EMB Patienten betrug der Wert  $12.5 \pm 6.2\%$  ( $p < 0.05$ ). Abbildung 24 zeigt entsprechende Ergebnisse in der Übersicht.



**Abb. 24 Prozentuale myokardiale Fläche mit einem mittleren T2 Wert über 80 ms.** Gezeigt wird die myokardiale Fläche mit einer T2 Zeit  $> 80$  ms der Probanden, bpAMC Patienten, sAMC+EMBneg Patienten und sAMC-EMB Patienten (Patienten mit klinisch verdächtiger Myokarditis ohne durchgeführte EMB) in *scatter dot plots*. Der myokardiale Flächenanteil mit einer mittleren T2 Zeit größer 80 ms war in den drei Patientengruppen jeweils signifikant größer als die betroffene Fläche der Probanden. bpAMC=bioptisch nachgewiesene akute Myokarditis, sAMC+EMBneg=klinisch wahrscheinliche akute Myokarditis mit negativer Myokardbiopsie, sAMC-EMB=klinisch wahrscheinliche akute Myokarditis ohne durchgeführte Myokardbiopsie.

### 3.3.5 Klinisches Korrelat der T2 Zeit

Die globale T2 Zeit betrug bei den Myokarditis Patienten  $66.7 \pm 5.4$  ms. 42.8% der Patienten ( $n=24$ ) hatten globale T2 Werte unterhalb von 65 ms, 42.8% der Patienten ( $n=24$ ) zwischen 65 ms und 70 ms. 21.4% der Patienten ( $n=12$ ) wiesen Werte oberhalb von 70 ms auf.

Die Patienten mit einer höheren globalen T2 Zeit, zeigten in der Herzkatheter Untersuchung signifikant höhere Werte für den rechtsventrikulären enddiastolischen Druck (RVEDP) ( $> 70$

ms: 13.5 mmHg; <65 ms: 8.8 mmHg,  $p<0.05$ ) und den linksventrikulären enddiastolischen Druck (LVEDP) (>70 ms: 25.0 mmHg; <65 ms: 19.9 mmHg,  $p<0.05$ ) als die Patienten mit geringeren T2 Werten im Mapping.

Die linksventrikuläre Pumpfunktion war in der Patientengruppe mit höheren T2 Werten reduziert. Die EF betrug bei den Patienten mit einer globalen T2 Zeit kleiner 65 ms 44%, bei Patienten mit T2 Werten im Bereich von 65 ms bis 70 ms 42% und bei den 12 Patienten mit einer T2 Zeit von über 70 ms 35%. Diese Werte waren nicht signifikant unterschiedlich voneinander.

56.5% der Patienten mit einer globalen T2 Zeit unter 65 ms zeigten LGE im CMR, wohingegen bei 81.8% der Patienten mit globalen T2 Werten über 70 ms LGE dokumentiert werden konnte.

T2w Imaging war bei 73.6% der Patienten mit einer globalen T2 Zeit unter 65 ms, bei der Hälfte der Patienten mit einer T2 Zeit von 65 bis 70 ms und bei 66.1% der Patienten mit einer globalen T2 Zeit größer 70 ms positiv.

EKG Veränderungen zeigten sich bei 65.2% der Patienten mit einer globalen T2 Zeit kleiner 65 ms und bei 90.0% der Patienten mit einer T2 Zeit über 70 ms.

Die mittlere Troponin Konzentration betrug bei den Patienten mit niedriger T2 Zeit (unter 65 ms) 59 ng/ml und in der Patienten Kohorte mit einer T2 Zeit über 70 ms 277 ng/ml. Dieser Unterschied war signifikant ( $p<0.05$ ).

Der BNP Wert war in der zuletzt genannten Gruppe signifikant höher als bei den 24 Patienten mit geringeren T2 Werten (11695 pg/ml vs. 2436 pg/ml,  $p<0.05$ )

Tabelle 7 gibt einen Überblick über die dargestellten Ergebnisse.

T2 Zeit (ms)	<65ms (n=24)	65-70ms (n=24)	>70ms n=(12)	1 vs. 2	1 vs. 3	2 vs. 3
RVEDP (mmHg)	8.8	7.8	13.6	n.s.	<0.01	<0.01
LVEDP (mmHg)	17.9	20.1	25.0	n.s.	<0.05	n.s.
LVEDV (ml)	209	210	235	n.s.	n.s.	n.s.
EF (%)	44	42	35	n.s.	n.s.	n.s.
CI ((l/min)/m <sup>2</sup> )	3.2	2.7	2.6	n.s.	n.s.	n.s.
LV Masse (g)	182	210	206	n.s.	n.s.	n.s.
LGE %	56.5	65.2	81.8	n.s.	n.s.	n.s.
T2w Imaging %	73.6	50.0	66.1	n.s.	n.s.	n.s.
EKG - Veränderungen (%)	65.2	65.2	90.0	n.s.	n.s.	n.s.
TnT (ng/ml)	59	393	277	<0.05	<0.05	n.s.
TnT >14 (%)	68.4	88.9	81.8	n.s.	n.s.	n.s.
BNP (pg/ml)	2436	2268	11695	n.s.	<0.05	<0.05

**Tabelle 7: Klinisches Korrelat der T2 Zeit.** Dargestellt sind in der Herzkatheter Untersuchung erfasste hämodynamische Parameter, sowie Befunde aus MRT Untersuchung, EKG und der Laboruntersuchung. Diese werden jeweils für drei Gruppen angegeben: Gruppe 1: Globale T2 Zeit <65 ms; Gruppe 2: Globale T2 Zeit 65-70 ms; Gruppe 3: Globale T2 Zeit >70 ms. RVEDP=Rechtsventrikulärer enddiastolischer Druck, LVEDP=Linksventrikulärer enddiastolischer Druck, LVEDV=Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen, EF=Ejektionsfraktion, CI= *cardiac index*, LV=Linker Ventrikel, LGE= *late gadolinium enhancement*, EKG=Elektrokardiogramm, TnT=Troponin T, BNP= *brain natriuretic peptid*.

Das klinische Korrelat einer vergrößerten Fläche mit T2 Werten über 80 ms wurde anhand hämodynamischer, klinischer und laborchemischer Parametern beurteilt. Die sAMC Patienten wurden dazu anhand der Größe der prozentual betroffenen linksventrikulären Fläche in drei Gruppen eingeteilt. Ein Drittel der Patienten (n=20) wies eine Fläche mit T2 Werten größer 80 ms unter 10% auf. 46.7% der Patienten (n=28) zeigten betroffene Areale in einem Größenbereich von 10 bis 20% mit einer T2 Zeit über 80 ms. Bei jedem Fünften Patient (n=12) waren über 20% des linksventrikulären Myokards betroffen. Die Werte für den RVEDP und LVEDP waren bei den Patienten mit größerer Fläche über 80 ms höher, als die Werte bei den Patienten mit einer geringeren betroffenen Fläche (RVEDP: <10% betroffenes Myokard: 9.2 mmHg; >20% betroffenes Myokard: 11.5 mmHg, LVEDP: <10% betroffenes Myokard: 18.9 mmHg; >20% betroffenes Myokard 22.6 mmHg).

Die LVEF betrug bei den Patienten mit einer betroffenen Fläche unter 10% im Mittel 45%. Für die Patienten mit einer berechneten Flächenquantifizierung über 20% betrug die EF 38%. Diese Werte waren nicht signifikant unterschiedlich (p>0.05).

LGE konnte bei 47.6% der ersten Gruppe nachgewiesen werden, bei 72.0% der zweiten Gruppe und 81.8% der Patienten der dritten Gruppe zeigten LGE in der MRT Untersuchung.

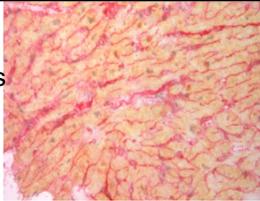
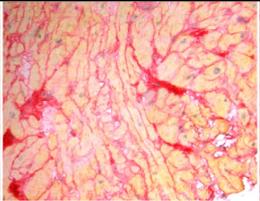
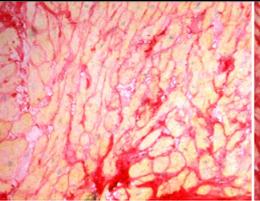
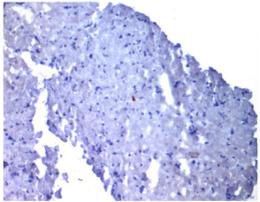
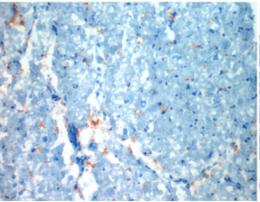
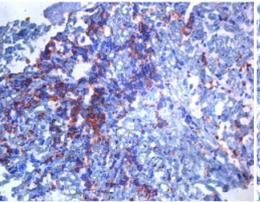
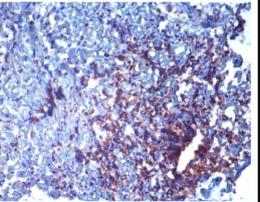
Die Bestimmung des Troponin Wertes ergab 104 ng/ml in der ersten Patientenkohorte und 387 ng/ml in der dritten Kohorte. Diese Werte waren nicht signifikant ( $p>0.05$ ).

Die BNP Werte der Patienten mit größerer betroffener myokardialer Fläche (über 20% über 80ms T2 Zeit) waren mit 11845 pg/ml höher, als die Werte der Patienten mit einer kleineren betroffenen linksventrikulären Fläche (unter 10% über 80ms T2 Zeit). Hier betrug der durchschnittliche BNP Wert 1783 pg/ml ( $p<0.01$ ).

Fläche mit T2 Zeit >80 ms	<10% (n=20)	10-20% (n=28)	>20% (n=12)	1 vs. 2	1 vs. 3	2 vs. 3
RVEDP (mmHg)	9.2	8.4	11.5	n.s.	n.s.	n.s.
LVEDP (mmHg)	18.9	20.8	22.7	n.s.	n.s.	n.s.
LVEDV (ml)	208	222	212	n.s.	n.s.	n.s.
EF (%)	45	40	38	n.s.	n.s.	n.s.
CI ((l/min)/m <sup>2</sup> )	3.3	2.6	2.6	n.s.	n.s.	n.s.
LV Masse (g)	187	215	196	n.s.	n.s.	n.s.
LGE (%)	47.6	72.0	81.8	n.s.	n.s.	n.s.
T2w (%)	73.3	61.9	62.5	n.s.	n.s.	n.s.
EKG-Veränderungen (%)	63.1	73.1	72.7	n.s.	n.s.	n.s.
TnT (ng/ml)	104	274	387	n.s.	n.s.	n.s.
TnT >14 (%)	70.6	80.1	90.0	n.s.	n.s.	n.s.
BNP (pg/ml)	1783	2885	11845	n.s.	<0.01	<0.05

**Tabelle 8: Klinisches Korrelat der myokardialen Fläche mit T2 Werten über 80ms.** Dargestellt sind in der Herzkatheter Untersuchung erfasste hämodynamische Parameter, sowie Befunde aus MRT Untersuchung, EKG und der Laboruntersuchung. Diese werden jeweils für drei Gruppen in Abhängigkeit von der Größe der linksventrikulären Fläche oberhalb 80 ms angegeben: Gruppe 1 Fläche <10%; Gruppe 2 Fläche 10-20%; Gruppe 3 Fläche >20%. RVEDP=Rechtsventrikulärer enddiastolischer Druck, LVEDP=Linksventrikulärer enddiastolischer Druck, LVEDV=Linksventrikuläres enddiastolisches Volumen, EF=Ejektionsfraktion, CI=cardiac index, LV=Linker Ventrikel, LGE= late gadolinium enhancement, EKG=Elektrokardiogramm, TnT=Troponin T, BNP= brain natriuretic peptid.

### 3.4 Histologische Auswertung der Myokardbiopsien

	(a)	(b)	(c)	(d)
Picosirius Rot (40x)				
Fibrose	+	++	++	+++
IHC-Färbung (20x)				
CD68+	1 Zelle	14 Zellen	54 Zellen	87 Zellen
Auswertung	negativ	grenzwertig	positiv	positiv

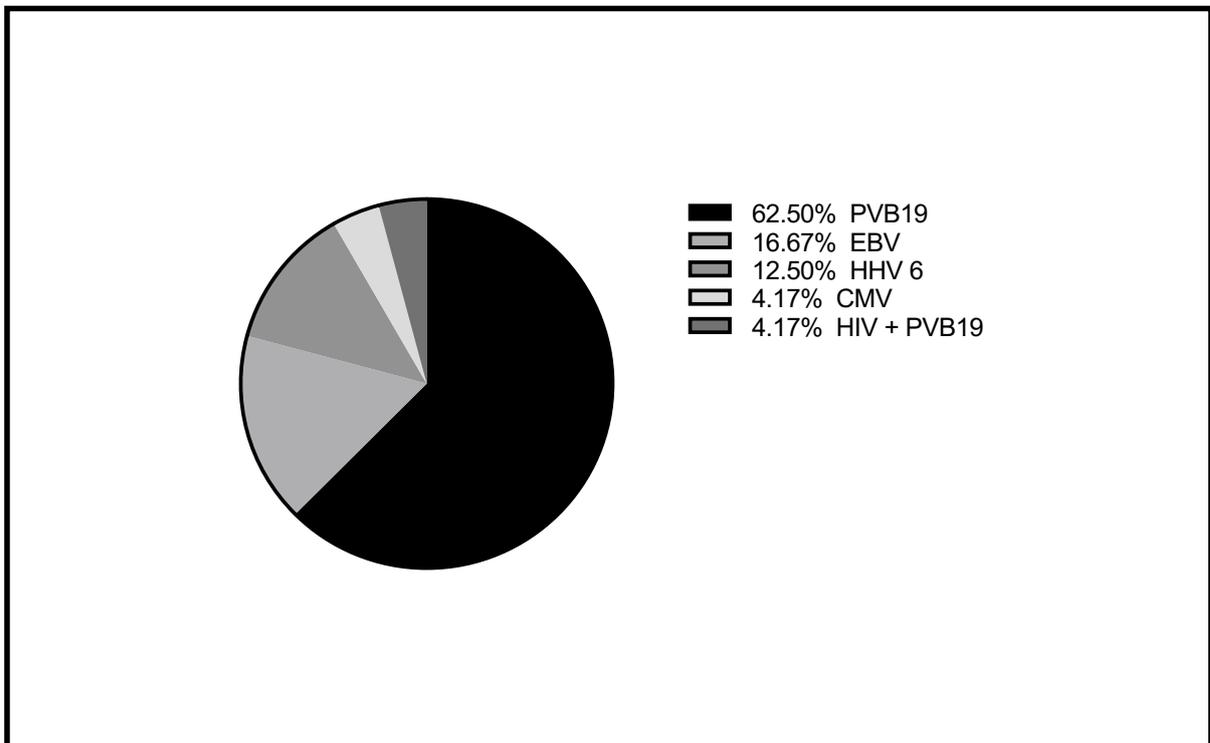
**Abb. 25 Übersicht über die Auswertung der Myokardbiopsien.** Die Abbildung zeigt die histologische Auswertung der Biopsien in der Picosirius-Rot Färbung bei 40facher Vergrößerung, sowie die immunhistochemische Auswertung mit dem CD68 Antikörper bei 20facher Vergrößerung bei vier verschiedenen Patienten (a)-(d). Patient eins weist wenig Fibrose in der Picosirius-Rot Färbung auf und einen negativen IHC Befund. Patient zwei hat in der Biopsie mäßig Fibrose, sowie einen grenzwertigen IHC Befund mit 14 nachweisbaren Makrophagen in der vorliegenden Schicht. Patient drei weist ebenfalls eine mäßige Fibrose in der Picosirius Färbung auf. Die IHC Färbung mit dem Makrophagen Antikörper CD68 ergibt den Nachweis von 54 Zellen in der vorliegenden Schicht. Die Biopsie des vierten Patienten zeigt starke fibrotische Septen, sowie einen stark positiven IHC Befund. Erkennbar ist die Anreicherung von zahlreichen CD68 positiven Zellen in der Nähe eines Blutgefäßes. IHC=Immunhistochemie.

Von den 37 untersuchten Biopsien waren nach oben genannten immunhistochemischen und histologischen Kriterien 11 negativ, 13 wurden als grenzwertig eingestuft und 13 positiv gewertet. Grenzwertige und positive Biopsie Ergebnisse wurden zusammengefasst zu bpAMC (Inflammationsnachweis entspricht EMB positiv, siehe Kapitel 2.7.2). Zur Verdeutlichung der Auswertung sind histologisch und immunhistochemisch bearbeitete Biopsien in Abbildung 25 dargestellt.

#### 3.4.1 Virusnachweis

Bei 24 Patienten der 43 biopsierten Patienten (52.2%) konnte ein Virus in der Myokardbiopsie nachgewiesen werden. Die durchschnittliche Viruslast betrug  $245.1 \pm 427.7$  Viruskopien pro  $\mu\text{l}$ . 15 Patienten (62.5%) hatten Parvovirus B19 in der Myokardbiopsie, bei 4 Patienten (16.7%) konnten Ebstein-Bar-Viren in der Biopsie isoliert werden, bei 3 Patienten

Humane-Herpes-Viren-6 (12.5%) und bei einem Patienten (4.2%) Cytomegalie-Virus. Ein Patient (4.2%) zeigte eine Doppelinfektion mit Parvovirus B19 und dem HI-Virus. Abbildung 28 veranschaulicht diese Zahlen grafisch.



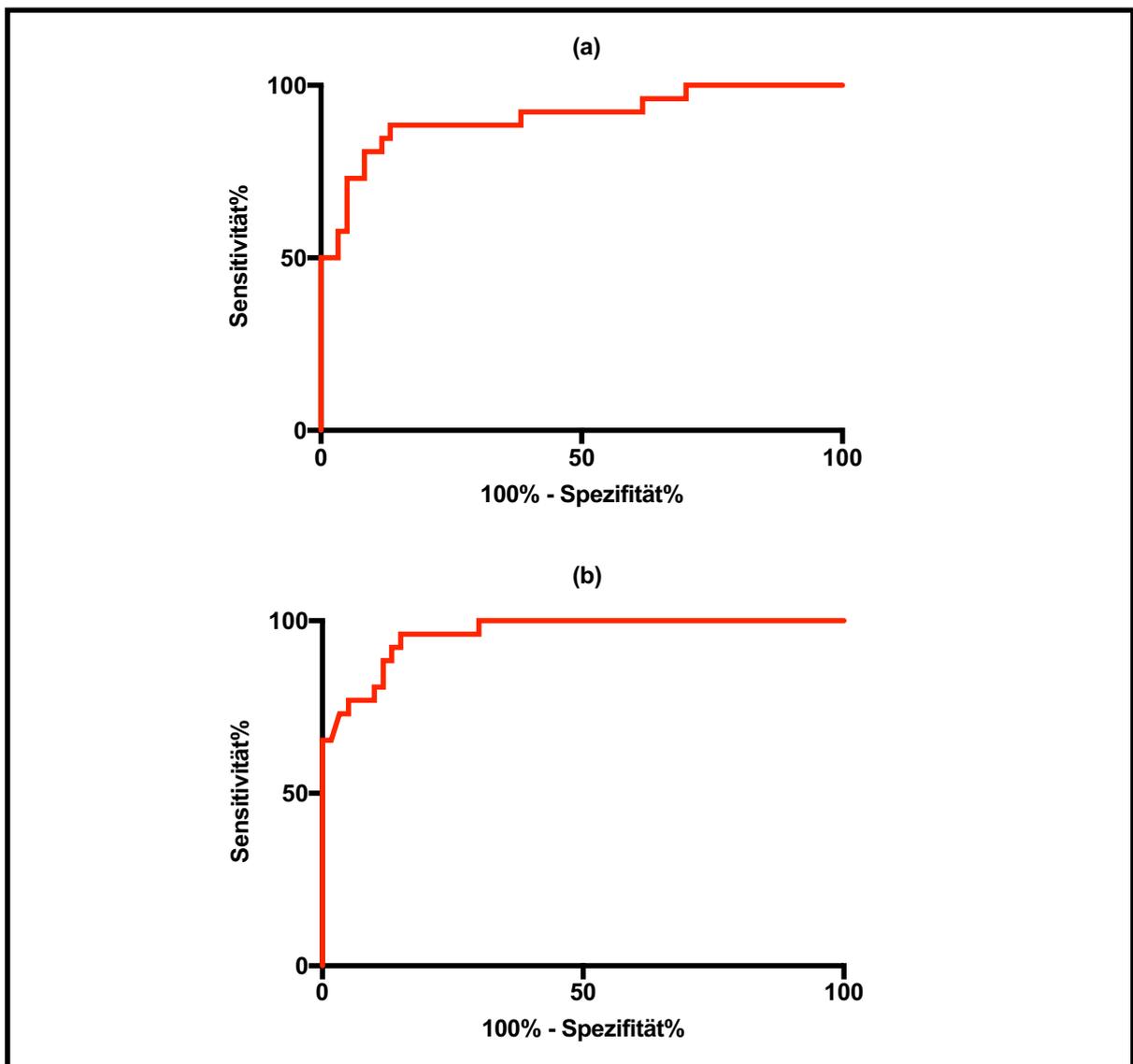
**Abb. 28 Darstellung der Häufigkeit verschiedener Virustypen in den Myokardbiopsien.** Die Abbildung gibt eine Übersicht über die Verteilung verschiedener Virustypen im Patientenkollektiv. Parvovirus B19 war das am häufigsten isolierte Virus, gefolgt von Epstein-Bar-Virus und Humanem-Herpes-Virus-6. EBV=Epstein-Bar-Virus, HHV=Humanes-Herpes Virus, CMV=Cytomegalievirus, HIV=*human immunodeficiency virus*, PVB19=Parvovirus B19.

Die 24 Patienten mit Virusnachweis hatten signifikant höhere Troponin Werte als die 19 Patienten ohne Virusnachweis in der Myokardbiopsie (kein Virusnachweis:  $55 \pm 66$  ng/ml; Virusnachweis:  $385 \pm 608$  ng/ml,  $p < 0.05$ ). Die hämodynamischen Parameter unterschieden sich nicht zwischen den Patienten mit und ohne Virusnachweis in der Myokardbiopsie. Auch konnte keine Korrelation zu CMR Parameter, insbesondere auch nicht zum T2 Mapping dargestellt werden.

### 3.5 Sensitivität und Spezifität von T2 Mapping bei Myokarditis Patienten

Die Analyse der diagnostischen Leistungsfähigkeit erfolgte durch ROC Analysen. Eingebunden wurden zuerst die Patienten mit bioptisch nachgewiesener Myokarditis

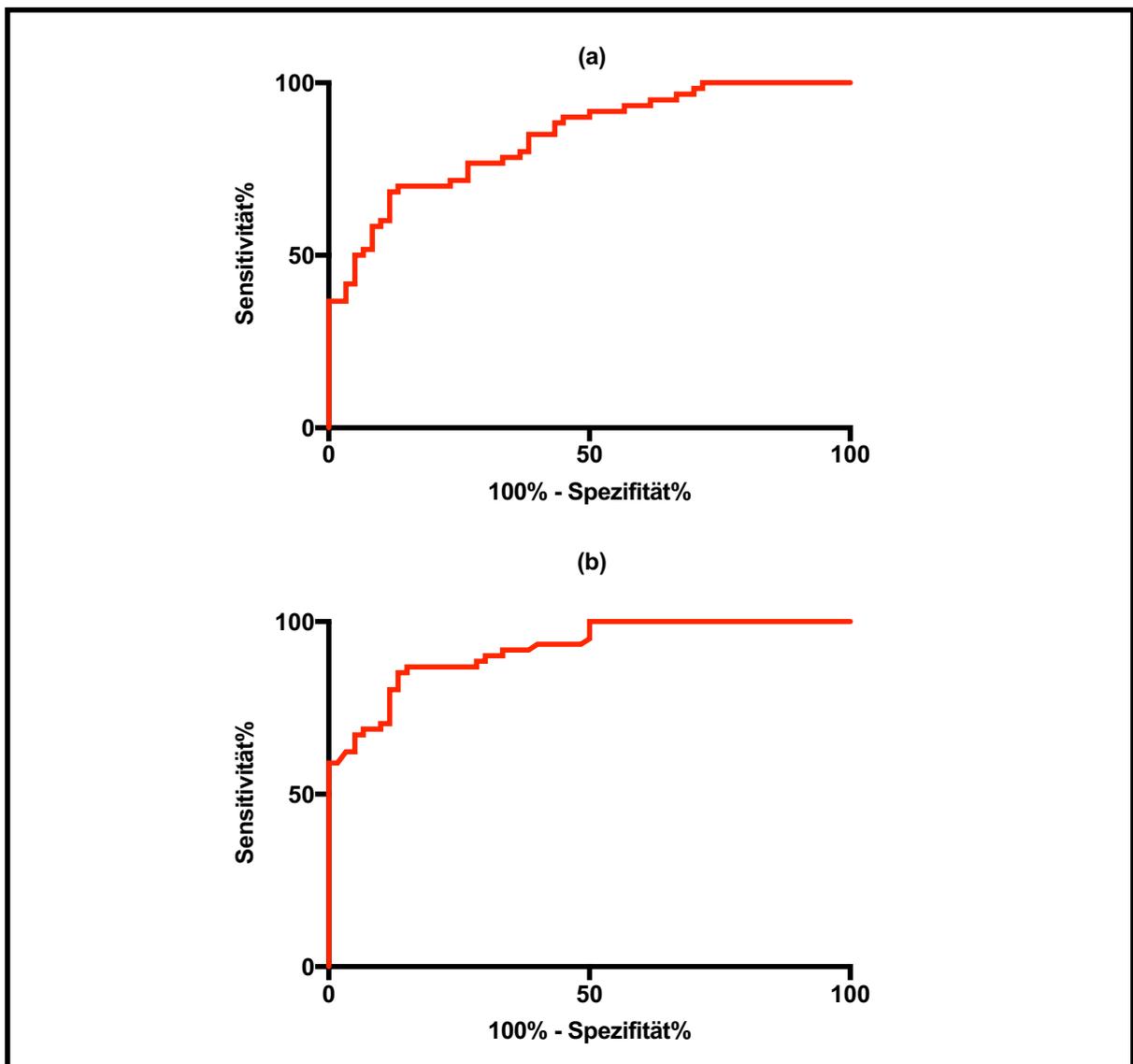
(bpAMC). Die ROC Analyse berechneten wir auf der Basis der T2 Werte der 26 Patienten und den Werten von 60 gesunden Probanden mit gleichem Alter- und gleichem Geschlechterverhältnis. Bei der Auswertung zeigte sich, dass ein als *cut-off* definierter Wert von 65.3 ms mit einer Sensitivität von 80.8% und einer Spezifität von 90.0% eine Myokarditis diagnostizieren konnte. Die *area under the curve* (AUC) hierfür betrug 0.89. (Abbildung 29 (a))



**Abb. 29 Receiver Operating Curves Analysen zur globalen T2 Zeit (ms) und Fläche mit einer T2 Zeit über 80 ms bei bpAMC Patienten.** (a) T2 Zeit: bpAMC Patienten (n=26) und Probanden (n=60), (b) Fläche mit einer T2 Zeit über 80 ms: bpAMC Patienten (n=26) und Probanden (n=60). bpAMC=bioptisch nachgewiesene akute Myokarditis.

Als Nächstes wurde analysiert, welche Sensitivität und Spezifität die Methode der Flächenquantifizierung einer T2 Zeit größer 80 ms erbrachte. Dazu wurden die bpAMC

Patienten zusammen mit 60 gesunden Kontrollen verglichen und die entsprechende ROC Kurve erstellt. Dabei ergab sich eine Sensitivität von 92.3% bei einer Spezifität von 90.0%. Die dazugehörige AUC betrug 0.96. Der zugrunde gelegte Schwellenwert lag bei einer Fläche von 7.68% des linken Ventrikels, die eine T2 Zeit größer 80 ms aufwies. (Abbildung 29 (b))



**Abb. 30 Receiver Operating Curves Analysen zur globalen T2 Zeit und einer Fläche mit einer T2 Zeit über 80 ms bei sAMC Patienten.** (a) T2 Zeit: sAMC (n=60) und Probanden (n=60), (b) Fläche mit einer T2 Zeit über 80 ms: sAMC (n=60) und Probanden (n=60). sAMC=klinisch wahrscheinliche akute Myokarditis.

In einem zweiten Schritt wurden die ROC Analysen in dem Kollektiv der Patienten mit einer klinisch diagnostizierten Myokarditis (sAMC) getestet. Eingeschlossen wurden 60 Patienten mit klinisch verdächtiger akuter Myokarditis (sAMC) und 60 gesunde Probanden. Die ROC Kurve erlaubte die Krankheit in diesem Kollektiv mit einer Sensitivität von 58.3% und einer Spezifität von 90.0 % vorherzusagen. Die AUC betrug 0.82. (Abbildung 30 (a))

Anschließend wurde die Methodik der Flächenquantifizierung auf das sAMC Patientenkollektiv übertragen. Zur Erstellung der ROC Kurve dienten die berechneten Werte für die Fläche mit einer T2 Zeit größer 80 ms von 60 Patienten und 60 gesunden Probanden. Der aus der ROC Kurve mit den biopsierten Patienten berechnete Schwellenwert von einer Fläche von mindestens 7.68% betroffenes Myokard, diente als Grundlage für die Berechnung dieser ROC Kurve.

Die Analyse zeigt, dass die Diagnosestellung via T2 Mapping mit einer Sensitivität von 85.0% und einer Spezifität von 90.0% möglich war. Die berechnete AUC betrug 0.91. (Abbildung 30 (b))

### **3.6 Gegenüberstellung der T2 Mapping Technologie mit konventionellen CMR Parametern**

#### **3.6.1 LGE bei sAMC Patienten**

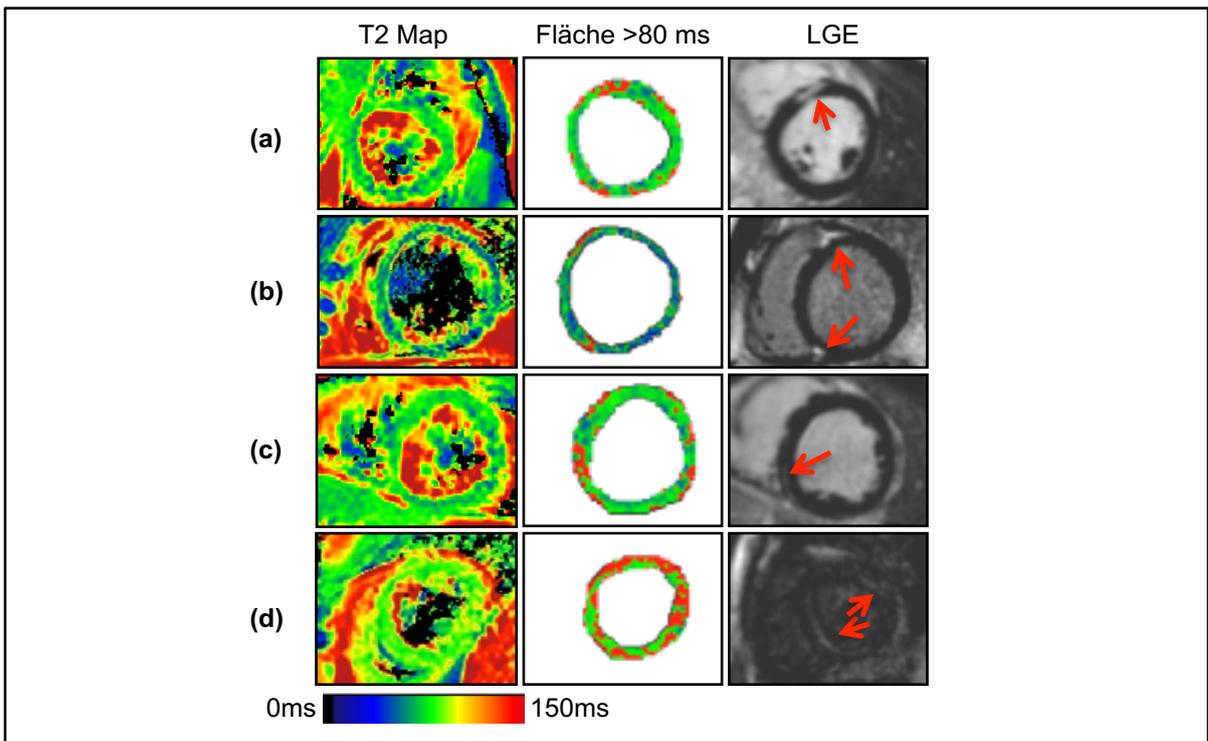
Bei drei Patienten konnte aufgrund einer bestehenden Niereninsuffizienz kein KM gegeben werden, sodass 57 der 60 Patienten eine Auswertung des LGE erhielten. Bei 37 Patienten (64.9%) konnte in der Bildauswertung eine Anreicherung des KM nachgewiesen werden. Bei 58.3% der bpAMC Patienten konnte LGE dokumentiert werden. Bei den sAMC+EMBneg Patienten waren es 54.4% und bei den sAMC-EMB Patienten 76.2%.

Die Auswertung der Lokalisation der KM Anreicherung zeigte, dass am häufigsten in den midventrikulären lateralen Segmenten 12 und 11, gefolgt von den apikal lateralen und midventrikulären septalen Segmenten 16 und 9 LGE dokumentiert wurde.

#### **3.6.2 LGE und T2 Mapping**

Von den 20 Patienten ohne positiven LGE Befund im MRT zeigten 13 Patienten (65.0%) eine Myokarditis in der T2 Map nach definierten Kriterien (Flächenquantifizierung über 80ms). Bei 7 Patienten (35.0%) war das T2 Mapping ebenfalls unauffällig.

Von den 37 Patienten mit nachweisbarer KM Anreicherung im MRT Bild hatten drei Patienten (8.8%) eine unauffällige T2 Map. Die Auswertung der T2 Maps der übrigen 34 Patienten (91.9%) ergab ebenfalls einen positiven Befund. In der überwiegenden Zahl der Fälle korrelierten die Bereiche der KM Anreicherung mit den Segmenten, in denen erhöhte T2 Werte in den T2 Maps gemessen werden konnten. Viele Patienten zeigten zudem erhöhte T2 Werte in anderen Regionen des linken Ventrikels.



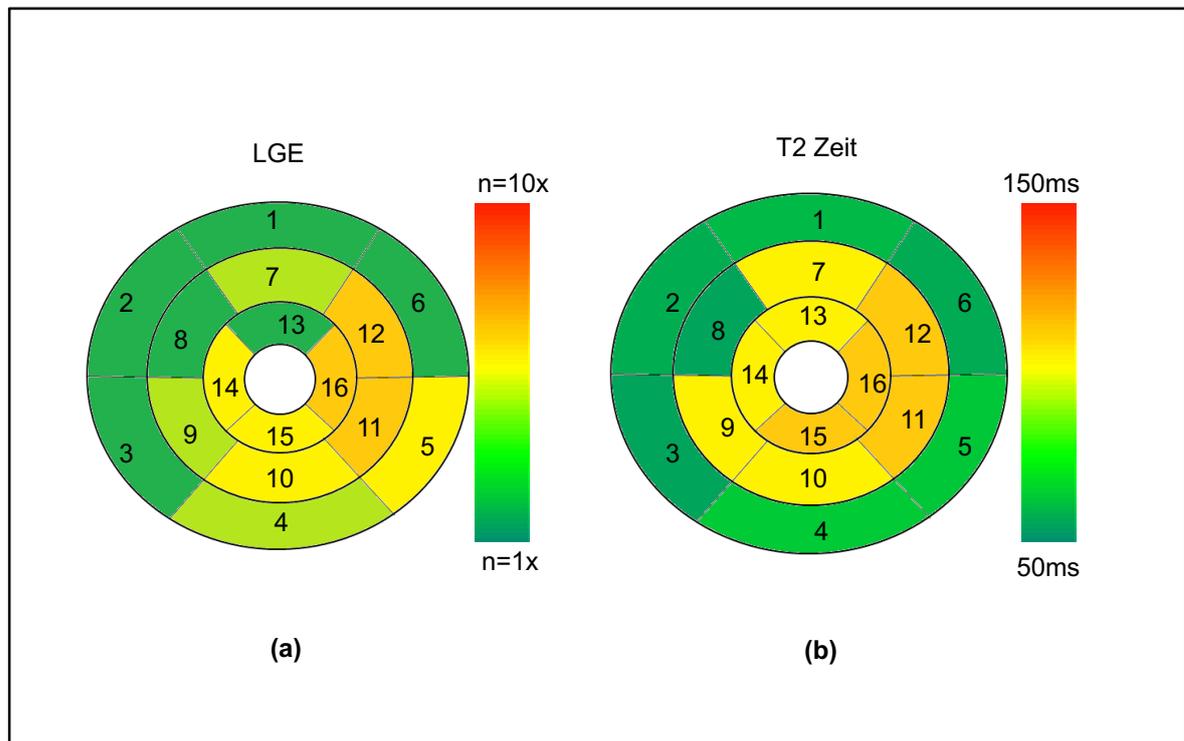
**Abb. 31 Vergleich der T2 Maps und *Late Gadolinium Enhancement* (LGE) bei Patienten mit akuter Myokarditis.** Die Abbildung zeigt die T2 Map, die in einer *region of interest* (ROI) markierte Fläche mit einer T2 Zeit größer 80 ms und das LGE Bild bei vier Patienten mit akuter Myokarditis (a)-(d). Patient (a) zeigt LGE im anteroseptalen Bereich und eine T2 Zeit Erhöhung in den korrelierenden Bereichen in der T2 Map. Bei Patient (b) ist eine späte KM Anreicherung am oberen und unteren Insertionspunkt zu sehen. Im gleichen Bereich ist in der Map die T2 Zeit lokal erhöht. Patient (c) weist erhöhte T2 Werte inferoseptal auf und an korrespondierender Stelle LGE. Patient (d) hat eine global diffuse Erhöhung der myokardialen T2 Zeit und zeigt sowohl septal, als auch lateral LGE in den entsprechenden MRT Bildern. Die roten Pfeile im LGE Bild kennzeichnen den Bereich der KM-Anreicherung. LGE= *Late Gadolinium Enhancement*, ROI= *region of interest*.

Abbildung 31 vergleicht beispielhaft an vier Patienten die Lokalisation der erhöhten T2 Werte mit der Verteilung des LGE im CMR.

Am häufigsten konnte eine Anreicherung von Gadolinium in den apikalen und midventrikulären Bereichen des lateralen linken Ventrikels nachgewiesen werden (Segmente 11, 12 und 16). Auch die septalen apikalen, inferioren apikalen und midventrikulären Segmente zeigten häufig eine KM Aufnahme ( Segmente 10, 14, und 15).

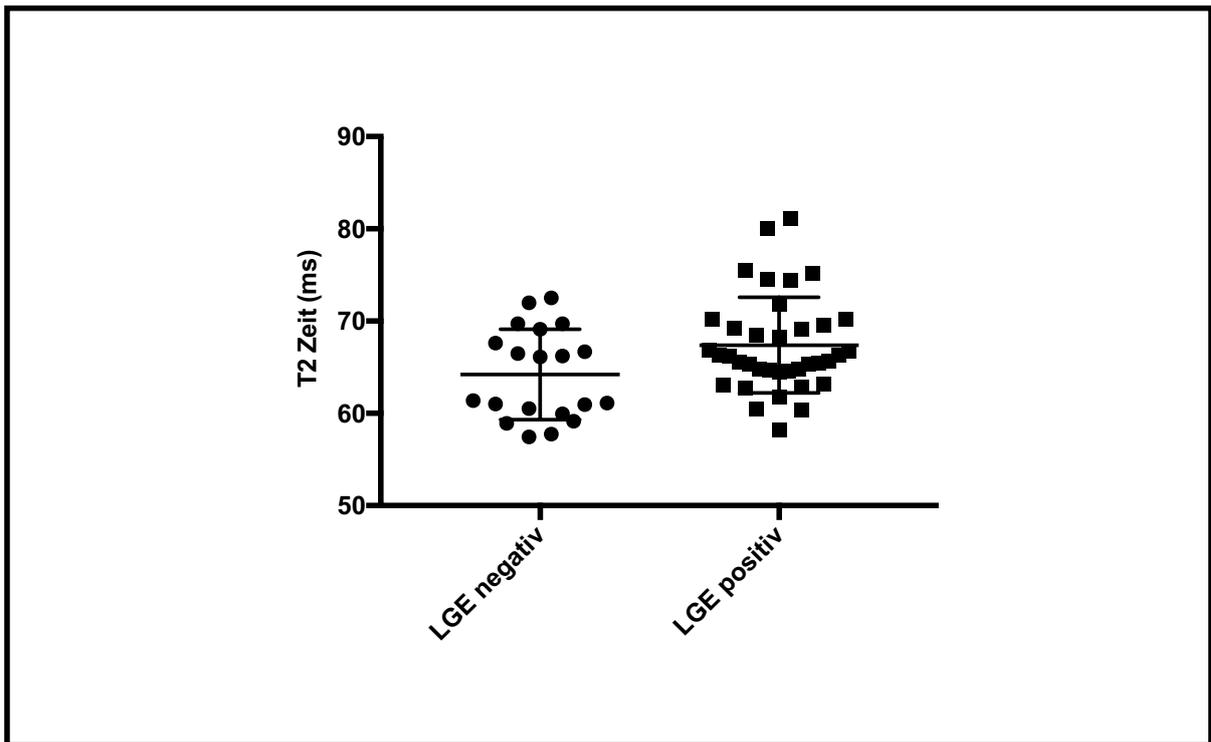
Korrespondierend war die T2 Zeit in den Segmenten 11, 12, 15 und 16 besonders gesteigert und zusätzlich in der übrigen apikalen und midventrikulären anterioren, septalen und inferioren Segmenten erhöht (Segmente 13 und 7, Segmente 14 und 9, sowie Segment 10).

Abbildung 32 stellt diese Zusammenhänge grafisch dar.



**Abb. 32 Vergleich der LGE Lokalisation (a) mit der mittleren T2 Zeit (b).** In Abbildung (a) korreliert die zunehmende Häufigkeit (n=1;...;10) des Auftretens von *Late Gadolinium Enhancement* (LGE) in den jeweiligen Segmenten mit einem Farbumschlag von dunkelgrün über gelb nach orange entsprechend der Farbskala. Die Hauptlokalisierung des LGE findet sich in den lateralen apikalen, midventrikulären und basalen Bereichen des linken Ventrikels (Abbildung (a)). In Abbildung (b) korreliert die ansteigende mittlere T2 Zeit (ms) mit dem Farbumschlag von grün über gelb nach orange entsprechend der eingezeichneten Farbskala. Die höchsten T2 Werte finden sich lateral und inferior in der apikalen und midventrikulären Schicht des linken Ventrikels (Abbildung (b)). LGE=*Late Gadolinium Enhancement*.

Die T2 Zeit der Patienten mit nachweisbarem LGE war signifikant höher, als die entsprechenden Werte der Patienten ohne LGE (keine LGE Anreicherung:  $64.2 \pm 4.9$  ms; LGE Anreicherung:  $67.4 \pm 5.2$  ms,  $p < 0.05$ ). Abbildung 33 zeigt die entsprechenden Daten.



**Abb. 33 Mittlere T2 Zeit in Abhängigkeit vom LGE Befund.** Die beiden vorliegenden *scatter dot plots* tragen die mittlere T2 Zeit (ms) der Myokarditis Patienten anhand des *Late Gadolinium Enhancement* (LGE) Befundes gegeneinander auf. Die T2 Zeit der Patienten mit zusätzlichem LGE in der MRT Untersuchung wiesen signifikant höhere T2 Werte auf als diejenigen Patienten ohne LGE ( $p < 0.05$ ). LGE=*Late Gadolinium Enhancement*.

### 3.6.3 T2 weighted Imaging bei Myokarditis Patienten

T2w Imaging wurde bei 52 Patienten untersucht und ausgewertet. Bei zwei Patienten war die Qualität der Bilder artefaktbedingt nicht geeignet, um diese auszuwerten. 33 Patienten (66.6%) wiesen ein erhöhtes T2 Ratio ( $>1.9$ ) im linken Ventrikel auf.

Bei 17 Patienten (51.5%) gelang gleichzeitig ein LGE Nachweis in den entsprechenden myokardialen Anteilen. 75.8% der Patienten ( $n = 25$ ) mit positivem T2w Imaging wiesen in den korrelierenden Segmenten zudem erhöhte T2 Zeiten auf.

### 3.6.4 Sensitivität und Spezifität der konventionellen Verfahren

Die diagnostische Leistungsfähigkeit der MRT Verfahren ist in Tabelle 9 dargestellt. Berechnet wurden die diagnostischen Werte der einzelnen Sequenzen, als auch die Kombinationen von zwei bzw. drei Methoden. Die folgenden Werte beziehen sich auf das gesamte Studienkollektiv  $n=120$  (60 Myokarditis Patienten (sAMC) und 60 gesunde Probanden).

T2w Imaging erzielte Werte in der Sensitivität von 66.7% und in der Spezifität von 93.3%, bei einer *accuracy* von 80.5%.

Für das LGE wurden Sensitivitätswerte von 65.0% und Spezifitätswerte von 100% bei einer *accuracy* von 76.7% errechnet.

Mit dem T2 Mapping Verfahren wurden 85.0% der kranken Patienten mit einer Spezifität von 90.0% und einer diagnostischen Genauigkeit von 87.5% erkannt.

Die Kombination aus T2w Imaging und LGE erzielte Werte von 89.4% (Sensitivität), 93.3% (Spezifität) und 91.4% (*accuracy*).

Die Kombination aus LGE und T2 Mapping erkannte 88.3% der erkrankten Patienten bei einer Spezifität von 90.0% und einer Trennschärfe von 89.2%.

Die Kombination aus T2w Imaging und T2 Mapping erbrachte Werte von 90.0% für die Sensitivität, 90.0% für die Spezifität und eine Trennschärfe von 90.0%.

Die Kombination aus allen drei Ansätzen (T2w Imaging, LGE und T2 Mapping) erzielte die höchsten Werte für die Sensitivität (96.7%), bei einer Spezifität von 90.0% und einer diagnostischen Trennschärfe von 93.3%.

Gewebe Kriterien	Sensitivität (%)	Spezifität (%)	Accuracy (%)	PPV (%)	NPV (%)
T2w	66.7	93.3	80.5	88.5	76.7
LGE	65.0	100	82.9	100	75.0
T2 Map	85.0	90.0	87.5	89.5	83.1
T2W und LGE	29.3	93.3	61.8	80.9	57.7
T2W oder LGE	89.4	93.3	91.4	92.7	90.3
T2 Map und LGE	63.3	90.0	76.7	86.3	71.7
T2 Map oder LGE	88.3	90.0	89.2	89.8	88.5
T2 Map und T2W	47.2	90.0	69.9	80.6	65.8
T2 Map oder T2W	90.0	90.0	90.0	90.0	90.0
T2W und LGE und T2 Map	37.9	90.0	64.4	78.5	60.0
T2W oder LGE oder T2 Map	96.7	90.0	93.3	90.6	96.4

**Tabelle 9 Übersicht zur diagnostischen Leistungsfähigkeit verschiedener CMR Parameter in der klinischen Myokarditis Diagnostik.** Dargestellt sind die Sensitivitätswerte (%), sowie Werte für die Spezifität (%), für die *accuracy* (%), sowie der Positive Prädiktive Wert (PPV) (%) und der Negative Prädiktive Wert (NPV) (%) der einzelnen MRT Verfahren, sowie verschiedener Kombinationen der Verfahren (%). MRT=Magnetresonanztomographie, LGE=Late Gadolinium Enhancement, T2w=T2 weighted Imaging, PPV=Positiver prädiktiver Wert, NPV=Negativer Prädiktiver Wert.

### 3.6.5 T2 Mapping und konventionelle CMR Verfahren im Vergleich zur EMB

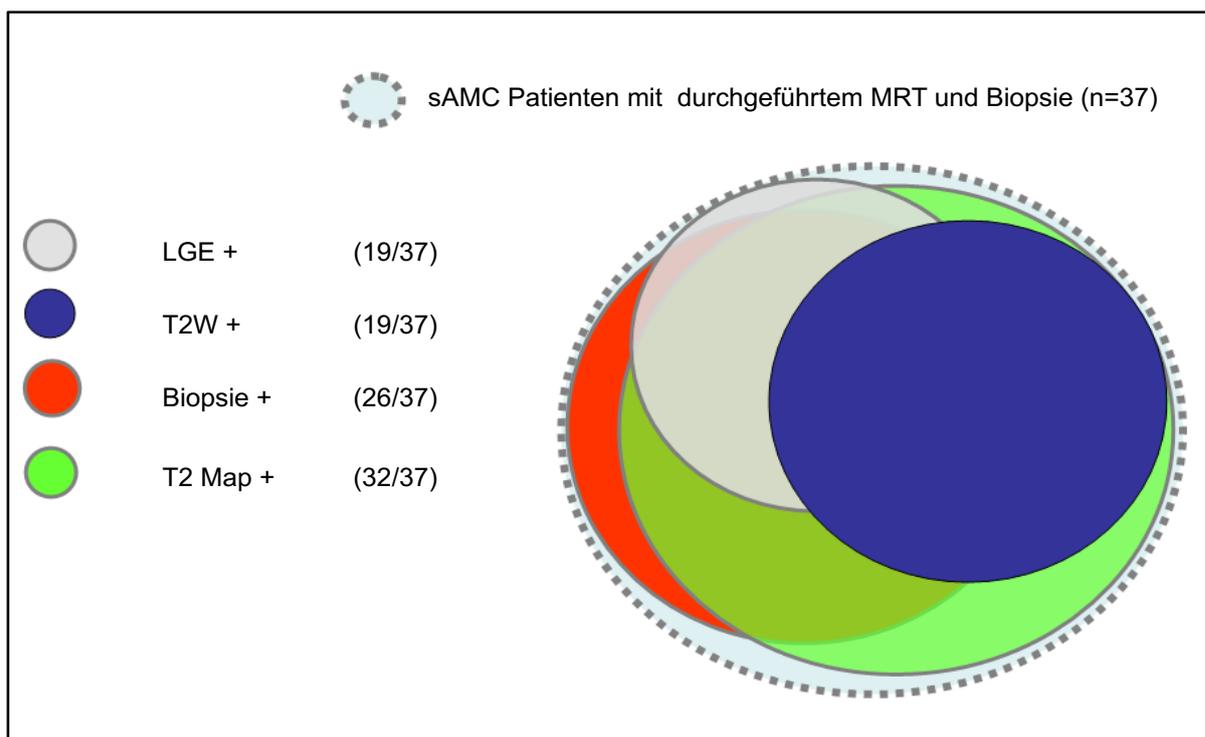
Die weiterführenden Untersuchungen der 37 biopsierten Patienten ergaben bei 26 Patienten

immunhistochemisch den Nachweis einer Myokarditis. Bei 11 Patienten konnte bioptisch keine Myokarditis gesichert werden. Im MRT zeigte sich bei 32 der 37 Patienten eine abnormal erhöhte T2 Zeit im T2 Mapping. Mittels LGE wurden 19 Patienten als krank erkannt. Der Nachweis einer erhöhten T2 Ratio gelang bei 19 Patienten mittels *T2 weighted Imaging*. Die Kombination aller drei Methoden diagnostizierte bei jedem Patienten eine Myokarditis.

Von den 26 Patienten mit positiver EMB, zeigten 24 Patienten (92.3%) abnormal hohe T2 Werte im T2 Mapping. 14 der 26 Patienten (53.8%) zeigten LGE. Bei 13 Patienten (50.0%) konnte ein erhöhtes T2 Ratio in der konventionellen T2 Sequenz dokumentiert werden.

Von den 11 Patienten mit negativer Myokardbiopsie zeigten acht Patienten (72.7%) erhöhte T2 Werte im Mapping. Bei sechs Patienten (54.5%) wurde LGE in den Bildern nachgewiesen und bei sieben Patienten (63.6%) wurde *T2w Imaging* als positiv beschrieben.

Abbildung 34 visualisiert die Sensitivität verschiedener Verfahren in der Myokarditis Diagnostik.



**Abb. 34 Übersicht über die Sensitivität verschiedener Verfahren zur Myokarditis Diagnostik.** Der hellblaue Kreis mit gestrichelter Linie umfasst alle 37 biopsierten Patienten. Der graue Kreis repräsentiert die 19 Patienten mit positivem LGE. Der blaue Kreis diejenigen Patienten mit positivem T2w Imaging (n=19). Der rote Kreis zeigt die 26 Patienten mit gesichert Myokarditis in der EMB. Der grüne Kreis stellt die 32 Patienten mit auffälliger T2 Map dar. LGE=Late Gadolinium Enhancement, T2W=T2 weighted Imaging, MRT=Magnetresonanztomographie, sAMC=Klinisch wahrscheinlich akute Myokarditis.

## IV. Diskussion

### 4.1 Grundlagen der T2 Relaxationszeitmessung

#### 4.1.1 Korrelation von Wassergehalt und T2 Zeit

Die Ergebnisse der Phantomversuche legen dar, dass die T2 Relaxationszeit mit dem Wassergehalt im Gewebe korreliert. Dies belegen die drei durchgeführten *ex-vivo* Experimente. Je höher der prozentuale Wasseranteil im Phantom des peripheren Muskels war, desto höher waren die im MRT gemessenen T2 Werte. Große Schwankungen des Wassergehalts im oberen Bereich gingen mit größeren Veränderungen der T2 Zeit einher. Die Resultate können durch die physikalischen Grundlagen der Bildgebung erklärt werden. Die T2 Zeit entspricht der transversalen Relaxationszeit einer bestimmten Menge von Wasserstoffmolekülen, die durch Einstrahlung von Hochfrequenzimpulsen aus dem ursprünglichen Magnetfeld herausgelöst werden und entsprechend ihres Eigendrehimpulses in den elektromagnetischen Ursprungszustand zurückschwingen. Dabei nimmt die transversale Magnetisierung beeinflusst durch Magnetfeldinhomogenitäten durch Gradientenfelder und Biomaterialien ab. Je mehr Wassermoleküle im Gewebe vorhanden sind, desto stärker ist die Relaxationsbewegung und konsekutiv höher die gemessene T2 Zeit. Tatsächlich wird die T2 Zeit durch unterschiedliche Phänomene beeinflusst und ist das Ergebnis von multiplen Interaktionen im Gewebe zwischen Wasser, Fett und Proteinen, sowie den jeweiligen Eigenschaften der angewandten MRT Sequenz.

#### 4.1.2 Physiologische Grundlagen

Die vorliegenden Ergebnisse bestätigen die Untersuchungen von Higgins et al. aus dem Jahr 1983 im infarzierten Kaninchenmodell. Eine signifikante Erhöhung der T2 Zeit beruht auf einer Steigerung des Wassergehalts im Gewebe um 3 bis 5% bei akuter Ischämie. (Higgins et al., 1983) Bei myokardialen Ischämien steigt der Wassergehalt im Gewebe in der akuten Phase um bis zu 28% an. (D. Garcia-Dorado & Oliveras, 1993) Andere Studien konnten nachweisen, dass freies Wasser deutlich stärkeren Einfluss auf die T2 Zeit hat, als an proteingebundenes Wasser. In Phasen akuter Ischämie steigt die T2 Zeit mit dem intrazellulärem Wassergehalt an, welches u.a. im Vorgang von Zellnekrosen aus Proteinen freigesetzt wird. (Hazlewood, Chang, Nichols, & Woessner, 1974) (Naßenstein et al., 2014) (Ugander et al., 2012) (Hammer-Hansen et al., 2014) (Lønborg et al., 2011)

Im Krankheitsverlauf der Myokarditis tritt ein Ödem vornehmlich in der frühen Krankheitsphase auf. Studien zu EMB zeigen, dass im frühen Krankheitsstadium das im Myokard betroffene Areal durch interstitielle lymphozytäre Infiltration, Zellnekrosen und einem interstitiellen Ödem gekennzeichnet ist. (Fenoglio, Ursell, Kellogg, Drusin, & Weiss, 1983) Das Ödem entsteht durch eine gesteigerte Perfusion im Areal der Entzündung und wird durch Extravasation der Flüssigkeit aus den Gefäßen in die entzündeten Bezirke verstärkt. Verantwortlich für die Permeabilitätssteigerung sind durch Entzündungsmediatoren hervorgerufene komplexe Prozesse, die über Zellmembranschädigung, Elektrolytverschiebungen und weitere Vorgänge den Flüssigkeitsübertritt ins Gewebe fördern. Zusätzlich wird im Rahmen von Zellnekrosen an proteingebundenes Wasser freigesetzt welches das Ödem im Myokard verstärkt. (M. G. Friedrich et al., 1998)

#### **4.1.3 Detektion lokaler Ödeme im Muskelgewebe**

Ein dritter Vorversuch beschreibt die Möglichkeit mittels T2 Mapping einen geringen, lokal erhöhten Wassergehalt im Gewebe zu detektieren. Die gewonnenen Ergebnisse erlauben zwei Rückschlüsse: Erstens ist es möglich mittels T2 Mapping kleine und lokal begrenzte Flüssigkeitsansammlungen im Gewebe zu erfassen. Zweitens ist die Messung der globalen T2 Zeit im Gewebe nicht hilfreich bei dem Versuch kleine fokale Entzündungsprozesse zu detektieren, da die globale T2 Zeit nicht im gleichen Umfang ansteigt wie die T2 Werte in den lokal begrenzten entzündeten Arealen. Daher wurde in der vorliegenden Arbeit eine bestimmte Vorgehensweise zur verbesserten Detektion von lokalen Ödemen entwickelt, indem die linksventrikuläre Fläche mit einer T2 Zeit über 80 ms quantifiziert wurde. Ein cut-off von 80 ms wurde ausgewählt, da dieser 5 Standardabweichungen über der mittleren T2 Zeit im gesunden Myokard liegt ( $59.9 \pm 4.3$  ms), sodass myokardiale Areale die eine T2 Zeit über 80 ms aufweisen entweder einen deutlich gesteigerten Wassergehalt anzeigen oder Artefakt bedingt entstanden sein müssen.

#### **4.2 Evaluation der quantitativen T2 Zeitanalyse via T2 Mapping im gesunden Herzen**

Innerhalb dieser Arbeit wurden 64 Probanden eingeschlossen, um das Verfahren am gesunden Herzen zu evaluieren.

Es stellte sich heraus, dass die globale T2 Zeit im gesunden Myokard bei  $59.9 \pm 4.3$  ms lag (siehe Kapitel 3.3.1). Dieser Wert ist höher als aus bisherigen Studien zum T2 Mapping im gesunden Menschen bekannt. An dieser Stelle werden mittlere T2 Werte im Bereich von 50

bis 58 ms im Myokard beschrieben. (von Knobelsdorff-Brenkenhoff et al., 2013) (Wassmuth et al., 2013b) (Thavendiranathan et al., 2012) (T. Y. Huang, Liu, Stemmer, & Poncelet, 2007) Ursache hierfür können Unterschiede im *puls sequence design* im Vergleich mit den in anderen Publikationen beschriebenen Sequenzen sein. Die Abhängigkeit der T2 Werte von der Echo Anzahl und den Zwischenechozeiten könnten hierbei eine Rolle spielen. In dieser Arbeit wurden 15 Echos á 10 ms gewählt um den gesamten exponentiellen Intensitätsabfall des myokardialen Gewebes (entlang der 15 Echos abzudecken) bis zum asymptotischen Auslaufen zu analysieren, um einen möglichst realen *fit* einer Funktion zu erhalten. Dies stellt einen gewählten Kompromiss in der Datenakquisition nach 150 ms in der Enddiastole zwischen einer möglichst geringen *strain rate* ( $1.7 \pm 2$  Ecc/s) und der maximal möglichen Abdeckung des myokardialen Signalintensitätsabfalls dar. (Bönnner et al., 2015) Außerdem hat die unterschiedlich große räumliche Auflösung der verschiedenen Sequenzen Einfluss auf die Berechnung der T2 Zeiten. Eine geringere räumliche Auflösung führt zu größerem Partialvolumen und höheren T2 Zeiten. (Eitel & Friedrich, 2011)

#### **4.2.1 Verteilung der T2 Zeit im Myokard**

Wird die Verteilung der T2 Werte in den myokardialen Segmenten betrachtet fällt auf, dass die Werte von apikal nach basal abfallen. Dies galt für männliche und weibliche Probanden gleichermaßen. Auch bei den älteren Kontrollen war ein apikal-basaler Gradient erkennbar. Diese Ergebnisse stimmen mit den Resultaten ähnlicher Publikationen überein. Markl et al. beschreiben T2 Werte von 50.5 ms bis 51.6 ms in den basalen Schichten und 54.3 ms bis 56.1 ms in den apikalen Schichten. (Markl et al., 2012)

Als ursächlich hierfür wird der Partialvolumeneffekt verantwortlich gemacht. Diskutiert werden darf, ob in den apikalen Schichten durch einen gesteigerten *slow flow* vermehrt Artefakte entstehen, die mit in die Berechnung der T2 Werte miteinstrahlen. Die Tatsache, dass dies unabhängig von Alter und Geschlecht beobachtet wird unterstreicht diese Theorie. Daher erscheinen morphologische Ursachen unwahrscheinlich für den beschriebenen Effekt. Abgesehen von der apikal-basalen Differenz der T2 Werte, waren diese im Probanden Kollektiv homogen über den linken Ventrikel verteilt (siehe Kapitel 3.3.3).

#### **4.2.2 Einflussfaktoren auf die T2 Zeit**

Bisherige Studien publizieren eine hohe interindividuelle Schwankungsbreite der T2 Zeiten im gesunden Myokard. Daher muss es noch bisher unbekannte Faktoren geben, die Einfluss auf die T2 Zeit nehmen. Hier wird u.a. diskutiert, dass die Herzfrequenz Einfluss auf die T2 Zeit haben könnte. (Giri et al., 2012) (von Knobelsdorff-Brenkenhoff et al., 2013)

In der vorliegenden Arbeit wurden diese Überlegungen zum Teil bekräftigt. Die interindividuelle Schwankungsbreite der T2 Werte im Probandenkollektiv betrug maximal 24.0 ms. Der geringste gemessene Wert lag bei 45.9 ms und die höchste gemessene T2 Zeit eines Probanden betrug 69.9 ms. Diese Werte entsprechen den Ergebnissen der oben genannten Studien und unterstreichen die Forderung nach untersuchungsabhängigen Referenzwerten. Gleichzeitig müssen Referenzwerte individuell auf Alter und Geschlecht, sowie auf mögliche weitere Einflussgrößen wie arterielle Hypertonie oder Hyperlipidämie angepasst werden.

#### *Geschlecht und T2 Zeit*

Weibliche Studienteilnehmer wiesen im Mittel höhere T2 Werte auf als männliche Teilnehmer der Studie. Für die weibliche Kohorte wurde eine mittlere T2 Zeit von  $62.3 \pm 4.3$  ms berechnet. Die Männer zeigten T2 Werte von  $57.9 \pm 3.8$  ms im Mittel. Diese Zahlen stehen zum Teil im Widerspruch zu Ergebnissen aus bisherigen Studien. (von Knobelsdorff-Brenkenhoff et al., 2013)

Es wird angenommen, dass das weibliche Geschlecht eine größere interindividuelle Schwankungsbreite aufweist. Dies wird durch eine gesteigerte Beweglichkeit des Herzens während der Herzaktion erklärt. In dieser Studie kann die genannte Erklärung dadurch widerlegt werden, dass die Ergebnisse der durchgeführten segmentalen *strain* Analyse eine Regression von T2 Zeit und systolischem, sowie diastolischem *strain* keine Korrelation lieferte. (Bönner et al., 2015) Insgesamt scheinen die Ergebnisse daher überraschend zu sein und belegen die Notwendigkeit von geschlechtsspezifischen Referenzwerten.

#### *Alter und T2 Zeit*

Auch konnte eine positive Korrelation zwischen Alter der Probanden und Höhe der berechneten T2 Werte beobachtet werden. Ein möglicher Erklärungsansatz für dieses Phänomen könnten erhöhte Triglyzerid-Spiegel im alternden Herzen sowie eine erhöhte Inzidenz des metabolischen Syndroms im Alter sein. (Bönner et al., 2015) Trotz der Tatsache, dass die Probanden keine bekannten kardialen Erkrankungen angegeben haben und kardial beschwerdefrei waren, können mikrovaskulären Schäden oder eine milde kardiale Hypertrophie nicht sicher ausgeschlossen werden. Gerade vor dem Hintergrund, dass die Häufigkeit der kardiovaskulären Risikofaktoren im Alter ansteigt muss damit gerechnet werden, dass auch in der Kohorte der gesunden Probanden deutlich erhöhte T2 Werte erhoben werden. Um eine gute Vergleichbarkeit zwischen Patientenkohorte und Probanden zu

generieren, wurden ältere Probanden in die Studie eingeschlossen, sodass die typische Prävalenz von Hypertonie und Hyperlipidämie repräsentiert wurde.

Nichts desto trotz konnte in dieser Studie kein signifikanter Zusammenhang zwischen kardiovaskulären Risikofaktoren und der T2 Zeit aufgedeckt werden. Dennoch muss dieser Gedankengang aufgrund der hohen interindividuellen Schwankungsbreite der T2 Werte im gesunden Myokard weiter Berücksichtigung finden.

#### **4.2.3 Interobservervariabilität**

Trotz der oben aufgeführten Faktoren, die Einfluss auf die Berechnung der T2 Zeit nehmen ist die geringe Interobservervariabilität hervorzuheben. Die unabhängige Auswertung zweier Untersucher ergab eine mittlere Schwankungsbreite von +2 bis -4 ms in der Auswertung der T2 Maps und einen Variationskoeffizienten von 2.2%.

Diese Ergebnisse stehen in Einklang mit den bekannten Daten anderer Studien. (Sprinkart et al., 2015) (Thavendiranathan et al., 2012) (Verhaert et al., 2011)

### **4.3 T2 Zeitanalyse mittels T2 Mapping bei akuter Myokarditis**

#### **4.3.1 Klinische Präsentation**

Das durchschnittliche Alter des Patientenkollektivs betrug  $43.5 \pm 15.7$  Jahre. 70% der Patienten waren männlich. In der Literatur wird eine ähnliche Alters- und Geschlechterverteilung für die Myokarditis beschrieben. (Lurz, Eitel, Adam, Steiner, Grothoff, Desch, Fuernau, De Waha, et al., 2012) (Grün et al., 2012) (Šramko et al., 2013)

Die Klinik der Patienten stellte sich vielfältig dar. Wie auch in anderen Arbeiten bot ein Großteil der Patienten (70%) eine Dyspnoe Symptomatik bei initialer Präsentation. Der Anteil der Patienten mit Brustschmerzen betrug 39%. Mehr als zwei Drittel beklagten eine progrediente Leistungsschwäche und jeder Fünfte litt unter auftretenden Palpitationen. Auch diese Zahlen lassen sich in der Literatur ähnlich beschreiben. Sie sind Ausdruck der typisch bunten Klinik welche die Myokarditis bietet und gleichzeitig verantwortlich für die teilweise schwierige Diagnosefindung. (Mahrholdt et al., 2004) (Radunski et al., 2014) (Jhamnani et al., 2014)

Auffällig ist die hohe Zahl der Patienten mit im Labor nachgewiesenen erhöhten Troponin Werten. 81% der eingeschlossenen Patienten zeigten pathologische Laborwerterhöhungen mit einem mittleren Wert von  $245 \pm 454$  pg/ml. Ein Anstieg des Troponin Wertes wird bei Schädigung der Myozyten beobachtet und kann Aufschluss über den entstandenen

Zellschaden im Myokard geben. Die Troponin Konzentration fällt zwei Wochen nach entstandenem Zellschaden im Blut wieder ab. (Hugo A. Katus et al., 1984) (H A Katus, Remppis, Scheffold, Diederich, & Kuebler, 1991) Daher ist der hohe Anteil der Patienten mit Troponin Werterhöhung in der Studie Ausdruck der akuten Phase der Erkrankung.

Auch die Tatsache, dass 69% der Patienten Auffälligkeiten im EKG wie ST-Streckenveränderungen, einer verlängerten QRS-Dauer oder Herzrhythmusstörungen aufwiesen unterstreicht, dass die meisten Patienten sich zum Zeitpunkt der Untersuchung in einem frühen Krankheitsstadium befanden. So weisen Patienten mit subakutem Verlauf deutlich seltener EKG-Veränderungen auf. Lurz et al. teilten die Patienten in ihrer Studie in zwei Gruppen ein. Die Patienten der ersten Gruppe klagten über Beschwerden in einem Zeitraum von weniger als 14 Tagen. Die zweite Gruppe bildeten Patienten mit einer Klinik von mehr als 14 Tagen. ST-Streckenhebungen im EKG wurden in der ersten Gruppe bei 57% der Patienten dokumentiert wohingegen in Gruppe 2 lediglich jeder Fünfte entsprechende EKG Veränderungen aufwies. (Lurz, Eitel, Adam, Steiner, Grothoff, Desch, Fuernau, De Waha, et al., 2012)

#### **4.3.2 Quantitative T2 Zeitanalyse im entzündeten Myokard**

Die erhobenen mittleren T2 Werte im Patientenkollektiv waren signifikant höher als die berechneten Werte der 60 alters- und geschlechtsgematchten Probanden (Patienten:  $66.7 \pm 5.4$  ms; Probanden:  $59.9 \pm 4.3$  ms,  $p < 0.01$ ). Radunski et al. beschreiben T2 Werte von 55 ms bei Probanden und 61 ms bei Patienten mit akuter Myokarditis. (Radunski et al., 2014) Thavendiranathan et al. dokumentieren T2 Werte von  $54.5 \pm 2.2$  ms bei gesunden Kontrollen und  $65.2 \pm 3.2$  ms bei Patienten mit Myokarditis. (Thavendiranathan et al., 2012) Wassmuth et al. geben in ihrer Arbeit als Referenzwert im gesunden Myokard  $51 \pm 3$  ms an wohingegen betroffene myokardiale Bereiche T2 Werte von durchschnittlich  $73 \pm 9$  ms aufweisen. (Wassmuth et al., 2013b) Diese Ergebnisse verdeutlichen die Annahme, dass im Rahmen der Entzündungsreaktion durch die Myokarditis ein Ödem im Myokard auftritt. Dieses kann anhand einer gesteigerten T2 Zeit mit Hilfe von T2 Mapping Verfahren quantifiziert werden. Auch beim Myokardinfarkt ist eine T2 Wert Erhöhung im Rahmen des auftretenden Ischämie-bedingten Ödems zu beobachten. Verhaert et al. untersuchten die T2 Werte im Mapping bei Patienten mit akutem Infarkt. Die T2 Zeit in der Infarktzone betrug  $69 \pm 6$  ms, wohingegen die in ihrer Studie untersuchten Probanden T2 Werte von  $55.5 \pm 2.3$  ms im Mittel aufwiesen. Nicht betroffenes Myokard der Patienten wies T2 Mittelwerte von  $56 \pm 3.4$  ms auf. (Verhaert et al., 2011) Dies bestätigt den oben genannten Sachverhalt. Unabhängig von der

Ursache der Entstehung eines Ödems im Rahmen ischämischer und nicht-ischämischer Erkrankungen ist stets eine T2 Zeit Erhöhung im betroffenen Myokard zu dokumentieren.

### 4.3.3 Quantifizierung des inflammatorischen Myokardareals

Die Differenzierung zwischen gesundem und krankem Gewebe auf dem Boden der Betrachtung der globalen T2 Zeit allein erschien unzureichend. Einen Erklärungsansatz gibt der Injektionsversuch. Im *ex-vivo* Muskelphantom wurde 1 ml Natrium-Chlorid-Lösung infiltriert und die T2 Zeit vor und nach Injektion im MRT berechnet. Im betroffenen Areal betrug die T2 Zeit  $84.8 \pm 14.4$  ms. Im nicht behandelten Phantomgewebe wurden  $52.3 \pm 2.5$  ms gemessen. Die globale T2 Zeit des Gewebes betrug nach Injektion  $54.3 \pm 2.5$  ms. Betrachtet man diese Zahlen fällt auf, dass ein lokales Ödem im Gewebe gut detektiert werden kann anhand der deutlich gesteigerten T2 Zeit in diesem Bereich. Allerdings hat das fokale Ödem nur wenig Einfluss auf die globale T2 Zeit des gesamten Gewebes.

Daher wurde ein *cut-off* definiert ab dem myokardiales Gewebe aufgrund stark erhöhter T2 Werte nicht mehr gesund erschien. Ausgehend von der mittleren T2 Zeit im Probandenkollektiv (59.9 ms) und einer mittleren Standardabweichung von 4.3 ms wurde festgelegt, dass T2 Werte von über 80 ms, also oberhalb der fünffachen Standardabweichung, pathologisch oder Artefakt-bedingt entstanden sein müssen. Von dieser Überlegung ausgehend wurde die prozentuale Fläche des linken Ventrikels mit einer T2 Zeit über 80 ms erfasst.

Radunski et al. definierten einen Schwellenwert von 61 ms als Mittelwert des gesamten Myokards und definierten, dass Patienten die eine global erhöhte T2 Zeit über 61 ms aufwiesen, erkrankt sein mussten. (Radunski et al., 2014) Problematisch in ihrer Studie ist allerdings die sehr geringe Anzahl an gesunden Kontrollen (n=21), sodass genau das Problem der interindividuellen Schwankungsbreite der T2 Werte nicht adressiert wird und die breite T2 Wert Verteilung im gesunden Myokard keine Beachtung findet.

Die Schwellwertmethode und deren prozentualer Bezug zum Gesamtmyokard vor dem Hintergrund der *ex vivo* Injektions-Versuche überwindet dieses Problem, da durch die Quantifizierung des inflammatorischen Myokards unabhängig von der hohen interindividuellen T2 Wert Variabilität nur wirklich krankes Gewebe im T2 Mapping erfasst wird und diese nicht vor dem "Hintergrundrauschen" im Mittelwert verschwinden.

Unsere Ergebnisse zeigen den Nutzen des gewählten Vorgehens: Die Fläche mit einer T2 Zeit über 80 ms betrug bei den gesunden Probanden durchschnittlich  $4.1 \pm 2.9\%$ . In der Patienten Kohorte lag der Wert signifikant höher bei  $14.7 \pm 9.4\%$ . Die Zahlen belegen das Potential zwischen gesunden T2 Werten von Probanden und pathologisch erhöhten T2 Werten bei

Myokarditis Patienten zu differenzieren. Dennoch muss darauf hingewiesen werden, dass 4.1% der linksventrikulären Fläche bei gesunden Probanden eine T2 Zeit von über 80 ms aufwies. Der Wert kann am ehesten durch nicht vermeidbare Artefakte begründet werden. Da aber die T2 Maps von Probanden und Patienten gleichermaßen von Artefakten betroffen sind, ist von einem systematischen Effekt auszugehen.

#### **4.3.4 Lokalisation der T2 Zeit Erhöhung im Herzen bei Myokarditis**

Die Verteilung der T2 Werte im erkrankten Myokard unterscheidet sich von denen der gesunden Kontrollen. Das Myokard der Patienten zeigte in den folgenden Segmenten signifikant erhöhte T2 Werte: 16, 15, 12, 11, 10, 5 und 4.

Die Lokalisation der Segmente verdeutlicht, dass hauptsächlich in den lateralen und inferioren Bereichen des linken Ventrikels die T2 Werte erhöht waren. Daraus lässt sich folgern, dass diese Regionen die Hauptlokalisationen von myokardialen Ödemen im Rahmen der Erkrankung darstellen müssen. Vor allem die lateralen Segmente 16 (+115% T2 Zeit Erhöhung), 12 (+116% T2 Zeit Erhöhung) und 11 (+115% T2 Zeit Erhöhung) weisen die prozentual größten Unterschiede in der T2 Zeit auf.

Diese Tatsache lässt vermuten, dass sich die Myokarditis als ein fokal begrenzter Prozess mit teils sehr hohen T2 Werten auszeichnet. (Ferreira et al., 2014) In der überwiegenden Zahl der Fälle präsentierte sich die Entzündung epikardial und midmyokardial in der Wand des linken Ventrikels. Selten war eine Erhöhung der T2 Zeit auch in den endokardialen Anteilen zu sehen. Die Einstrahlung der inflammatorischen Reaktion von außen ist typisch für die Myokarditis, die nicht selten aus einer Perikarditis hervorgeht. (Mahrholdt et al., 2004) Außerdem deuten die Ergebnisse an, dass die akute Myokarditis ein anfänglich fokaler Prozess ist der auf das gesamte Myokard übergreifen kann.

12 Patienten der vorliegenden Studie zeigten in den T2 Maps globale T2 Werte von über 70 ms. Dies lässt vermuten, dass sich bei diesen Patienten die Entzündungsreaktion auf den gesamten linken Ventrikel ausgedehnt hat. Interessant in diesem Zusammenhang ist die Frage, ob sich bei den Patienten die linksventrikuläre Funktion des Herzens entsprechend den hohen T2 Werten verschlechtert hat.

Die oben aufgeführten Ergebnisse zur Lokalisation der Myokarditis stehen in Übereinstimmung mit den Resultaten anderer Arbeiten. Ferreira et al. erklären, dass Myokarditis typische Läsionen zu 98% in der lateralen Wand und zu 96% in der inferioren Wand des linken Ventrikels zu sehen seien. Sowohl im LGE als auch im T1 Mapping sei diese Lokalisation sichtbar. (Ferreira et al., 2014) In einer anderen Arbeit werden die in der Echokardiographie beobachteten Lokalisationen der Myokarditis, mit korrelierenden

Auffälligkeiten im EKG verglichen. Hier wurde eine hohe Übereinstimmung der Ergebnisse aus EKG und Echokardiografie beschrieben. Am häufigsten zeigte sich eine diffuse und inferiore Lokalisation. Interessanterweise waren laterale Bereiche äußerst selten betroffen. Dies steht im Gegensatz zu bekannten Erkenntnissen aus der Literatur. (Nieminen et al., 1984) Zudem wird in einer weiteren Studie beschrieben, dass 80% von 41 untersuchten Patienten mit akuter Myokarditis im EKG eine ST-Streckenhebung im inferolateralen Bereich darbieten. In zwei Drittel der Fälle konnte eine Übereinstimmung bzgl. der Lokalisation der ST-Streckenhebung und einer sichtbaren KM Anreicherung in der LGE Sequenz gesehen werden. (Nucifora et al., 2013)

Neben den ausführlichen Überlegungen zu Krankheitslokalisierung und zum Krankheitsprogress muss auch berücksichtigt werden, dass gerade in den lateralen und inferioren Bereichen am häufigsten Artefakte in der Bildgebung vorhanden sind. Auch von Knobelsdorff et al. weisen in ihrer Studie zum T1 und T2 Mapping darauf hin, dass die meisten Artefakte in den inferolateralen Segmenten der T2 Maps vorkommen. Genau in diesem Bereich zeigen sich auch durch die Myokarditis hervorgerufene Läsionen im linken Ventrikel. (von Knobelsdorff-Brenkenhoff et al., 2013)

#### **4.3.5 Nachweis einer Struktur-Funktionsbeziehung mittels T2 Mapping**

Aus den Erkenntnissen zur Lokalisation der Myokarditis im linken Ventrikel lassen sich weitere Fragestellungen ableiten. Gerade wenn die Erkrankung fokal im linken Ventrikel auftritt, müssten Einschränkungen der systolischen und diastolischen Funktion in diesen Arealen detektiert werden können. Es ist unangefochten, dass eine myokardiale Ischämie in den Regionen der Ischämie-bedingten Narbe lokale Wandbewegungsstörungen hervorruft, die in der Bildgebung dokumentiert werden können. Daher sollte es möglich sein die segmentalen erhöhten T2 Werte mit regional korrespondierenden Wandbewegungsstörungen zu korrelieren.

Die Studie von Markl et al. untersucht einen ähnlichen Zusammenhang. Eingeschlossen wurden Patienten mit einer Abstoßungsreaktion nach Herztransplantation. Neben dem T2 Mapping wurde zur Überprüfung der linksventrikulären Funktion ein *velocity mapping* durchgeführt. Die Korrelationsanalysen legen eine inverse Korrelation der T2 Mapping Werte mit den *long-axis peak velocities* nahe, als Zeichen einer Struktur-Funktionsbeziehung. Je höher die lokalen T2 Werte waren, desto schlechter stellten sich die Geschwindigkeitswerte der longitudinalen systolischen Kontraktion (orthogonal zu den Kurzachsenschnitten) des Herzens dar. Auch die korrespondierenden diastolischen Werte zeigten eine verschlechterte longitudinale Bewegung des Herzmuskels in diesen Bereichen an. Bedacht werden muss, dass

lediglich zehn Patienten eingeschlossen wurden und nur eine moderate, aber dennoch signifikante Korrelation aufgedeckt werden konnte. Nichts desto trotz müssen in Zukunft weitere Studien mit einer Kombination aus lokalen Struktur- und Funktionsanalysen einen möglichen Effekt eines lokal begrenzten Ödems des Herzmuskels auf die regionale Wandbewegung nachweisen. (Markl et al., 2012)

Auf der anderen Seite stellt sich im Rahmen der Myokarditis die Frage nach einer generellen Korrelation zwischen Größe des betroffenen inflammatorischen Areals und der Einschränkung der linksventrikulären Funktion. Die vorliegende Arbeit konnte zeigen, dass Patienten mit deutlich erhöhten T2 Werten (globale T2 Zeit >70 ms) klinisch einen schwereren Krankheitszustand aufwiesen, definiert an hämodynamischen, klinischen und laborchemischen Parametern. Demnach zeigten Patienten mit einer höheren T2 Zeit in der Herzkatheteruntersuchung signifikant höhere Werte für den LVEDP als die Patienten mit geringeren Werten im T2 Mapping. Die linksventrikuläre Pumpfunktion war in der Patientengruppe mit höheren T2 Werten reduziert. Die LVEF betrug bei Patienten mit einer globalen T2 Zeit unter 65 ms 44%, bei Patienten mit globalen T2 Zeiten im Bereich von 65 ms bis 70 ms 42% und bei 12 Patienten mit einer globalen T2 Zeit von über 70 ms 35%. Diese Resultate belegen den Zusammenhang zwischen einer detektierten Gewebeveränderung (Ödem im linksventrikulärem Myokard) und einer konsekutiven Einschränkung der Funktion des linken Ventrikels. Gerade die Patienten, die eine T2 Zeit von über 70 ms aufweisen, scheinen aufgrund der insgesamt hohen T2 Zeit im linken Ventrikel einen globalen Befall des Myokards aufzuweisen und zeigen in der Folge eine stark reduzierte EF (35%) im Sinne einer schweren Funktionseinschränkung. Es ist daher anzunehmen, dass das myokardiale Ödem im Rahmen der Myokarditis bei starker Ausprägung (global myokardiale T2 Zeit über 70 ms) zu einer schlechteren Pumpleistung des Myokards führt.

#### *Linksventrikuläre Funktionseinschränkung durch myokardiales Ödem*

Die pathophysiologischen Vorgänge wurden bereits in verschiedenen Publikationen untersucht. Es konnte im Tierversuch gezeigt werden, dass ein Anstieg des myokardialen Wassergehalts um 3%, von 75% auf 78%, zu einer Erhöhung der myokardialen Masse um 12% führte. Gleichzeitig reduzierte sich der *cardiac output* um 30% bei einem gegebenen linksatrialen Druck von 15 mmHg. Außerdem führt ein myokardiales Ödem zur Einschränkung der kardialen Reserve. Bei Belastung des Herzens durch eine erhöhte Herzfrequenz oder einen erhöhten aortalen Druck (Aortenklappenstenose), resultiert dies in einer stark kompromittierten Funktionseinschränkung.

Eine Steigerung des Wassergehalts im Myokardgewebe um 5%, führte im Versuch zu einer Steigerung der myokardialen Masse um 25% und gleichzeitig halbierte sich der *cardiac output*. (Laine & Allen, 1991)

Die Ursache der Funktionseinschränkung liegt u.a. darin begründet, dass durch die Steigerung des Wassergehalts im Gewebe der interstitielle Druck ansteigt. Dieser Anstieg führt zu einer erhöhten Steifigkeit des Ventrikels und einer konsekutiv geringeren *compliance*.

Darüber hinaus entsteht dadurch ein visköser Effekt, dass in jeder Systole interstitielle Flüssigkeit im Gewebe bewegt werden muss. Beides zusammen führt zur Einschränkung der systolischen und diastolischen Kontraktionseigenschaften des Herzens. (David Garcia-Dorado, Andres-Villarreal, Ruiz-Meana, Inserte, & Barba, 2012)

Von großer Bedeutung in diesem Zusammenhang ist auch eine Vergrößerung der Diffusionsstrecke der Sauerstoffmoleküle aus den Kapillaren hin zu den Myozyten, hervorgerufen durch die interstitielle Flüssigkeit. Gerade das Herz weist schon in Ruhe eine maximale Sauerstoffextraktion auf. Alleine die Steigerung des Koronarflusses kann den gesteigerten Sauerstoffbedarf unter Belastung erhöhen. Da aber ein myokardiales interstitielles Ödem auch den koronaren Blutfluss durch Gefäßkompression einschränkt, erleiden die Myozyten durch die erwähnten Mechanismen eine relative Ischämie, die zu einer verminderten kardialen Funktion führt und den dann eingetretenen "circulus vitiosus" verstärkt. Auch eine veränderte interstitielle Matrix verschärft oben aufgeführte Vorgänge. Das Verhältnis von Kollagen I zu Kollagen III verändert sich bei myokardialen Ödemen, spielt aber eher bei chronischem Krankheitsverlauf eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie, zum Beispiel im Rahmen der DCM. (Pauschinger et al., 1999)

#### *EKG Veränderungen durch Störung des Zellmetabolismus*

EKG Veränderungen zeigten sich bei zwei Drittel der Patienten mit einer globalen T2 Zeit unter 65 ms und bei 90.0% der Patienten mit einer T2 Zeit über 70 ms. Diese Unterschiede lassen sich auf zellulärer Ebene erklären. Eine Erhöhung des intra- und interzellulären Wassergehalts führt über veränderte Elektrolytkonzentrationen zur Steigerung der Reizbarkeit des elektrophysiologischen Systems. Vor allem Veränderungen des Natrium- und Kaliumhaushalts, hervorgerufen durch im Rahmen von Zellnekrosen auftretenden Einschränkungen der Natrium-Kalium-ATPase, spielen hier neben weiteren Faktoren eine Rolle. Durch Steigerung des extrazellulären Natriums sinkt nicht nur das Ruhemembranpotential der Myozyten, vielmehr ergeben sich durch komplexe Einflüsse auf den pH-Wert, auf den Kalzium-Haushalt und auf den (mitochondrialen) Zellmetabolismus Störungen im gesamten Zellstoffwechsel der Myozyten. (David Garcia-Dorado et al., 2012)

### *Laborwerterhöhung durch myozytäre Schädigung*

Die mittlere Troponin Konzentration betrug bei Patienten mit niedriger globaler T2 Zeit (<65 ms) 59 pg/ml und in der Patienten Kohorte mit hohen T2 Werten (>70 ms) 277 pg/ml. Die Zahlen weisen daraufhin, dass es im Rahmen der Entzündungsreaktion im Myokard zu einer Schädigung der Myozyten kommt, die im MRT anhand der gesteigerten T2 Werte erfasst werden kann.

Kardiales Troponin ist als Protein der Aktinfilamente Bestandteil des intrazellulären kontraktiven Apparats der Zelle und bei Zellschädigung im Blut erhöht nachweisbar. Im Entzündungsprozess der Myokarditis wird Troponin bei Zellnekrosen freigesetzt und erlaubt in der Diagnostik Aussagen über Größe und Ausmaß der myokardialen Schädigung. (Hugo A. Katus et al., 1984) (Remppis et al., 2000)

Die Tatsache, dass die T2 Zeit bei Patienten mit erhöhten Troponin Werten korrespondierend gesteigert ist, zeigt dass es im Rahmen der Ödembildung im Myokard auch zur Schädigung des umliegenden Gewebes kommt.

## **4.4 Validierung von T2 Mapping am Goldstandard EMB**

In der zugrunde liegenden Arbeit wurden die Myokardbiopsien von 37 biopsierten und im MRT untersuchten Patienten ausgewertet.

Von den untersuchten Biopsien war knapp ein Drittel negativ, ein weiteres Drittel wurde als grenzwertig eingestuft und ein Drittel positiv gewertet. Fasst man grenzwertige und positive Biopsien zusammen haben 26 der 37 Patienten (70%) mit klinischem Verdacht auf eine Myokarditis tatsächlich auch die Bestätigung der Diagnose durch die Biopsie erhalten. Diskutiert werden darf darüber, inwieweit die bekannten Limitationen der Methode Anteil an dieser Zahl haben und wie hoch der Prozentsatz der Patienten ist, die tatsächlich keine Myokarditis haben obwohl entsprechende klinische Symptome die Erkrankung wahrscheinlich machen.

### **4.4.1 *sampling error***

Zu den Grenzen der Methodik an sich zählt der sog. *sampling error* der besagt, dass Patienten die eine fleckförmige oder lokal begrenzte Entzündungsreaktion im Myokard aufweisen, nicht in der Biopsie erfasst werden, da an anderer Stelle biopsiert wurde. (Hauck, Kearney, & Edwards, 1989) (Feldman, 2000) (Yilmaz et al., 2013)

Diese Theorie wird dadurch unterstützt, dass bei acht der elf Patienten ohne Inflammationsnachweis in der Biopsie, pathologische T2 Werte im Mapping dokumentiert werden konnten. Bei der Hälfte der Patienten (55%) wurde LGE nachgewiesen und bei sieben

Patienten (64%) konnten Auffälligkeiten im T2w Imaging beschrieben werden. Diese Zahlen belegen, dass trotz der negativen Biopsie Befunde davon ausgegangen werden kann, dass dennoch pathologische Vorgänge im Myokard ablaufen die mit Hilfe der unterschiedlichen Gewebekriterien in der MRT Untersuchung identifiziert werden können. Nur bei zwei der elf Patienten die keinen Inflammationsnachweis in der Biopsie aufwiesen wurde keine Auffälligkeit im Sinne eines pathologischen Vorgangs dokumentiert. Daher kann angenommen werden, dass die Methodik der EMB entweder aufgrund des *sampling errors* oder durch andere Ursachen bedingt, bei knapp einem Fünftel der klinisch und bildgebend auffälligen Patienten keine Erkrankung diagnostizieren konnte.

Die hohe Diskrepanz zwischen den Patienten mit negativem Biopsie Befund, aber hochgradigem Krankheitsverdacht nach CMR Kriterien kann zum Teil dadurch erklärt werden, dass die Biopsien aus dem rechtsventrikulären Septum entnommen wurden, wohingegen im MRT beide Ventrikel und hinsichtlich des T2 Mapping nur der linke Ventrikel untersucht worden sind. Dadurch lässt sich ggf. ein Teil der erwähnten Differenz erklären. In diesem Zusammenhang muss beachtet werden, dass bei 96% der Patienten mit positivem Biopsie Befund auch bildgebungstechnisch eine Myokarditis in der Untersuchung bestätigt wurde.

#### **4.4.2 Konkordanz von Biopsie und T2 Mapping**

Ungeachtet der oben aufgeführten Ergebnisse, wurden die 26 Patienten mit grenzwertigem und positivem Biopsie Resultat als Referenz für die Beurteilung der verschiedenen CMR Parameter gewählt. (Leone et al., 2012) Durch die definierten T2 Mapping Kriterien (Fläche mit T2 Zeit über 80 ms) konnten 24 der 26 Patienten (92.3%) als krank identifiziert werden. Die hohe Übereinstimmung von Biopsie Befunden und den Ergebnissen der MRT Untersuchungen legt nahe, dass mittels T2 Mapping ein im Rahmen einer Myokarditis entstandenes Ödem detektiert werden kann. Vielmehr zeigen die Werte, dass das T2 Mapping ein hochempfindliches Verfahren ist um eine myokardiale Entzündung nachzuweisen. Erhöhte Zellzahlen in den Biopsien gingen mit erhöhten T2 Werten im Mapping Verfahren einher. So wiesen Patienten mit positiver EMB und dementsprechend hohem Aufkommen von inflammatorischen Zellen signifikant höhere T2 Werte auf, als Patienten mit grenzwertiger und negativer EMB. Diese Tatsache deutet zudem einen Zusammenhang zwischen der Stärke des durch die Erkrankung bedingten Zellschadens und der Höhe der T2 Werte an. Sollte sich dieser Zusammenhang durch weitere Studien noch deutlicher darstellen lassen, wäre ggf. eine Quantifizierung des myokardialen Gewebes Schadens nicht-invasiv mittels CMR Bildgebung möglich. Dementsprechend könnte auch eine mögliche Relevanz erhöhter myokardialer T2

Werte auf die Prognose der Patienten zum Vorschein kommen, was sowohl eine Risikostratifizierung als auch eine zielgerichtete individuelle Therapie ermöglichen könnte.

#### **4.5 Evaluation der Sensitivität und Spezifität von T2 Mapping in der Myokarditis Diagnostik**

In ROC Analysen wurde die Präzision der T2 Mapping Sequenz in der Diagnosestellung einer Myokarditis bei gegebenem Patientengut untersucht. Die Grundlage für die Bewertung stellten die 26 Patienten mit positivem Entzündungsnachweis in der Biopsie dar.

Gewünscht war eine Spezifität von mindestens 90%, sodass letztendlich maximal 10 von 100 untersuchten Patienten mit der Diagnose Myokarditis im T2 Mapping falsch positiv diagnostiziert werden. Untersucht wurde zuerst die Bedeutung der globalen T2 Zeit. Hierbei stellte sich heraus, dass ein als *cut-off* definierter Wert von 65.3 ms mit einer Sensitivität von 81% und einer Spezifität von 90% eine biotisch gesicherte Myokarditis bestätigen kann. Um eine noch sensitivere Diagnostik zu ermöglichen, wurde das von der Entzündung betroffene Myokardareal quantifiziert. Durch diese Methodik wurden 24 von 26 Patienten (92%) die in der EMB eine Myokarditis aufwiesen, ebenfalls im T2 Mapping als krank erkannt.

Anschließend wurden die an den biotisch gesicherten Myokarditiden validierte Methodik auf Patienten mit klinisch wahrscheinlicher akuter Myokarditis übertragen. Fraglich war, in wie fern auch Patienten bei denen aus unterschiedlichen Gründen keine EMB durchgeführt wurde durch das T2 Mapping als krank erkannt wurden. Es zeigte sich, dass mit dem selben Schwellenwert von 65.3 ms 58.3% der Patienten mit klinischem Verdacht auf eine Myokarditis nach definierten Kriterien auch eine Myokarditis im MRT zeigten.

Bohnen et al. untersuchten ein ähnliches Patientengut in ihrer Studie. Dabei wurden vergleichbare T2 Werte für das gesunde wie auch das entzündete Myokard beschrieben, wie in der hier vorliegenden Arbeit (Patienten mit aktiver Myokarditis in der EMB: 65 ms; Patienten ohne aktive Myokarditis in der EMB: 59 ms). Die ROC Analyse ergab bei einem definierten Schwellenwert von 60 ms eine Sensitivität von 94% bei einer Spezifität von lediglich 60%. (Bohnen et al., 2015) Streiten lässt sich darüber welche klinische Relevanz eine Untersuchungsmethode hat, die fast jeden zweiten Patienten fälschlicherweise als krank identifiziert. Weiter lässt die geringe Zahl der in die Studie eingeschlossenen Patienten, die Ergebnisse der Studie fraglich erscheinen. Auch der gewählte Schwellenwert von 60 ms erscheint in diesem Zusammenhang wenig sinnvoll. Bei einer T2 Zeit von 59 ms im gesunden Myokard unter Beachtung der physiologischen Variabilität der T2 Werte, kann der Betrachter

eine Differenzierung zwischen gesundem und erkranktem Myokard nicht als realistisch wahrnehmen. Dies wird dadurch verstärkt, dass die Methode nur bei bioptisch diagnostizierten Myokarditiden Anwendung gefunden hat. Eine Ausweitung auf ein breiteres Patientenspektrum mit ggf. weniger ausgeprägter klinischer Präsentation, würde die Spezifität wahrscheinlich weiter reduzieren und auch die Sensitivität einschränken.

Die Quantifizierung des inflammatorischen Myokardareals in unserer Arbeit ermöglicht eine ebenso sensitive Diagnosestellung bei gleichzeitig sehr guter Spezifität bei Patienten mit bioptisch nachgewiesener Myokarditis. Auch in der Kohorte mit klinisch wahrscheinlicher Myokarditis erlaubte das Verfahren eine überaus sensitive und spezifische Diagnostik. Doch auch der gewählte *cut-off* von 65.3 ms für die globale T2 Zeit erzielt mit der erwähnten Sensitivität von 81% bei den bioptisch nachgewiesenen Myokarditiden und einer auf 90% definierten Spezifität für den klinischen Alltag gebräuchliche Werte.

## **4.6 Gegenüberstellung von T2 Mapping und den konventionellen MRT Verfahren im Rahmen der Diagnostik**

### **4.6.1 Übereinstimmung von LGE und T2 Mapping**

Der Vergleich der T2 Zeiten von Patienten mit und ohne LGE zeigt, dass Patienten mit LGE höhere T2 Werte aufwiesen. Zusätzlich war die Fläche über dem *cut-off* 80 ms bei Patienten mit LGE Nachweis erhöht.

92% der Patienten bei denen eine späte KM Anreicherung (LGE) festgestellt werden konnte, zeigten ebenfalls pathologisch erhöhte Werte in der T2 Map. Ferner konnten bei 13 der 20 Patienten ohne LGE Nachweis erhöhte T2 Zeiten detektiert werden. Die Tatsache, dass dennoch 13 Patienten ohne LGE einen Myokarditis Nachweis im T2 Mapping erhielten, kann durch das gewählte Patientengut erklärt werden. Da sich Gadolinium in Bereichen des Herzen anlagert in denen das interstitielle Verteilungsvolumen vergrößert ist, wird eine Anreicherung vor allem bei längeren Krankheitsverläufen beobachtet, bei denen sich Fibrose bzw. Narbengewebe gebildet hat. Auch beim Myokardinfarkt korreliert die Größe der myokardialen Narbe mit der angereicherten KM Menge. (Arai, 2011)

Da in der vorliegenden Studie hauptsächlich Patienten eingeschlossen wurden die Krankheitssymptome von weniger als 14 Tagen aufwiesen, wurde ein höchst akuter Krankheitszustand untersucht. Aus diesem Grund waren in dieser Krankheitsphase die pathophysiologischen Grundlagen zur Anreicherung des KM (irreversible Myozytennekrose, Fibrosebildung) teils nicht gegeben.

Die Ergebnisse führen zudem zu der Überlegung, dass die räumliche Auflösung der LGE Sequenz ( $1.5 \times 1.7 \times 10 \text{ mm}^3$ ) zu gering war oder die fokale myokardiale Zellschädigung nicht ausreichend war, um in der Bildgebung mit den bisherigen Verfahren detektiert zu werden. Neuere Methoden wie das T1 oder T2 Mapping sind nun in der Lage auch solche Areale mit wenigen Zellnekrosen zu erkennen. Außerdem stärken die Ergebnisse die bereits aufgestellte Überlegung, dass die Erkrankung ein anfangs lokaler Prozess ist, der nur durch sehr sensitive Verfahren erkannt werden kann und in einer späteren Krankheitsphase zu größerem Zellschaden und zur globalen Ausbreitung auf das Myokard führt. Ferreira et al. stellten ähnliche Überlegungen in ihrer Arbeit auf. (Ferreira et al., 2014)

#### **4.6.2 Limitationen von T2w Imaging**

In der vorliegenden Studie wurden mittels T2w Imaging zwei Drittel der Patienten als krank identifiziert, bei einer Spezifität von 93%. Diese Werte sind vergleichbar mit Ergebnissen aus anderen Studien, die der Methode eine Sensitivität von 45 bis 70% bescheinigen. (Ferreira et al., 2013) (Radunski et al., 2014) (Ferreira et al., 2014)

Dennoch werden in der Literatur zahlreiche Faktoren aufgezählt, die für eine hohe Artefaktanfälligkeit des Verfahrens verantwortlich sind und den Einsatzbereich der Methode schmälern. Hier sind zu nennen: i) phasenbedingte Spulen-Artefakte, die eine große Variabilität der Signalintensität bedingen ii) hohe Signalintensitäten von stehendem Blut im Ventrikel, dass sich auf die endokardialen Regionen auswirkt iii) Signalintensitätsverlust durch *through plane motion* iv) große interindividuelle Variationsbreite der T2 Werte bedingt durch individuell gewählte Sequenzparameter (Schichtdicke, Echoanzahl) v) Bewegungsartefakte durch Arrhythmie und Atmung. (Giri et al., 2009) (Eitel & Friedrich, 2011) (Thavendiranathan et al., 2012)

Thavendiranathan et al. konnten in ihrer Studie nur knapp die Hälfte (47%) der erfassten T2W-STIR Bilder auswerten, da die restlichen Bilder artefaktbedingt nicht auszuwerten waren. In unserer Studie konnten lediglich 2 der 52 untersuchten Bilder (4%) aufgrund von Artefakten nicht ausgewertet werden.

Auch die verhältnismäßig gute diagnostische Genauigkeit (*accuracy* 81%) verglichen mit den Ergebnissen anderer Studien ist auffällig. Begründet werden kann dies damit, dass Patienten mit sehr akutem Krankheitsverlauf untersucht wurden. In diesem Stadium der Erkrankung sind Ödeme im Myokard deutlich häufiger zu dokumentieren als im chronischen Krankheitsverlauf.

Gleichzeitig unterstützt wird die Überlegung dadurch, dass lediglich die Hälfte der Patienten (51.5%) mit positivem T2w Imaging gleichzeitig LGE in den entsprechenden myokardialen

Anteilen aufwies. LGE wird vor allem im Fibrosen- und Narbengewebe beobachtet und daher vermehrt im späteren Krankheitsverlauf der Erkrankung dokumentiert.

#### **4.6.3 Erhöhte Sensitivität durch Kombination verschiedener CMR Kriterien**

Die Auswertung der Sensitivität und Spezifität der drei untersuchten CMR Parameter lässt vermuten, dass eine Kombination verschiedener CMR Sequenzen die höchsten diagnostischen Werte erzielt. Die Ergebnisse der einzelnen Sequenzen für die *accuracy* lagen bei 81% (T2w Imaging), 83% (LGE) und 88% (T2 Mapping). Die Kombinationen aus T2w Imaging und LGE (*accuracy* 91%), T2w Imaging und T2 Mapping (*accuracy* 90%) und aus allen drei Verfahren (T2w Imaging, LGE und T2 Mapping; *accuracy* 93%) erzielten die besten Werte. Daraus kann gefolgert werden, dass in der klinischen Routine stets eine Kombination verschiedener Verfahren zum Einsatz kommen sollte.

Als ursächlich für die Ergebnisse muss berücksichtigt werden, dass die drei Verfahren jeweils unterschiedliche Gewebekriterien untersuchen denen verschiedene pathophysiologische Zusammenhänge zugrunde liegen. Diese kommen teils in unterschiedlichen Stadien der Erkrankung zum Vorschein. Auch wenn in der Studie versucht wurde nur Patienten mit akuter Symptomatik einzubeziehen, befanden sich nicht alle Patienten im gleichen Krankheitsstadium und nicht alle erfuhren einen besonders schweren Krankheitsverlauf. Gerade aus diesen Gründen macht es Sinn verschiedene Methoden zur Diagnosesicherung heranzuziehen, die jeweils unterschiedliche Mechanismen zur Detektion nutzen und so ein möglichst großes Patientenspektrum erfassen.

#### **4.6.4 Klinische Relevanz der Lake-Louise Kriterien**

Auch die 2008 definierten LLC propagieren einen kombinierten Ansatz aus verschiedenen Gewebekriterien zur Diagnostik der Erkrankung. (Kramer, Barkhausen, Flamm, Kim, & Nagel, 2008) Dieser erziele eine *accuracy* von 78%. Auch wenn andere Studien deutlich bessere Werte publizieren muss berücksichtigt werden, dass dies häufig auf dem Boden einer geringeren Spezifität erkaufte wurde. Eine viel wichtigere Rolle spielt in diesem Zusammenhang der Einfluss der Patientenselektion, der maßgeblich die diagnostischen Werte beeinflussen kann. (Matthias G Friedrich et al., 2009)

Ungeachtet dessen fordern zahlreiche Autoren eine Kombination aus verschiedenen Sequenzen zur Myokarditis Diagnostik im CMR. Radunski et al. schreiben in ihrer Studie, dass eine Kombination aus LGE und *extra volume imaging* (ECV) deutlich bessere Werte erziele, als die ebenfalls untersuchten LLC (Sensitivität LGE und *extra volume imaging*: 94%; Sensitivität LLC 84%). (Radunski et al., 2014)

Lurz et al. schreiben den LLC die besten diagnostischen Werte zu verglichen mit denen einzelner Verfahren. In ihrer Arbeit werden Patienten abhängig von der Symptombdauer in zwei Gruppen eingeteilt. Patienten mit Beschwerden von weniger als 14 Tagen werden durch die CMR Untersuchung häufiger als krank identifiziert, als Patienten mit länger bestehenden Krankheitssymptomen. (Lurz, Eitel, Adam, Steiner, Grothoff, Desch, Fuernau, De Waha, et al., 2012) Hierdurch werden zwei Dinge verdeutlicht: Zum einen wird dargelegt, dass die Patientenselektion maßgeblichen Einfluss auf die diagnostische Wertigkeit des CMR besitzt. Zum anderen erkennt ein kombinierter Ansatz im CMR die meisten an Myokarditis erkrankten Patienten was den Nutzen der oben genannten Kriterien stärkt. Gleichzeitig wird gerade in dieser Studie die Notwendigkeit nach einer Auswahl von verschiedenen CMR Parametern illustriert, da unterschiedliche Pathologien in Abhängigkeit vom Krankheitsstadium und Grad die Grundlage für die Bildgebung darstellen und die Verfahren individuell in der Lage sind diese einzelnen pathologischen Vorgänge im Gewebe aufzudecken.

Betrachtet man die Studie von Francone et al. wird verständlich, dass die Sensitivität der CMR Verfahren von der klinischen Präsentation und dem Ausmaß der Zellnekrosen in der EMB abhängig ist. Dies unterstützt die oben angeführten Überlegungen. (Francone et al., 2014a) Weitere Studien belegen die Rolle und den Nutzen der Lake-Louis Kriterien als „Goldstandard“ der Myokarditis Diagnostik im MRT. (Abdel-Aty et al., 2005) (Gutberlet et al., 2008)

## 4.6 Limitationen der Studie

Die vorliegende Arbeit enthält einige Limitationen, die bei der Interpretation der Ergebnisse Berücksichtigung finden sollten.

Die von uns untersuchte Patientenkohorte umfasst Patienten mit akuter Myokarditis, die einen Krankheitsverlauf von unter 14 Tagen aufweisen. Patienten mit längerem Krankheitsverlauf über Wochen und Monate, wurden in der Studie nicht berücksichtigt. Daher muss bedacht werden, dass diese Ergebnisse zum T2 Mapping letztendlich für Patienten mit einem akuten Krankheitsgeschehen gelten. Inwieweit auch Patienten mit chronischen Myokarditis oder einer DCM ein myokardiales Ödem aufweisen, muss in weiteren Studien Beachtung finden.

Ein weiterer Kritikpunkt der Arbeit mag darin liegen, dass lediglich die Myokardbiopsien von 37 Patienten ausgewertet wurden. Die anderen Patienten lehnten die Untersuchung ab oder es bestand nicht die Indikation für einen derartig invasiven Eingriff. Diese geringe Anzahl an Untersuchungen mag die Wertigkeit der Ergebnisse schmälern, dennoch wurden Resultate auf signifikantem Niveau erzielt. Verglichen mit vielen anderen Studien, die zum Teil keine oder nur sehr wenige Patienten mit Myokardbiopsie eingeschlossen haben ist diese „geringe“ Zahl daher relativ zu werten.

Ein weiterer zu berücksichtigender Punkt ist die Tatsache, dass die Biopsien histologisch nicht nach den *Dallas*-Kriterien ausgewertet wurden. Die Gründe hierfür wurden in der Arbeit herausgearbeitet. Dennoch sollte der Sachverhalt an dieser Stelle erwähnt werden. Zur immunhistochemischen Auswertung der Biopsien fanden die erweiterten Kriterien von Maisch Anwendung.

Zudem darf nicht vernachlässigt werden, dass in der MRT Untersuchung (T2 Mapping) der linke Ventrikel untersucht wurde. Im Gegensatz dazu wurden die Biopsien aus dem rechtsventrikulären Septum entnommen. Hierdurch kann der bereits erwähnte *sampling error* vergrößert werden und die Ergebnisse womöglich verzerrt. Da die Auflösung der T2 Mapping Sequenz für die Auswertung des rechten Ventrikels zu gering ist, konnte die Untersuchung des rechtsventrikulären Myokards keinerlei Berücksichtigung finden. Dennoch ist dieses Vorgehen wird der Literatur häufig beschrieben.

## V. Schlussfolgerungen

„*Inflammation of the heart muscle*“ lautet die einfache Definition der Myokarditis, doch die vielfältige klinische Präsentation der Patienten ist ursächlich für die häufig schwierige Diagnosestellung.

Die bemerkenswerten Fortschritte in der MRT Bildgebung der letzten Jahre haben die Diagnostik der Myokarditis in zahlreichen Zentren revolutioniert. Die Untersuchung vereint die quantitative Bewertung der Herzfunktion mit der Darstellung von pathologischen Gewebewirgängen im Myokard. T2 Mapping und weitere neuartige Verfahren erlauben einen nicht-invasiven Einblick in die Struktur des Myokards, wie es bisher nur durch die EMB möglich war. Trotz der in Studien vielfach nachgewiesenen diagnostischen Wertigkeit der Sequenzen wird in der Literatur häufig Kritik geübt, sodass weiterhin nach neuen diagnostischen Verfahren gesucht werde. (Raman & Siddiqui, 2014)

In der vorliegenden Arbeit wurde eine neue T2 Mapping Sequenz untersucht. Zur Klärung der pathophysiologischen und physikalischen Grundlagen konnte in *ex-vivo* Phantomexperimenten eine Korrelation zwischen T2 Zeit und dem Wassergehalt im Gewebe nachgewiesen werden.

In einem großen Studienkollektiv (n=124) wurde die T2 Zeit im Mapping validiert und Faktoren identifiziert (Alter, Geschlecht) mit Einfluss auf die T2 Zeit. Die Quantifizierung des inflammatorischen Myokards anhand eines gewählten T2 Zeit *cut-offs* erlaubt die sichere Erkennung der an Myokarditis erkrankten Patienten. Durchgeführte ROC Analysen belegen die gute diagnostische Leitungsfähigkeit der Sequenz, validiert am Goldstandard EMB. Vielmehr noch konnte dargelegt werden, dass mittels T2 Mapping die Sensitivität in der MRT-basierten Myokarditis Diagnostik gesteigert werden konnte.

Weitere Studien müssen in Zukunft zeigen, ob sich die Sequenz auch für Patienten in anderen Krankheitsstadien (subakuter, chronischer Verlauf) eignet und ob Patienten mit ähnlichen Krankheiten (DCM) ebenfalls profitieren können. Zudem muss ein möglicher prognostischer Nutzen evaluiert und die therapeutische Konsequenz einer pathologischen T2 Map im klinischen Alltag validiert werden.

Um eine mögliche prognostische Relevanz erhöhter T2 Mapping Werte für den weiteren Krankheitsverlauf zu beurteilen, führt unsere Arbeitsgruppe eine Folgestudie durch. Patienten mit akuter Myokarditis werden in einer prospektiven Beobachtungsstudie nach einem

definiertem Zeitraum erneut im MRT untersucht, um das Verhalten der T2 Werte im Myokard nach Abheilung longitudinal zu beobachten. Gleichzeitig möchten wir untersuchen ob eine anfangs gesteigerte T2 Zeit mit einem schlechten Krankheitsverlauf korreliert, umso Risikopatienten in Zukunft frühstmöglich zu diagnostizieren und ihnen eine optimale Therapie zu ermöglichen.

## VI. Literaturverzeichnis

- Abdel-Aty, H., Boyé, P., Zagrosek, A., Wassmuth, R., Kumar, A., Messroghli, D., ... Schulz-Menger, J. (2005). Diagnostic performance of cardiovascular magnetic resonance in patients with suspected acute myocarditis: comparison of different approaches. *Journal of the American College of Cardiology*, 45(11), 1815–22.
- Accordino, M. K., Neugut, A. I., & Hershman, D. L. (2014). Cardiac effects of anticancer therapy in the elderly. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 32(24), 2654–61.
- Afonso, L., Hari, P., Pidlaon, V., Kondur, A., Jacob, S., & Khetarpal, V. (2010). Acute myocarditis: can novel echocardiographic techniques assist with diagnosis? *European Journal of Echocardiography : The Journal of the Working Group on Echocardiography of the European Society of Cardiology*, 11(3), E5.
- Ammann, P., Naegeli, B., Schuiki, E., Straumann, E., Frielingsdorf, J., Rickli, H., & Bertel, O. (2003). Long-term outcome of acute myocarditis is independent of cardiac enzyme release. *International Journal of Cardiology*, 89(2–3), 217–222.
- Andréoletti, L., Lévêque, N., Boulagnon, C., Brasselet, C., & Fornes, P. (2009). Viral causes of human myocarditis. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 102(6–7), 559–68.
- Angelini, A., Calzolari, V., Calabrese, F., Boffa, G. M., Maddalena, F., Chioin, R., & Thiene, G. (2000). Myocarditis mimicking acute myocardial infarction: role of endomyocardial biopsy in the differential diagnosis. *Heart (British Cardiac Society)*, 84(3), 245–50.
- Anzini, M., Merlo, M., Sabbadini, G., Barbati, G., Finocchiaro, G., Salvi, A., Bartunek, J. (2013). Long-Term Evolution and Prognostic Stratification of Biopsy-Proven Active Myocarditis. *Circulation*, 128(22):2384–2394.
- Arai, A. E. (2011). Magnetic resonance imaging for area at risk, myocardial infarction, and myocardial salvage. *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*, 16, 313–320.
- Badorff, C., Lee, G. H., Lamphear, B. J., Martone, M. E., Campbell, K. P., Rhoads, R. E., & Knowlton, K. U. (1999). Enteroviral protease 2A cleaves dystrophin: evidence of cytoskeletal disruption in an acquired cardiomyopathy. *Nature Medicine*, 5(3), 320–6.
- Baeßler, B., Schaarschmidt, F., Stehning, C., Schnackenburg, B., Maintz, D., & Bunck, A. C. (2015). A systematic evaluation of three different cardiac T2-mapping sequences at 1.5 and 3T in healthy volunteers. *European Journal of Radiology*.
- Basso, C. (2001). Postmortem diagnosis in sudden cardiac death victims: macroscopic, microscopic and molecular findings. *Cardiovascular Research*, 50(2), 290–300.
- Bergelson, J. M. (1997). Isolation of a Common Receptor for Coxsackie B Viruses and Adenoviruses 2 and 5. *Science*, 275(5304), 1320–1323.
- Billingham, M. E., & Tazelaar, H. D. (1986). The morphological progression of viral myocarditis. *Postgraduate Medical Journal*, 62(728), 581–4.
- Blauwet, L. A., & Cooper, L. T. (2010). Myocarditis. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 52(4), 274–88.
- Bohnen, S., Radunski, U. K., Lund, G. K., Kandolf, R., Stehning, C., Schnackenburg, B., ... Muellerleile, K. (2015). Performance of T1 and T2 Mapping Cardiovascular Magnetic

- Resonance to Detect Active Myocarditis in Patients With Recent-Onset Heart Failure. *Circulation: Cardiovascular Imaging*, 8(6), e003073–e003073.
- Bönnner, F., Janzarik, N., Jacoby, C., Spieker, M., Schnackenburg, B., Range, F., ... Kelm, M. (2015). Myocardial T2 mapping reveals age- and sex-related differences in volunteers. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance : Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*, 17(1), 9.
- Bonney, K. M. (2014). Chagas disease in the 21st century: a public health success or an emerging threat? *Parasite (Paris, France)*, 21, 11.
- Bonney, K. M., & Engman, D. M. (2015). Autoimmune Pathogenesis of Chagas Heart Disease: Looking Back, Looking Ahead. *The American Journal of Pathology*.
- Braunwald, E. (2013). Heart failure. *JACC. Heart Failure*, 1(1), 1–20.
- Caforio, A. L., Mahon, N. J., & McKenna, W. J. (2001). Cardiac autoantibodies to myosin and other heart-specific autoantigens in myocarditis and dilated cardiomyopathy. *Autoimmunity*, 34(3), 199–204.
- Caforio, A. L. P., Calabrese, F., Angelini, A., Tona, F., Vinci, A., Bottaro, S., ... Daliento, L. (2007). A prospective study of biopsy-proven myocarditis: prognostic relevance of clinical and aetiopathogenetic features at diagnosis. *European Heart Journal*, 28(11), 1326–33.
- Caforio, A. L. P., Mahon, N. J., Tona, F., & McKenna, W. J. (2002). Circulating cardiac autoantibodies in dilated cardiomyopathy and myocarditis: pathogenetic and clinical significance. *European Journal of Heart Failure*, 4(4), 411–417.
- Caforio, A. L. P., Pankuweit, S., Arbustini, E., Basso, C., Gimeno-Blanes, J., Felix, S. B., ... Elliott, P. M. (2013). Current state of knowledge on aetiology, diagnosis, management, and therapy of myocarditis: A position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *European Heart Journal*, 34, 2636–2648.
- Calabrese, F., Carturan, E., & Thiene, G. (2010). Cardiac infections: focus on molecular diagnosis. *Cardiovascular Pathology : The Official Journal of the Society for Cardiovascular Pathology*, 19(3), 171–82.
- Cappola, T. P. (2002). Pulmonary Hypertension and Risk of Death in Cardiomyopathy: Patients With Myocarditis Are at Higher Risk. *Circulation*, 105(14), 1663–1668.
- Carniel, E., Sinagra, G., Bussani, R., Di Lenarda, A., Pinamonti, B., Lardieri, G., & Silvestri, F. (2004). Fatal myocarditis: morphologic and clinical features. *Italian Heart Journal : Official Journal of the Italian Federation of Cardiology*, 5(9), 702–6.
- Cassimatis, D. C., Atwood, J. E., Engler, R. M., Linz, P. E., Grabenstein, J. D., & Vernalis, M. N. (2004). Smallpox vaccination and myopericarditis: a clinical review. *Journal of the American College of Cardiology*, 43(9), 1503–10.
- Cerqueira, M. D., Weissman, N. J., Dilsizian, V., Jacobs, A. K., Kaul, S., Laskey, W. K., ... Verani, M. S. (2002). Standardized myocardial segmentation and nomenclature for tomographic imaging of the heart. A statement for healthcare professionals from the Cardiac Imaging Committee of the Council on Clinical Cardiology of the American Heart Association. *Circulation*, 105(4), 539–42.
- Chen, Y.-S., & Yu, H.-Y. (2005). Choice of mechanical support for fulminant myocarditis: ECMO vs. VAD? *European Journal of Cardio-Thoracic Surgery : Official Journal of the European Association for Cardio-Thoracic Surgery*, 27(5), 931–2; author reply 932.

- Chu, G. C. W., Flewitt, J. A., Mikami, Y., Vermes, E., & Friedrich, M. G. (2013). Assessment of acute myocarditis by cardiovascular MR: diagnostic performance of shortened protocols. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*, 29(5), 1077–83.
- Cooper, L. T., Baughman, K. L., Feldman, A. M., Frustaci, A., Jessup, M., Kuhl, U., ... Virmani, R. (2007). The Role of Endomyocardial Biopsy in the Management of Cardiovascular Disease. A Scientific Statement From the American Heart Association, the American College of Cardiology, and the European Society of Cardiology Endorsed by the Heart Failure Society of . *Journal of the American College of Cardiology*, 50(19), 1914–1931.
- Cooper, L. T., Hare, J. M., Tazelaar, H. D., Edwards, W. D., Starling, R. C., Deng, M. C., ... Dec, G. W. (2008). Usefulness of immunosuppression for giant cell myocarditis. *The American Journal of Cardiology*, 102(11), 1535–9.
- D'Ambrosio, A., Patti, G., Manzoli, A., Sinagra, G., Di Lenarda, A., Silvestri, F., & Di Sciascio, G. (2001). The fate of acute myocarditis between spontaneous improvement and evolution to dilated cardiomyopathy: a review. *Heart (British Cardiac Society)*, 85(5), 499–504.
- De Cobelli, F., Pieroni, M., Esposito, A., Chimenti, C., Belloni, E., Mellone, R., ... Del Maschio, A. (2006). Delayed gadolinium-enhanced cardiac magnetic resonance in patients with chronic myocarditis presenting with heart failure or recurrent arrhythmias. *Journal of the American College of Cardiology*, 47(8), 1649–54.
- Dec, G. W., & Fuster, V. (1994). Idiopathic dilated cardiomyopathy. *The New England Journal of Medicine*, 331(23), 1564–75.
- Dennert, R., Crijns, H. J., & Heymans, S. (2008). Acute viral myocarditis. *European Heart Journal*, 29(17), 2073–82.
- Dennert, R., Velthuis, S., Westermann, D., Donker, D., Schalla, S., van Suylen, R.-J., & Heymans, S. (2010). Parvovirus-B19-associated fulminant myocarditis successfully treated with immunosuppressive and antiviral therapy. *Antiviral Therapy*, 15(4), 681–5.
- Di Bella, G., Coglitore, S., Zimbalatti, C., Minutoli, F., Zito, C., Patane', S., & Carerj, S. (2008). Strain Doppler echocardiography can identify longitudinal myocardial dysfunction derived from edema in acute myocarditis. *International Journal of Cardiology*, 126(2), 279–80.
- Di Bella, G., Florian, A., Oreto, L., Napolitano, C., Todaro, M. C., Donato, R., ... Oreto, G. (2012). Electrocardiographic findings and myocardial damage in acute myocarditis detected by cardiac magnetic resonance. *Clinical Research in Cardiology : Official Journal of the German Cardiac Society*, 101(8), 617–24.
- Dickerson, J. a., Raman, S. V., Baker, P. M., & Leier, C. V. (2013). Relationship of Cardiac Magnetic Resonance Imaging and Myocardial Biopsy in the Evaluation of Nonischemic Cardiomyopathy. *Congestive Heart Failure*, 19(1), 29–38.
- Dilber, E., Karagöz, T., Aytemir, K., Ozer, S., Alehan, D., Oto, A., & Celiker, A. (2003). Acute myocarditis associated with tetanus vaccination. *Mayo Clinic Proceedings*, 78(11), 1431–3.
- Dongaonkar, R. M., Stewart, R. H., Geissler, H. J., & Laine, G. a. (2010). Myocardial microvascular permeability, interstitial oedema, and compromised cardiac function. *Cardiovascular Research*, 87, 331–339.
- Doolan, A., Langlois, N., & Semsarian, C. (2004). Causes of sudden cardiac death in young

- Australians. *The Medical Journal of Australia*, 180(3), 110–2.
- Drory, Y., Turetz, Y., Hiss, Y., Lev, B., Fisman, E. Z., Pines, A., & Kramer, M. R. (1991). Sudden unexpected death in persons less than 40 years of age. *The American Journal of Cardiology*, 68(13), 1388–1392.
- Eckart, R. E. (2004). Sudden Death in Young Adults: A 25-Year Review of Autopsies in Military Recruits. *Annals of Internal Medicine*, 141(11), 829.
- Eitel, I., & Friedrich, M. G. (2011). T2-weighted cardiovascular magnetic resonance in acute cardiac disease. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance : Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*, 13(1), 13.
- Escher, F., Kasner, M., Kühl, U., Heymer, J., Wilkenshoff, U., Tschöpe, C., & Schultheiss, H.-P. (2013). New echocardiographic findings correlate with intramyocardial inflammation in endomyocardial biopsies of patients with acute myocarditis and inflammatory cardiomyopathy. *Mediators of Inflammation*, 2013, 875420.
- Esposito, A., Francone, M., Faletti, R., Centonze, M., Cademartiri, F., Carbone, I., ... De Cobelli, F. (2015). Lights and shadows of cardiac magnetic resonance imaging in acute myocarditis. *Insights into Imaging*, 7(1):99-110.
- Fabre, A., & Sheppard, M. N. (2006). Sudden adult death syndrome and other non-ischaemic causes of sudden cardiac death. *Heart (British Cardiac Society)*, 92(3), 316–20.
- Fallach, R., Shainberg, A., Avlas, O., Fainblut, M., Chepurko, Y., Porat, E., & Hochhauser, E. (2010). Cardiomyocyte Toll-like receptor 4 is involved in heart dysfunction following septic shock or myocardial ischemia. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 48(6), 1236–44.
- Feldman, A. M., McNamara, D. (2000). Myocarditis. *New England Journal of Medicine*, 343(19), 1388-98.
- Fenoglio, J. J., Ursell, P. C., Kellogg, C. F., Drusin, R. E., & Weiss, M. B. (1983). Diagnosis and classification of myocarditis by endomyocardial biopsy. *The New England Journal of Medicine*, 308(1), 12–8.
- Ferreira, V. M., Piechnik, S. K., Dall’Armellina, E., Karamitsos, T. D., Francis, J. M., Ntusi, N., ... Neubauer, S. (2013). T1 Mapping for the diagnosis of acute myocarditis using CMR: Comparison to T2-Weighted and late gadolinium enhanced imaging. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 6(10), 1048–1058.
- Ferreira, V. M., Piechnik, S. K., Dall’Armellina, E., Karamitsos, T. D., Francis, J. M., Ntusi, N., ... Neubauer, S. (2014). Native T1-mapping detects the location, extent and patterns of acute myocarditis without the need for gadolinium contrast agents. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance : Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*, 16(1), 36.
- Francone, M., Chimenti, C., Galea, N., Scopelliti, F., Verardo, R., Galea, R., ... Frustaci, A. (2014). CMR sensitivity varies with clinical presentation and extent of cell necrosis in biopsy-proven acute myocarditis. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 7(3), 254–263.
- Friedrich, M. G. (2010). Myocardial edema--a new clinical entity? *Nature Reviews. Cardiology*, 7(5), 292–6.
- Friedrich, M. G., Sechtem, U., Schulz-Menger, J., Holmvang, G., Alakija, P., Cooper, L. T., Liu, P. (2009). Cardiovascular magnetic resonance in myocarditis: A JACC White Paper. *Journal of the American College of Cardiology*, 53(17), 1475–87.

- Friedrich, M. G., Strohm, O., Schulz-Menger, J., Marciniak, H., Luft, F. C., & Dietz, R. (1998). Contrast Media Enhanced Magnetic Resonance Imaging Visualizes Myocardial Changes in the Course of Viral Myocarditis. *Circulation*, *97*(18), 1802–1809.
- Frustaci, A. (2003). Immunosuppressive Therapy for Active Lymphocytic Myocarditis: Virological and Immunologic Profile of Responders Versus Nonresponders. *Circulation*, *107*(6), 857–863.
- Fuse, K., Kodama, M., Okura, Y., Ito, M., Hirono, S., Kato, K., Aizawa, Y. (2000). Predictors of Disease Course in Patients With Acute Myocarditis. *Circulation*, *102*(23), 2829–2835.
- Fuse, K., Kodama, M., Okura, Y., Ito, M., Kato, K., Hanawa, H., & Aizawa, Y. (2005). Short-term prognostic value of initial serum levels of interleukin-10 in patients with acute myocarditis. *European Journal of Heart Failure*, *7*(1), 109–12.
- Gagliardi, M. G., Bevilacqua, M., Di Renzi, P., Picardo, S., Passariello, R., & Marcelletti, C. (1991). Usefulness of magnetic resonance imaging for diagnosis of acute myocarditis in infants and children, and comparison with endomyocardial biopsy. *The American Journal of Cardiology*, *68*(10), 1089–1091.
- Garcia-Dorado, D., Andres-Villarreal, M., Ruiz-Meana, M., Inserte, J., & Barba, I. (2012). Myocardial edema: A translational view. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, *52*(5), 931–939.
- Garcia-Dorado, D., & Oliveras, J. (1993). Myocardial oedema: a preventable cause of reperfusion injury? *Cardiovascular Research*, *27*(9), 1555–1563.
- Giri, S., Chung, Y.-C., Merchant, A., Mihai, G., Rajagopalan, S., Raman, S. V, & Simonetti, O. P. (2009). T2 quantification for improved detection of myocardial edema. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance : Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*, *11*, 56.
- Giri, S., Shah, S., Xue, H., Chung, Y.-C., Pennell, M. L., Guehring, J., ... Simonetti, O. P. (2012). Myocardial T<sub>2</sub> mapping with respiratory navigator and automatic nonrigid motion correction. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, *68*(5), 1570–8.
- Grün, S., Schumm, J., Greulich, S., Wagner, A., Schneider, S., Bruder, O., ... Mahrholdt, H. (2012). Long-term follow-up of biopsy-proven viral myocarditis: predictors of mortality and incomplete recovery. *Journal of the American College of Cardiology*, *59*(18), 1604–15.
- Gutberlet, M., Spors, B., Thoma, T., Bertram, H., Denecke, T., Felix, R., ... Köhl, U. (2008). Suspected chronic myocarditis at cardiac MR: diagnostic accuracy and association with immunohistologically detected inflammation and viral persistence. *Radiology*, *246*(2), 401–409.
- Hammer-Hansen, S., Ugander, M., Hsu, L.-Y., Taylor, J., Thune, J. J., Køber, L., ... Arai, A. E. (2014). Distinction of salvaged and infarcted myocardium within the ischaemic area-at-risk with T2 mapping. *European Heart Journal Cardiovascular Imaging*, *15*(9), 1048–53.
- Hauck, A. J., Kearney, D. L., & Edwards, W. D. (1989). Evaluation of postmortem endomyocardial biopsy specimens from 38 patients with lymphocytic myocarditis: implications for role of sampling error. *Mayo Clinic Proceedings*, *64*(10), 1235–45.
- Hazlewood, C. F., Chang, D. C., Nichols, B. L., & Woessner, D. E. (1974). Nuclear magnetic

- resonance transverse relaxation times of water protons in skeletal muscle. *Biophysical Journal*, 14(8), 583–606.
- Heidecker, B., Kittleson, M. M., Kasper, E. K., Wittstein, I. S., Champion, H. C., Russell, S. D., ... Hare, J. M. (2011). Transcriptomic biomarkers for the accurate diagnosis of myocarditis. *Circulation*, 123(11), 1174–84.
- Higgins, C. B., Herfkens, R., Lipton, M. J., Sievers, R., Sheldon, P., Kaufman, L., & Crooks, L. E. (1983). Nuclear magnetic resonance imaging of acute myocardial infarction in dogs: alterations in magnetic relaxation times. *The American Journal of Cardiology*, 52(Mi), 184–188.
- Hinojar, R., Foote, L., Arroyo Ucar, E., Jackson, T., Jabbour, A., Yu, C.-Y., ... Puntmann, V. O. (2015). Native T1 in Discrimination of Acute and Convalescent Stages in Patients With Clinical Diagnosis of Myocarditis. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 8, 37–46.
- Holzmann, M., Nicko, A., Kühl, U., Noutsias, M., Poller, W., Hoffmann, W., ... Pauschinger, M. (2008). Complication rate of right ventricular endomyocardial biopsy via the femoral approach: a retrospective and prospective study analyzing 3048 diagnostic procedures over an 11-year period. *Circulation*, 118(17), 1722–8.
- Huang, C.-H., Vallejo, J. G., Kollias, G., & Mann, D. L. (2009). Role of the innate immune system in acute viral myocarditis. *Basic Research in Cardiology*, 104(3), 228–37.
- Huang, T. Y., Liu, Y. J., Stemmer, A., & Poncelet, B. P. (2007). T2 measurement of the human myocardium using a T2-prepared transient-state trueFISP sequence. *Magnetic Resonance in Medicine*, 57, 960–966.
- Hufnagel, G., Pankuweit, S., Richter, A., Schönian, U., & Maisch, B. (2000). The European Study of Epidemiology and Treatment of Cardiac Inflammatory Diseases (ESETCID). First epidemiological results. *Herz*, 25(3), 279–85.
- Izumi, T., & Nishii, M. (2012). Diagnostic and prognostic biomarkers in acute myocarditis. Interleukin-10. *Herz*, 37(6), 627–31.
- Jhamnani, S., Fuisz, A., & Lindsay, J. (2014). The spectrum of electrocardiographic manifestations of acute myocarditis: an expanded understanding. *Journal of Electrocardiology*, 47(6), 941–7.
- Kalimuddin, S., Sessions, O. M., Hou, Y., Ooi, E. E., Sim, D., Cumaraswamy, S., ... Low, C. Y. (2013). Successful clearance of human parainfluenza virus type 2 viraemia with intravenous ribavirin and immunoglobulin in a patient with acute myocarditis. *Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 56(1), 37–40.
- Kandolf, R. (2004). Virus etiology of inflammatory cardiomyopathy. *Deutsche medizinische Wochenschrift (1946)*, 129(41), 2187–92.
- Katus, H. A., Remppis, A., Scheffold, T., Diederich, K. W., & Kuebler, W. (1991). Intracellular compartmentation of cardiac troponin T and its release kinetics in patients with reperfused and nonreperfused myocardial infarction. *The American Journal of Cardiology*, 67(16), 1360–7.
- Katus, H. A., Yasuda, T., Gold, H. K., Leinbach, R. C., Strauss, H. W., Waksmonski, C., ... Khaw, B. A. (1984). Diagnosis of acute myocardial infarction by detection of circulating cardiac myosin light chains. *The American Journal of Cardiology*, 54(8), 964–970.
- Kawai, C. (1999). From Myocarditis to Cardiomyopathy: Mechanisms of Inflammation and Cell Death: Learning From the Past for the Future. *Circulation*, 99(8), 1091–1100.

- Kellman, P., Aletras, A. H., Mancini, C., McVeigh, E. R., & Arai, A. E. (2007). T2-prepared SSFP improves diagnostic confidence in edema imaging in acute myocardial infarction compared to turbo spin echo. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 57(5), 891–7.
- Kim, R. J., Chen, E.-L., Lima, J. A. C., & Judd, R. M. (1996). Myocardial Gd-DTPA Kinetics Determine MRI Contrast Enhancement and Reflect the Extent and Severity of Myocardial Injury After Acute Reperfused Infarction. *Circulation*, 94(12), 3318–3326.
- Kim, R. J., Fieno, D. S., Parrish, T. B., Harris, K., Chen, E.-L., Simonetti, O., ... Judd, R. M. (1999). Relationship of MRI Delayed Contrast Enhancement to Irreversible Injury, Infarct Age, and Contractile Function. *Circulation*, 100(19), 1992–2002.
- Kindermann, I., Barth, C., Mahfoud, F., Ukena, C., Lenski, M., Yilmaz, A., ... Bhm, M. (2012). Update on myocarditis. *Journal of the American College of Cardiology*, 59(9), 779–792.
- Kindermann, I., Kindermann, M., Kandolf, R., Klingel, K., Bültmann, B., Müller, T., ... Böhm, M. (2008). Predictors of outcome in patients with suspected myocarditis. *Circulation*, 118(6), 639–48.
- Klein, C., Nekolla, S. G., Balbach, T., Schnackenburg, B., Nagel, E., Fleck, E., & Schwaiger, M. (2004). The influence of myocardial blood flow and volume of distribution on late Gd-DTPA kinetics in ischemic heart failure. *Journal of Magnetic Resonance Imaging : JMRI*, 20(4), 588–93.
- Kramer, C. M., Barkhausen, J., Flamm, S. D., Kim, R. J., & Nagel, E. (2008). Standardized cardiovascular magnetic resonance imaging (CMR) protocols, society for cardiovascular magnetic resonance: board of trustees task force on standardized protocols. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance : Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*, 10, 35.
- Kuchynka, P., Palecek, T., Hrbáková, H., Vitková, I., Simek, S., Nemecek, E., ... Linhart, A. (2010). Herpes simplex virus-induced cardiomyopathy successfully treated with acyclovir. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 122(19–20), 592–5.
- Kühl, U., Pauschinger, M., Noutsias, M., Seeberg, B., Bock, T., Lassner, D., Schultheiss, H.-P. (2005). High prevalence of viral genomes and multiple viral infections in the myocardium of adults with “idiopathic” left ventricular dysfunction. *Circulation*, 111(7), 887–93.
- Kühl, U., Pauschinger, M., Schwimmbeck, P. L., Seeberg, B., Lober, C., Noutsias, M., ... Schultheiss, H.-P. (2003). Interferon-beta treatment eliminates cardiotropic viruses and improves left ventricular function in patients with myocardial persistence of viral genomes and left ventricular dysfunction. *Circulation*, 107(22), 2793–8.
- Kühl, U., Pauschinger, M., Seeberg, B., Lassner, D., Noutsias, M., Poller, W., & Schultheiss, H.-P. (2005). Viral persistence in the myocardium is associated with progressive cardiac dysfunction. *Circulation*, 112(13), 1965–70.
- Kumar, A., & Bagur, R. (2015). Cardiac magnetic resonance in clinical cardiology. *World Journal of Cardiology*, 7(1), 6–9.
- Kumar, A., Bagur, R., Béliveau, P., Potvin, J.-M., Levesque, P., Fillion, N., ... Gaudreault, V. (2014). Acute myocarditis triggering coronary spasm and mimicking acute myocardial infarction. *World Journal of Cardiology*, 6(9), 1045–8.

- Laine, G. a., & Allen, S. J. (1991). Left ventricular myocardial edema. Lymph flow, interstitial fibrosis, and cardiac function. *Circulation Research*, 68, 1713–1721.
- Lauer, B., Niederau, C., Köhl, U., Schannwell, M., Pauschinger, M., Strauer, B.-E., & Schultheiss, H.-P. (1997). Cardiac Troponin T in Patients With Clinically Suspected Myocarditis. *Journal of the American College of Cardiology*, 30(5), 1354–1359.
- Leone, O., Veinot, J. P., Angelini, A., Baandrup, U. T., Basso, C., Berry, G., ... Winters, G. L. (2012). 2011 Consensus statement on endomyocardial biopsy from the Association for European Cardiovascular Pathology and the Society for Cardiovascular Pathology. *Cardiovascular Pathology*, 21(4), 245–274. h
- Lim, B.-K., & Kim, J. H. (2014). ORI2 inhibits coxsackievirus replication and myocardial inflammation in experimental murine myocarditis. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 37(10), 1650–4.
- Liu, P. P., & Mason, J. W. (2001). Advances in the Understanding of Myocarditis. *Circulation*, 104(9), 1076–1082.
- Lønborg, J., Vejstrup, N., Mathiasen, A. B., Thomsen, C., Jensen, J. S., & Engstrøm, T. (2011). Myocardial area at risk and salvage measured by T2-weighted cardiovascular magnetic resonance: reproducibility and comparison of two T2-weighted protocols. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance : Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*, 13, 50.
- Lurz, P., Eitel, I., Adam, J., Steiner, J., Grothoff, M., Desch, S., ... Thiele, H. (2012). Diagnostic performance of CMR imaging compared with EMB in patients with suspected myocarditis. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 5(5), 513–524.
- Mahfoud, F., Gärtner, B., Kindermann, M., Ukena, C., Gadomski, K., Klingel, K., ... Kindermann, I. (2011). Virus serology in patients with suspected myocarditis: utility or futility? *European Heart Journal*, 32(7), 897–903.
- Mahrholdt, H., Goedecke, C., Wagner, A., Meinhardt, G., Athanasiadis, A., Vogelsberg, H., ... Sechtem, U. (2004). Cardiovascular Magnetic Resonance Assessment of Human Myocarditis: A Comparison to Histology and Molecular Pathology. *Circulation*, 109, 1250–1258.
- Markl, M., Rustogi, R., Galizia, M., Goyal, A., Collins, J., Usman, A., ... Carr, J. (2012). Myocardial T2-mapping and velocity mapping: Changes in regional left ventricular structure and function after heart transplantation. *Magnetic Resonance in Medicine : Official Journal of the Society of Magnetic Resonance in Medicine / Society of Magnetic Resonance in Medicine*, 0, 1–10.
- McCarthy, R. E., Boehmer, J. P., Hruban, R. H., Hutchins, G. M., Kasper, E. K., Hare, J. M., & Baughman, K. L. (2000). Long-term outcome of fulminant myocarditis as compared with acute (nonfulminant) myocarditis. *The New England Journal of Medicine*, 342(10), 690–5.
- McMurray, J. J. V, Adamopoulos, S., Anker, S. D., Auricchio, A., Böhm, M., Dickstein, K., ... Zeiher, A. (2012). ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart. *European Heart Journal*, 33(14), 1787–847.
- Meier, D. (2013). *MRI Grundlagen* (1st ed.). Norderstedt: Books on Demand GmbH.
- Meléndez-Ramírez, G., de Micheli, A., Soto, M. E., Meave-González, A., Kimura-Hayama,

- E., Alcántara, M., & González-Pacheco, H. (2014). Agreement between ST elevation and late enhancement evaluated by MRI in patients with acute myocarditis. *Journal of Electrocardiology*, 47(2), 212–8.
- Mewton, N., Liu, C. Y., Croisille, P., Bluemke, D., & Lima, J. a C. (2011). Assessment of myocardial fibrosis with cardiovascular magnetic resonance. *Journal of the American College of Cardiology*, 57(8), 891–903.
- Naßenstein, K., Nensa, F., Schlosser, T., Bruder, O., Umutlu, L., Lauenstein, T., ... Ladd, M. E. (2014). Cardiac MRI: T2-Mapping Versus T2-Weighted Dark-Blood TSE Imaging for Myocardial Edema Visualization in Acute Myocardial Infarction. *RöFo : Fortschritte Auf Dem Gebiete Der Röntgenstrahlen Und Der Nuklearmedizin*, 186(2), 166–72.
- Neilan, T. G., Farhad, H., Mayrhofer, T., Shah, R. V., Dodson, J. A., Abbasi, S. A., ... Kwong, R. Y. (2015). Late Gadolinium Enhancement Among Survivors of Sudden Cardiac Arrest. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 8(4), 414–423.
- Neumann, D. A., Rose, N. R., Ansari, A. A., & Herskowitz, A. (1994). Induction of multiple heart autoantibodies in mice with coxsackievirus B3- and cardiac myosin-induced autoimmune myocarditis. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 152(1), 343–50.
- Nieminen, M. S., Heikkilä, J., & Karjalainen, J. (1984). Echocardiography in acute infectious myocarditis: Relation to clinical and electrocardiographic findings. *The American Journal of Cardiology*, 53(9), 1331–1337.
- Nishii, M., Inomata, T., Takehana, H., Takeuchi, I., Nakano, H., Koitabashi, T., ... Izumi, T. (2004). Serum levels of interleukin-10 on admission as a prognostic predictor of human fulminant myocarditis. *Journal of the American College of Cardiology*, 44(6), 1292–7.
- Noutsias, M., Pauschinger, M., Schultheiss, H., & Kühl, U. (2002). Phenotypic characterization of infiltrates in dilated cardiomyopathy - diagnostic significance of T-lymphocytes and macrophages in inflammatory cardiomyopathy. *Medical Science Monitor : International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*, 8(7), CR478-87.
- Noutsias, M., Seeberg, B., Schultheiss, H. P., & Kühl, U. (1999). Expression of cell adhesion molecules in dilated cardiomyopathy: evidence for endothelial activation in inflammatory cardiomyopathy. *Circulation*, 99(16), 2124–31.
- Nucifora, G., Miani, D., Di Chiara, A., Piccoli, G., Artico, J., Puppato, M., ... Proclemer, A. (2013). Infarct-like acute myocarditis: relation between electrocardiographic findings and myocardial damage as assessed by cardiac magnetic resonance imaging. *Clinical Cardiology*, 36(3), 146–52.
- Pankuweit, S. (2003). Prevalence of the parvovirus B19 genome in endomyocardial biopsy specimens. *Human Pathology*, 34(5), 497–503.
- Pankuweit, S., Portig, I., Lottspeich, F., & Maisch, B. (1997). Autoantibodies in sera of patients with myocarditis: characterization of the corresponding proteins by isoelectric focusing and N-terminal sequence analysis. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 29(1), 77–84.
- Parrillo, J. E. (2001). Inflammatory Cardiomyopathy (Myocarditis) : Which Patients Should Be Treated With Anti-Inflammatory Therapy? *Circulation*, 104(1), 4–6.
- Pauschinger, M., Knopf, D., Petschauer, S., Doerner, A., Poller, W., Schwimmbeck, P. L., ... Schultheiss, H.-P. (1999). Dilated Cardiomyopathy Is Associated With Significant

- Changes in Collagen Type I/III ratio. *Circulation*, 99(21), 2750–2756.
- Radunski, U. K., Lund, G. K., Stehning, C., Schnackenburg, B., Bohnen, S., Adam, G., ... Muellerleile, K. (2014). CMR in patients with severe myocarditis: Diagnostic value of quantitative tissue markers including extracellular volume imaging. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 7(7), 667–675.
- Raman, S. V., & Siddiqui, Y. (2014). Mapping myocarditis: Still searching for the north star. *JACC: Cardiovascular Imaging*, 7(7), 676–678.
- Remppis, A., Ehlermann, P., Giannitsis, E., Greten, T., Most, P., Müller-Bardorff, M., & Katus, H. A. (2000). Cardiac troponin T levels at 96 hours reflect myocardial infarct size: a pathoanatomical study. *Cardiology*, 93(4), 249–53.
- Röttgen, R., Christiani, R., Freyhardt, P., Gutberlet, M., Schultheiss, H. P., Hamm, B., & Kühl, U. (2011). Magnetic resonance imaging findings in acute myocarditis and correlation with immunohistological parameters. *European Radiology*, 21(6), 1259–66.
- Sarda, L., Colin, P., Boccara, F., Daou, D., Lebtahi, R., Faraggi, M., ... Le Guludec, D. (2001). Myocarditis in patients with clinical presentation of myocardial infarction and normal coronary angiograms. *Journal of the American College of Cardiology*, 37(3), 786–792.
- Schild, H. (2005). *MRI Made Simple*. Berlin/ Bergkamen: Schering AG.
- Schultheiss, H. P., Khl, U., & Cooper, L. T. (2011). The management of myocarditis. *European Heart Journal*, 32, 2616–2625.
- Schwitzer, J., Saeed, M., Wendland, M. F., Derugin, N., Canet, E., Brasch, R. C., & Higgins, C. B. (1997). Influence of Severity of Myocardial Injury on Distribution of Macromolecules: Extravascular Versus Intravascular Gadolinium-Based Magnetic Resonance Contrast Agents. *Journal of the American College of Cardiology*, 30(4), 1086–1094.
- Selinka, H.-C., Wolde, A., Sauter, M., Kandolf, R., & Klingel, K. (2004). Virus-receptor interactions of coxsackie B viruses and their putative influence on cardiotropism. *Medical Microbiology and Immunology*, 193(2–3), 127–31.
- Shafren, D. R., Bates, R. C., Agrez, M. V., Herd, R. L., Burns, G. F., & Barry, R. D. (1995). Coxsackieviruses B1, B3, and B5 use decay accelerating factor as a receptor for cell attachment. *Journal of Virology*, 69(6), 3873–7.
- Shanes, J. G., Ghali, J., Billingham, M. E., Ferrans, V. J., Fenoglio, J. J., Edwards, W. D., ... Furner, S. (1987). Interobserver variability in the pathologic interpretation of endomyocardial biopsy results. *Circulation*, 75(2), 401–5.
- Shanks, M., Ignaszewski, A. P., Chan, S. Y., & Allard, M. F. (2003). Churg-Strauss syndrome with myocarditis manifesting as acute myocardial infarction with cardiogenic shock: case report and review of the literature. *The Canadian Journal of Cardiology*, 19(10), 1184–8.
- Shi, J., Abdelwahid, E., & Wei, L. (2011). Apoptosis in Anthracycline Cardiomyopathy. *Current Pediatric Reviews*, 7(4), 329–336.
- Shi, Y., Chen, C., Lisewski, U., Wrackmeyer, U., Radke, M., Westermann, D., ... Gotthardt, M. (2009). Cardiac deletion of the Coxsackievirus-adenovirus receptor abolishes Coxsackievirus B3 infection and prevents myocarditis in vivo. *Journal of the American College of Cardiology*, 53(14), 1219–26.

- Smith, S. C., Ladenson, J. H., Mason, J. W., & Jaffe, A. S. (1997). Elevations of Cardiac Troponin I Associated With Myocarditis: Experimental and Clinical Correlates. *Circulation*, *95*(1), 163–168.
- Sprinkart, A. M., Luetkens, J. A., Träber, F., Doerner, J., Gieseke, J., Schnackenburg, B., ... Naehle, C. P. (2015). Gradient Spin Echo (GraSE) imaging for fast myocardial T2 mapping. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance : Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*, *17*(1), 12.
- Šramko, M., Kubánek, M., Tintěra, J., Kautznerová, D., Weichet, J., Malušková, J., ... Kautzner, J. (2013). Utility of combination of cardiac magnetic resonance imaging and high-sensitivity cardiac troponin t assay in diagnosis of inflammatory cardiomyopathy. *American Journal of Cardiology*, *111*, 258–264.
- Stein, E. A., Pinkert, S., Becher, P. M., Geisler, A., Zeichhardt, H., Klopffleisch, R., ... Kurreck, J. (2015). Combination of RNA interference and virus receptor trap exerts additive antiviral activity in coxsackievirus B3-induced myocarditis in mice. *The Journal of Infectious Diseases*, *211*(4), 613–22.
- Szalay, G., Sauter, M., Hald, J., Weinzierl, A., Kandolf, R., & Klingel, K. (2006). Sustained nitric oxide synthesis contributes to immunopathology in ongoing myocarditis attributable to interleukin-10 disorders. *The American Journal of Pathology*, *169*(6), 2085–93.
- Thavendiranathan, P., Walls, M., Giri, S., Verhaert, D., Rajagopalan, S., Moore, S., ... Raman, S. V. (2012). Improved detection of myocardial involvement in acute inflammatory cardiomyopathies using T2 mapping. *Circulation: Cardiovascular Imaging*, *5*, 102–110.
- Thiene, G., Bruneval, P., Veinot, J., & Leone, O. (2013). Diagnostic use of the endomyocardial biopsy: a consensus statement. *Virchows Archiv : An International Journal of Pathology*, *463*(1), 1–5.
- Topkara, V. K., Dang, N. C., Barili, F., Martens, T. P., George, I., Cheema, F. H., ... Naka, Y. (2006). Ventricular assist device use for the treatment of acute viral myocarditis. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, *131*(5), 1190–1.
- Towbin, J. A., Lowe, A. M., Colan, S. D., Sleeper, L. A., Orav, E. J., Clunie, S., ... Lipshultz, S. E. (2006). Incidence, causes, and outcomes of dilated cardiomyopathy in children. *JAMA*, *296*(15), 1867–76.
- Ugander, M., Bagi, P. S., Oki, A. J., Chen, B., Hsu, L.-Y., Aletras, A. H., ... Arai, A. E. (2012). Myocardial edema as detected by pre-contrast T1 and T2 CMR delineates area at risk associated with acute myocardial infarction. *JACC. Cardiovascular Imaging*, *5*(6), 596–603.
- Ukena, C., Mahfoud, F., Kindermann, I., Kandolf, R., Kindermann, M., & Böhm, M. (2011). Prognostic electrocardiographic parameters in patients with suspected myocarditis. *European Journal of Heart Failure*, *13*(4), 398–405.
- Verhaert, D., Thavendiranathan, P., Giri, S., Mihai, G., Rajagopalan, S., Simonetti, O. P., & Raman, S. V. (2011). Direct T2 quantification of myocardial edema in acute ischemic injury. *JACC: Cardiovascular Imaging*, *4*(3), 269–278.
- von Knobelsdorff-Brenkenhoff, F., Prothmann, M., Dieringer, M. a, Wassmuth, R., Greiser, A., Schwenke, C., ... Schulz-Menger, J. (2013). Myocardial T1 and T2 mapping at 3 T: reference values, influencing factors and implications. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance : Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic*

*Resonance*, 15(1), 53.

- Wang, K., Asinger, R., & Marriott, H. (2003). ST-segment elevation in conditions other than acute myocardial infarction. *New England Journal of Medicine*, 2128–2135.
- Wassmuth, R., Prothmann, M., Utz, W., Dieringer, M., von Knobelsdorff-Brenkenhoff, F., Greiser, A., & Schulz-Menger, J. (2013). Variability and homogeneity of cardiovascular magnetic resonance myocardial T2-mapping in volunteers compared to patients with edema. *Journal of Cardiovascular Magnetic Resonance : Official Journal of the Society for Cardiovascular Magnetic Resonance*, 15(1), 27.
- Weithauser, A., Bobbert, P., Antoniak, S., Böhm, A., Rauch, B. H., Klingel, K., ... Rauch, U. (2013). Protease-activated receptor-2 regulates the innate immune response to viral infection in a coxsackievirus B3-induced myocarditis. *Journal of the American College of Cardiology*, 62(19), 1737–45.
- Wickham, T. J., Filardo, E. J., Cheresh, D. A., & Nemerow, G. R. (1994). Integrin alpha v beta 5 selectively promotes adenovirus mediated cell membrane permeabilization. *The Journal of Cell Biology*, 127(1), 257–64.
- Xiong, D., Yajima, T., Lim, B.-K., Stenbit, A., Dublin, A., Dalton, N. D., ... Knowlton, K. U. (2007). Inducible cardiac-restricted expression of enteroviral protease 2A is sufficient to induce dilated cardiomyopathy. *Circulation*, 115(1), 94–102.
- Yilmaz, A., Ferreira, V., Klingel, K., Kandolf, R., Neubauer, S., & Sechtem, U. (2013). Role of cardiovascular magnetic resonance imaging (CMR) in the diagnosis of acute and chronic myocarditis. *Heart Failure Reviews*, 18, 747–760.
- Yilmaz, A., Kindermann, I., Kindermann, M., Mahfoud, F., Ukena, C., Athanasiadis, A., ... Sechtem, U. (2010). Comparative evaluation of left and right ventricular endomyocardial biopsy: differences in complication rate and diagnostic performance. *Circulation*, 122(9), 900–9.
- Yoshizawa, S., Kato, T. S., Mancini, D., & Marboe, C. C. (2013). Outcome of patients having heart transplantation for lymphocytic myocarditis. *The American Journal of Cardiology*, 112(3), 405–10.
- Yuen, S., Smith, J., Caruso, L., Balan, M., & Opavsky, M. A. (2011). The coxsackie-adenovirus receptor induces an inflammatory cardiomyopathy independent of viral infection. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 50(5), 826–40.
- Yun, S.-H., Lee, W. G., Kim, Y.-C., Ju, E.-S., Lim, B.-K., Choi, J.-O., ... Jeon, E.-S. (2012). Antiviral activity of coxsackievirus B3 3C protease inhibitor in experimental murine myocarditis. *The Journal of Infectious Diseases*, 205(3), 491–7.
- Zagrosek, A., Abdel-Aty, H., Boyé, P., Wassmuth, R., Messroghli, D., Utz, W., ... Schulz-Menger, J. (2009). Cardiac magnetic resonance monitors reversible and irreversible myocardial injury in myocarditis. *JACC. Cardiovascular Imaging*, 2(2), 131–8.
- Zia, M. I., Ghugre, N. R., Connelly, K. a., Strauss, B. H., Sparkes, J. D., Dick, A. J., & Wright, G. a. (2012). Characterizing myocardial edema and hemorrhage using quantitative t2 and t2\* mapping at multiple time intervals post ST-segment elevation myocardial infarction. *Circulation: Cardiovascular Imaging*, 5, 566–572.

## **Eidesstattliche Versicherung**

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

01.10.2016, Maximilian Claus Spieker

Unterschrift