

# IKDT - Ihr Labordienstleister für kardiale Diagnostik und Therapie

## Medizinische Kompetenz und innovative Diagnostik

Der **Schwerpunkt unserer Arbeit** liegt sowohl auf der Analyse als auch der Interpretation der Analyse von **Herzmuskelbiopsien**, wobei unsere Diagnostik sich auf **4 wichtige Pfeiler** stützt: die 1) Histologie, 2) Immunhistologie, 3) Virologie, und 4) Molekularbiologie.

### 1) Histologie

Die histopathologische Begutachtung der Herzmuskelbiopsien mit Hilfe der Licht- und Fluoreszenzmikroskopie bildet die Grundlage der feingeweblichen mikroskopischen Diagnostik. Die histologischen Untersuchungen von Herzmuskelgewebe erfolgen zur Beurteilung und Quantifizierung morphologischer Veränderungen des Herzgewebes (Myozytenhypertrophie, Fibrose-nachweis), für den Nachweis einer aktiven Myokarditis nach Dallas-Kriterien, oder für den Nachweis von Speichererkrankungen.

Speicherkrankheiten stellen eine wichtige Differentialdiagnose der hypertrophen Kardiomyopathie dar. Sie beschreiben eine Gruppe von systemischen Erkrankungen mit kardialer Manifestation, bei denen es zu einer Ablagerung krankheitsspezifischer Substanzen im Herzen kommt. Bei einem Verdacht auf Speichererkrankungen (Amyloidose, Morbus Fabry, Hämochromatose) erfolgen zusätzliche Spezialfärbungen (Kongo-rot-Färbung, Toluidinblau-Färbung, Fe-Färbung). Weitere Details zur Speichererkrankung sind am Ende aufgeführt.

#### Weitere Informationen zur Histologie bei Speichererkrankungen

Die Endomyokardbiopsie spielt eine zentrale Rolle für die Verifizierung bzw. Subtypisierung der kardialen Amyloidose. Deren frühzeitige Diagnose und kardial ausgerichtete vielversprechende Therapieoptionen sind aktuell von großer Bedeutung und stehen zunehmend im Fokus von Studien. Im Falle einer kardialen Amyloidose zeigt sich eine regelmäßige Verteilung der Amyloidablagerungen, sodass das Risiko für einen „sampling error“ und damit einem falsch negativen Resultat als sehr gering einzustufen ist. Amyloid wird durch Kongorotfärbung nachgewiesen, welches unter polarisiertem Licht betrachtet eine typische apfelgrüne/gelborange Doppelbrechung aufweist.

In der Biopsie sollte quantitativ die Amyloidlast bestimmt werden, da das bioptisch gesicherte Ausmaß der Amyloidose - vor allem bei der AL-Amyloidose - von entscheidender therapeutischer und prognostischer Bedeutung ist.

Darüber hinaus ist für die Therapieauswahl die exakte Klassifikation des Amyloids entscheidend. Diese kann durch immunhistochemische Färbungen mit hoher Sensitivität bereits in einem frühen Stadium der Erkrankung sicher erfolgen. Es gibt verlässliche Antikörper zum Nachweis der ATTR-, AL- und AA-Amyloidose, welche mehr als 99% der kardialen Amyloidosen ausmachen. Darüber hinaus hat sich eine zusätzliche Begleitentzündung als prognostisch relevant gezeigt.

Im Falle des Nachweises einer ATTR Amyloidose sollte eine genetische Untersuchung folgen, um eine sog. Altersamyloidose vom Wildtyp von der hereditären Form unterscheiden zu können.

### 2) Immunhistologie

Mit Hilfe der Immunhistologie lassen sich verschiedene Immunzellen (z.B. CD3, CD4, CD8, CD45RO, LFA1, zytotoxische T-Zellen, Makrophagen) in RNA-later fixiertem Gewebe differenzieren und quantifizieren. Hierbei muss hervorgehoben werden, dass die Spezifität und Sensitivität der Immunhistologie bei der Verwendung von RNA-later fixiertem Gewebe gegenüber Formalin-fixiertem Gewebe deutlich erhöht ist. Darüber hinaus werden weitere immunologische Parameter (z.B. HLA-DR, ICAM, VCAM, PAI-1) mit Hilfe immunhistologischer Methoden analysiert.

Anhand von prospektiven Analysen an großen Patientenkollektiven ist es uns gelungen, durch die Quantifizierung der verschiedenen Immunzellen prognostische Aussagen zu treffen, welche dann einen wesentlichen Einfluss auf die Therapieempfehlung haben.



Genetisch bedingte arrhythmogene Herzmuskel-erkrankungen, wie die arrhythmogene rechtsventrikuläre Dysplasie (ARVC), können mit Hilfe des immunhistologischen Nachweises des Expressionsprofils desmosomaler Proteine (Plakoglobin, Desmoplakin, Connexin 43), die im Falle einer ARVC vermindert exprimiert werden bzw. fehlen, diagnostiziert werden.

Zusätzlich konnten wir durch die Analyse verschiedener Zytokine - sowohl im Serum als auch im Myokard - neue Ansätze für eine Risikostratifizierung erarbeiten. Diese wird in Zukunft die Therapieentscheidung unterstützen und sowohl auf den Beginn als auch die Intensität der Therapie Einfluss nehmen.

### 3) Virologie

Die meisten Myokarditiden bzw. entzündlichen Herzmuskelerkrankungen sind wahrscheinlich primär durch virale Erreger hervorgerufen worden, auch wenn diese Erreger im späteren Verlauf der Erkrankung häufig nicht mehr nachweisbar sind. Die am häufigsten nachweisbaren kardiotropen Viren in unseren Breitengraden sind das Parvovirus B19 (B19V), das humane Herpesvirus (HHV6), das Epstein Barr Virus (EBV) sowie das Coxsackie- und Adenovirus.

Die molekulare Virusdiagnostik ist aber nicht nur auf den reinen Nachweis erregerspezifischer Nukleinsäuren beschränkt, sondern beinhaltet auch die Quantifizierung der Viruslast mittels Realtime-PCR, die Sequenzierung der erhaltenen Genprodukte zur Bestimmung des Virustyps und die Bestimmung der aktiven Virusreplikation

Neue experimentelle und klinische Untersuchungen zeigen, dass der Nachweis der aktiven Virusreplikation bei dem zur Zeit am häufigsten vorkommenden Virus (B19V) von erheblicher klinischer und prognostischer Bedeutung ist. Hiermit wurde die Annahme widerlegt, dass der Nachweis des B19V im Myokard prinzipiell keine prognostische Bedeutung hat. Insbesondere mit Hinblick auf die Therapieentscheidung sind diese aktuellen Erkenntnisse essentiell, da gerade die B19V-Infektion häufig mit einer Begleitentzündung einhergeht.

Bei einer aktiven Virusreplikation wäre eine immunsuppressive Therapie kontraindiziert, sodass für eine kausale Therapieentscheidung die Virusreplikation dringlich untersucht werden muss (die verschiedenen Therapieoptionen bei Virus-positiven, entzündlichen Herzmuskelerkrankungen entnehmen Sie bitte der Abbildung 1 auf S.3). Die Entwicklung spezifischer und kausaler Therapieoptionen, die auf den pathophysiologischen Mechanismen basieren, haben zu einer signifikanten Verbesserung der klinischen Verläufe und damit der Prognose dieser viral bedingten Herzmuskelerkrankungen geführt.

### 4) Molekularbiologie – die Bestimmung des myokardialen Genprofils

Gerade bei der akuten Myokarditis (AMC) stellt der „sampling error“ bezüglich spezifischer Marker für die unterschiedlichen Formen der AMC (Differenzierung zwischen einer virologisch bzw. autoimmunologisch bedingten Entzündung, einer Riesenzell- bzw. eosinophilen Myokarditis und einer Sarkoidose) ein großes diagnostisches Problem dar. Durch die Etablierung der Bestimmung des Genprofils im Herzmuskelgewebe ist es uns gelungen trotz des Problems des „sampling errors“ in über 95% der Fälle eine eindeutige Diagnose zu stellen. Darüber hinaus kann mit Hilfe der Analyse die Effektivität und die Dauer der Therapie überprüft werden.