

IKDT GmbH, Moltkestrasse 31, D – 12203 Berlin

Berlin, 27.11.2023

Sehr geehrte Kollegen,

im Folgenden möchte ich Sie kurz über die Weiterentwicklungen der Biopsie-Analysen informieren.

Die Verbesserung der Diagnostik bezogen auf

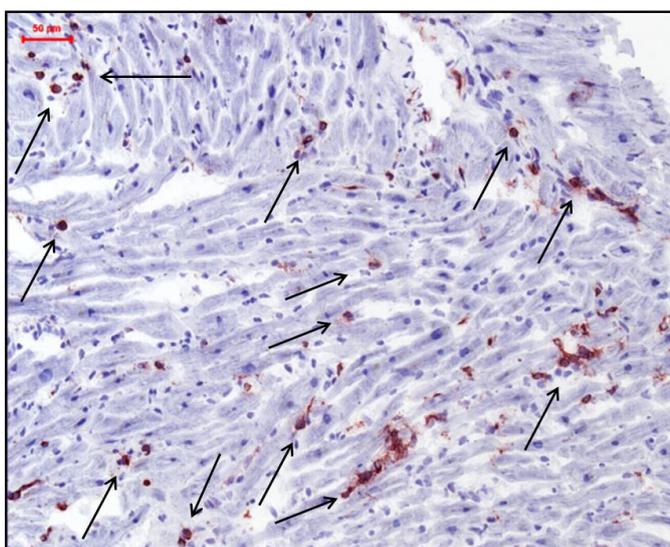
- Histologie / Immunhistologie
- Virologie / Next Generation Sequencing und
- Molekularbiologie

hat das Verständnis der pathophysiologischen Mechanismen deutlich vertieft und zu einer verbesserten, gezielten, kausalen und personalisierten Therapie der entzündlichen Herzmuskelerkrankungen geführt (1–3).

1. Histologie / Immunhistochemie

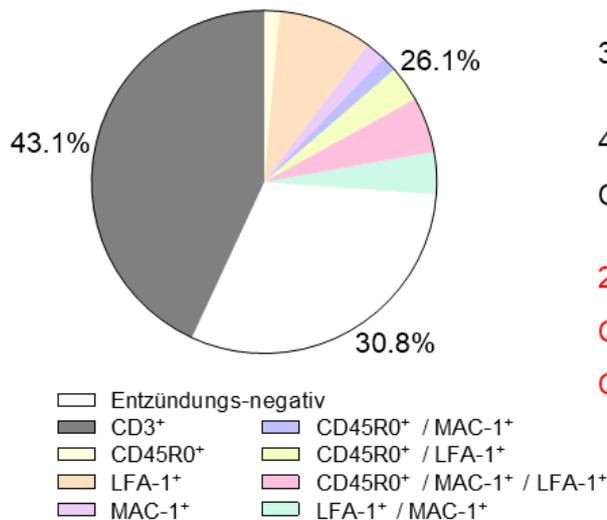
Neben der Histologie ergibt sich vor allem durch die immunhistochemische Differenzierung und Quantifizierung der verschiedenen Immunzellen eine sehr spezifische Aussage über den im Myokard ablaufenden Entzündungsprozess als Grundlage für eine immunsuppressive Therapie – natürlich bei Virus-negativem Befund. Durch die immunhistochemische Quantifizierung verschiedener Entzündungszellen in der Myokardbiopsie konnten wir erstmalig zeigen, dass bei über 25% der Patienten keine erhöhte Zahl von CD3-positiven T-Zellen, jedoch eine deutliche Zunahme anderer Immunzellen beobachtet wird. Gemessen an den aktuell gültigen *Guidelines* würde dies einem negativen immunhistochemischen Befund ohne Therapiekonsequenz entsprechen (2).

diffuse Infiltration von CD3-positiven T-Zellen



IKDT GmbH, Moltkestrasse 31, D – 12203 Berlin

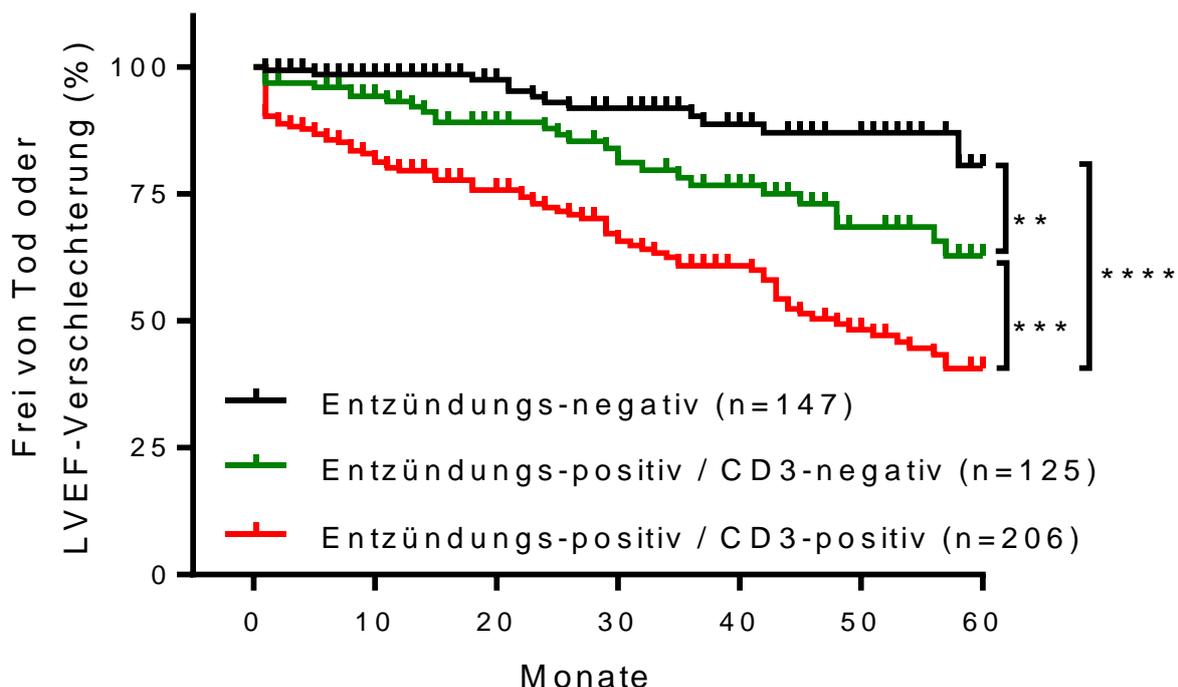
Anhand von klinischen Verlaufsuntersuchungen konnten wir nun aber eindeutig zeigen, dass diese Gruppe von Patienten trotz einer CD3-negativen Entzündung im Myokard im Vergleich zu Entzündungs-negativen Patienten eine eindeutig schlechtere Prognose aufweist. Dies bedeutet, dass konsequenterweise die Einleitung einer immunsuppressiven Therapie erfolgen muss.



30.8% wurden als Entzündungs-negativ eingestuft

43.1% als Entzündungs-positiv aufgrund erhöhter CD3-Werte

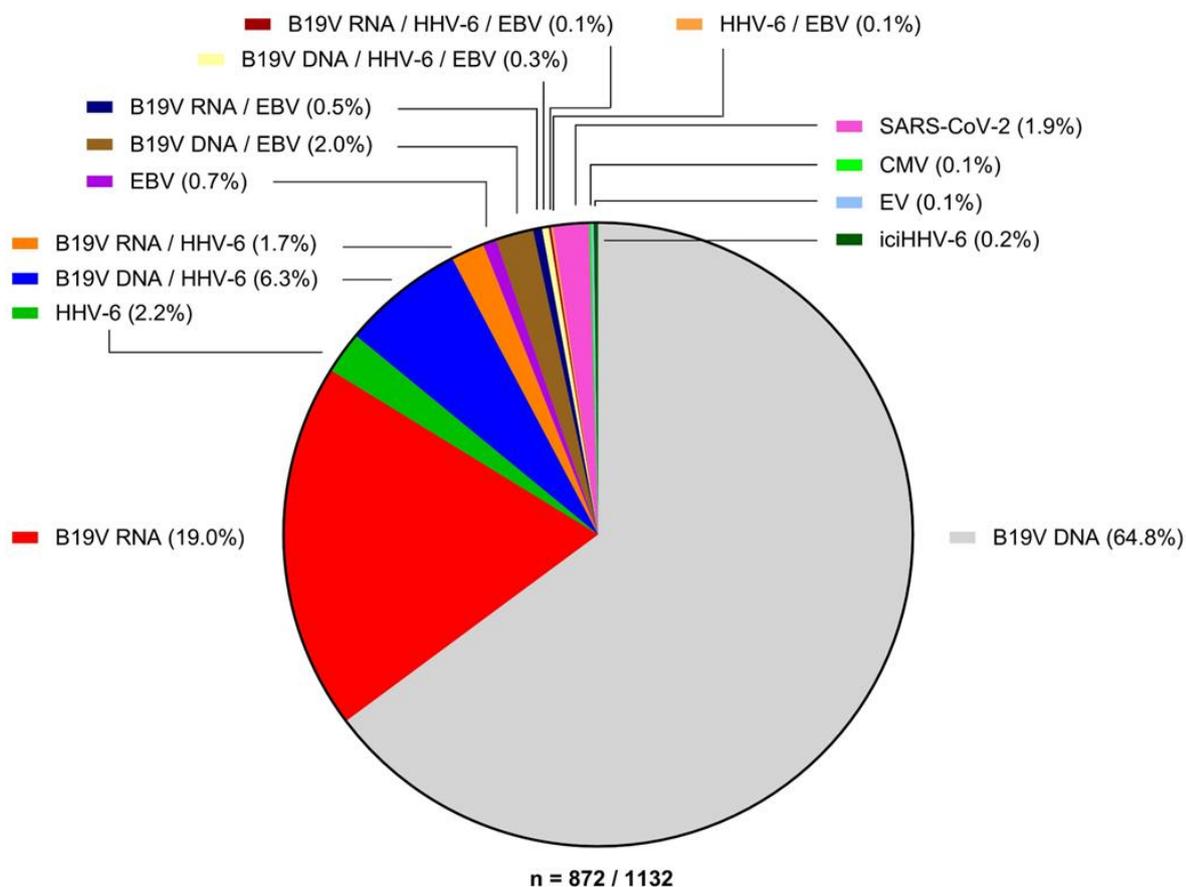
26.1% als Entzündungs-positiv aufgrund erhöhter CD45R0, LFA-1 oder MAC-1 Werte, trotz normaler CD3-Werte



IKDT GmbH, Moltkestrasse 31, D – 12203 Berlin

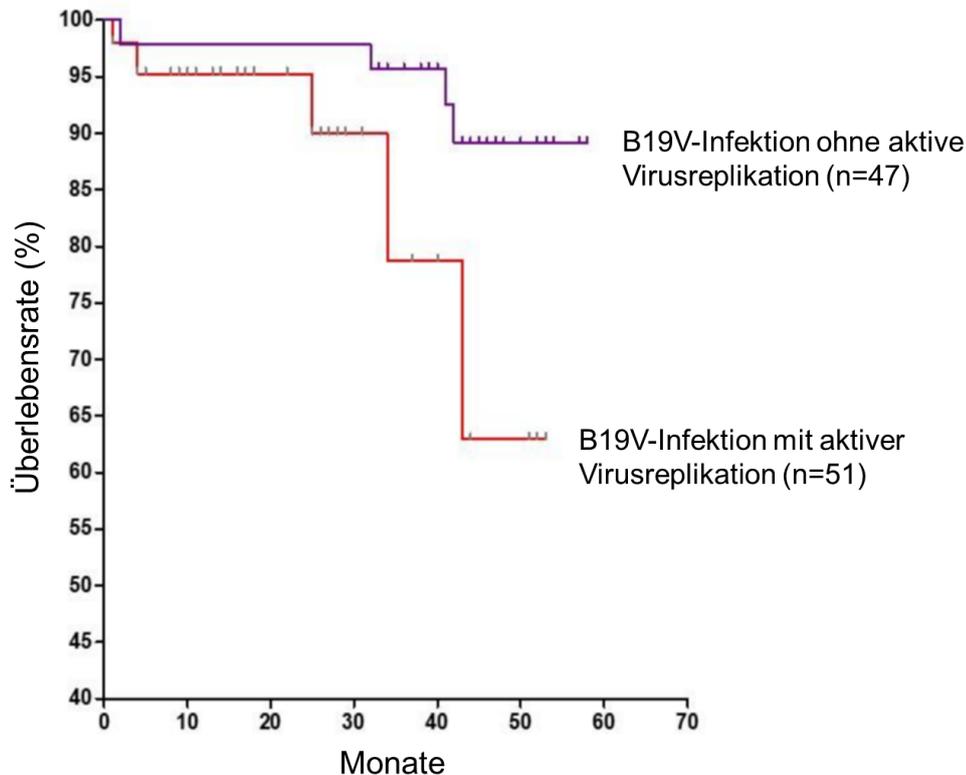
2. Virologie

Der Virusnachweis ist ein weiterer entscheidender Pfeiler der Diagnostik bei entzündlichen Herzmuskelerkrankungen, wobei in über 70% der von uns untersuchten Patienten ein Virusnachweis in den Endomyokardbiopsien erbracht wurde (3,4).



Bezüglich des Nachweises einer Parvovirus B19 (B19V) Infektion - dem am häufigsten nachweisbaren Virus - konnten wir erstmals mit Hilfe neuer molekularbiologischer Methoden zeigen, dass nicht der Virusnachweis als solcher, sondern der Nachweis einer aktiven Virusreplikation von entscheidender klinischer und prognostischer Bedeutung ist. Nur hierdurch ist es möglich, eine latente von einer aktiven Virusinfektion zu unterscheiden (5). Darüber hinaus konnten wir eindeutig zeigen, dass weder der Virusnachweis als solcher noch die Viruslast für den klinischen Verlauf bedeutsam ist. Erst durch den Nachweis einer aktiven Virusreplikation ist eindeutig eine signifikant schlechtere Prognose vorhersagbar.

IKDT GmbH, Moltkestrasse 31, D – 12203 Berlin



Die Identifizierung einer aktiven Virusreplikation ermöglicht eine spezifische und kausale antivirale Therapieentscheidung, was zu einer hoch signifikanten Verbesserung der Prognose führt (6).

Darüber hinaus ist der Nachweis einer aktiven Virusreplikation auch deswegen klinisch hoch relevant, da bei dem Nachweis einer B19V-Infektion häufig auch eine intramyokardiale Entzündung nachweisbar ist. Eine Therapieentscheidung bezüglich einer immunsuppressiven Therapie darf bzw. kann aber nur gestellt werden, wenn vorher eine aktive Virusreplikation ausgeschlossen wurde.

3. Next Generation Sequencing

Mit den konventionellen molekularbiologischen Methoden der Erregerdiagnostik kann aufgrund, des für die Diagnostik nur sehr gering zur Verfügung stehenden Myokardgewebes, nur eine kleine Anzahl von möglichen viralen Pathogenen untersucht werden. Daher haben wir am IKDT eine neue innovative Technologie – das *Next Generation Sequencing* – für den Nukleinsäure-Nachweis von 84 viralen Spezies etabliert. Hintergrund für diesen neuen Ansatz ist, dass eine umfassende Erregerdiagnostik die Voraussetzung für eine gezielte und erfolgreiche Therapie infektiös-entzündlicher Herzmuskelerkrankungen ist. Aufgrund der höheren Sensitivität und Spezifität dieser Methodik ist es uns nun möglich, vorher vermeintlich falsch-negative Virus-Befunde zu korrigieren, neue kardiotope Viren zu identifizieren und die pathophysiologisch hoch-relevante aktive Virusreplikation besser zu erkennen.

IKDT GmbH, Moltkestrasse 31, D – 12203 Berlin

4. Molekularbiologie

Neben der Routine-Diagnostik ergeben verschiedene molekularbiologische Analysen zusätzliche diagnostische und therapeutische Ansätze. Hier sei u.a.

- auf die Bestimmung des Genprofils bei akuter Myokarditis und dem Verdacht auf eine Riesenzell-Myokarditis (IGCM) hingewiesen. Durch die nur fokal vorkommenden Riesenzellen ist der *sampling error* bei rein histologischer Aufarbeitung extrem hoch (> 50%). Durch die zusätzliche Analyse des Genprofils kann nicht nur die Diagnose gesichert, sondern auch die Effektivität der Therapie überprüft werden (7,8).

Klinische Verdachtsdiagnosen		IGCM mit Histologie	IGCM mit Genprofil
Akute Myokarditis	N=180	N=12	N=10
Riesenzell-Myokarditis	N=30	N=8	N=4
Inflammatorische Kardiomyopathie	N=100	N=4	N=10
Eosinophile Myokarditis	N=11	N=0	N=0
Kardiale Sarkoidose	N=20	N=0	N=0
Ungeklärte akute Herzinsuffizienz	N=86	N=2	N=7

➔ **54.3 % wären bei alleiniger Histologie übersehen worden**

Histologischer Nachweis von Riesenzellen:

N=26

Genprofil positiv für Riesenzellen:

N=31

Genauere Diagnose:

45.7% histologischer Nachweis von Riesenzellen

54.3% positives IGCM Genprofil

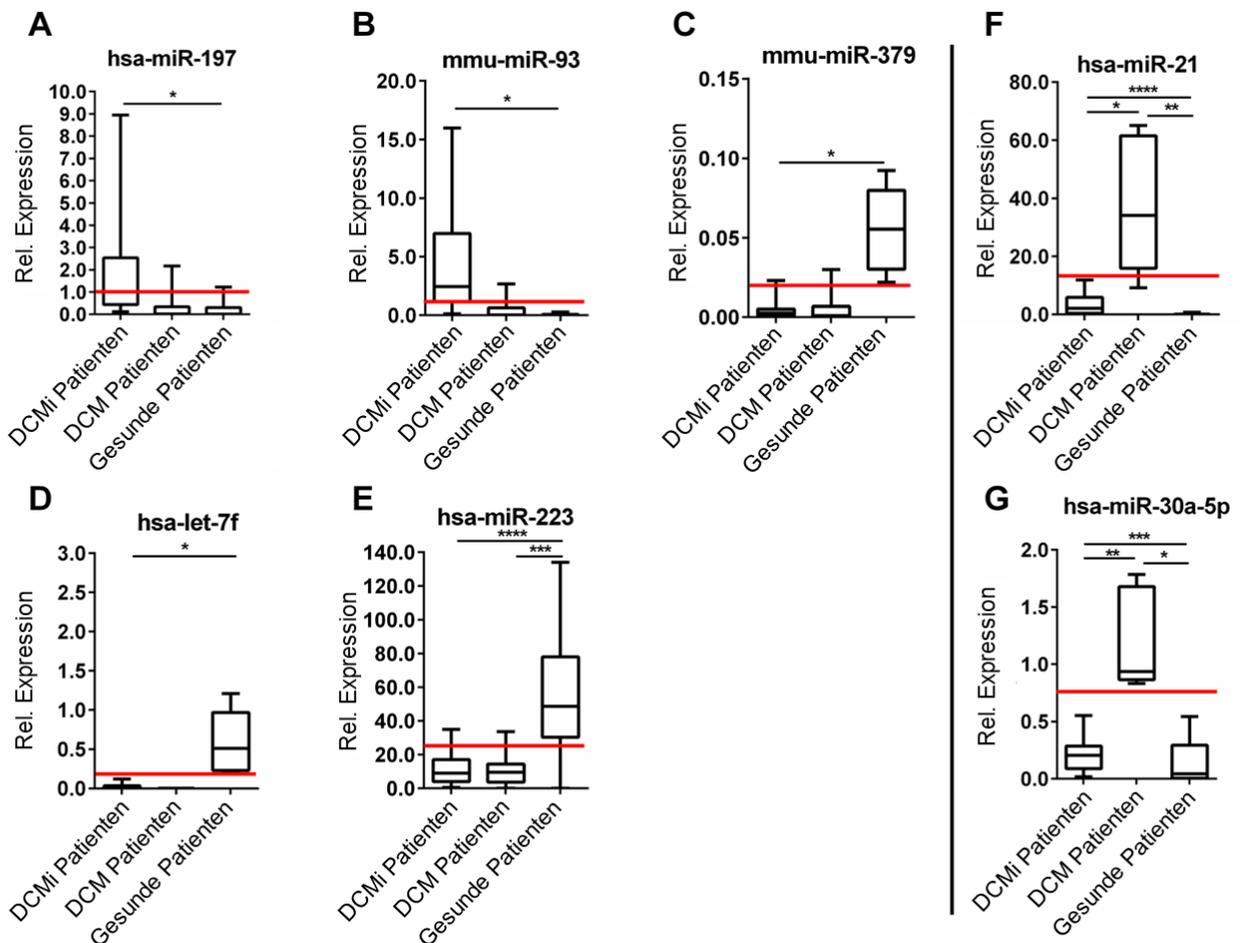
Sofortige maßgeschneiderte immunsuppressive Behandlung

- darüber hinaus ergeben sich zukünftig bei entzündlichen Herzmuskelerkrankungen durch die Bestimmung des Zytokinmusters sowohl neue prognostische als auch therapeutische Ansätze (9).

IKDT GmbH, Moltkestrasse 31, D – 12203 Berlin

- einen weiteren Ansatz bezüglich der Differentialdiagnostik stellt die Analyse von miRNA-Profilen sowohl in Myokardbiopsien als auch im Serum dar.

So konnten wir zeigen, dass der Nachweis bestimmter miRNAs im Serum mit einer Trefferquote von über 97% auf das Vorliegen einer entzündlichen Herzmuskerkrankung hinweist. Hierdurch wird die Indikation für die Durchführung einer Myokardbiopsie zwecks eindeutiger Abklärung der Ätiopathogenese als Grundlage für eine spezifische und personalisierte Therapie unterstützt (10).

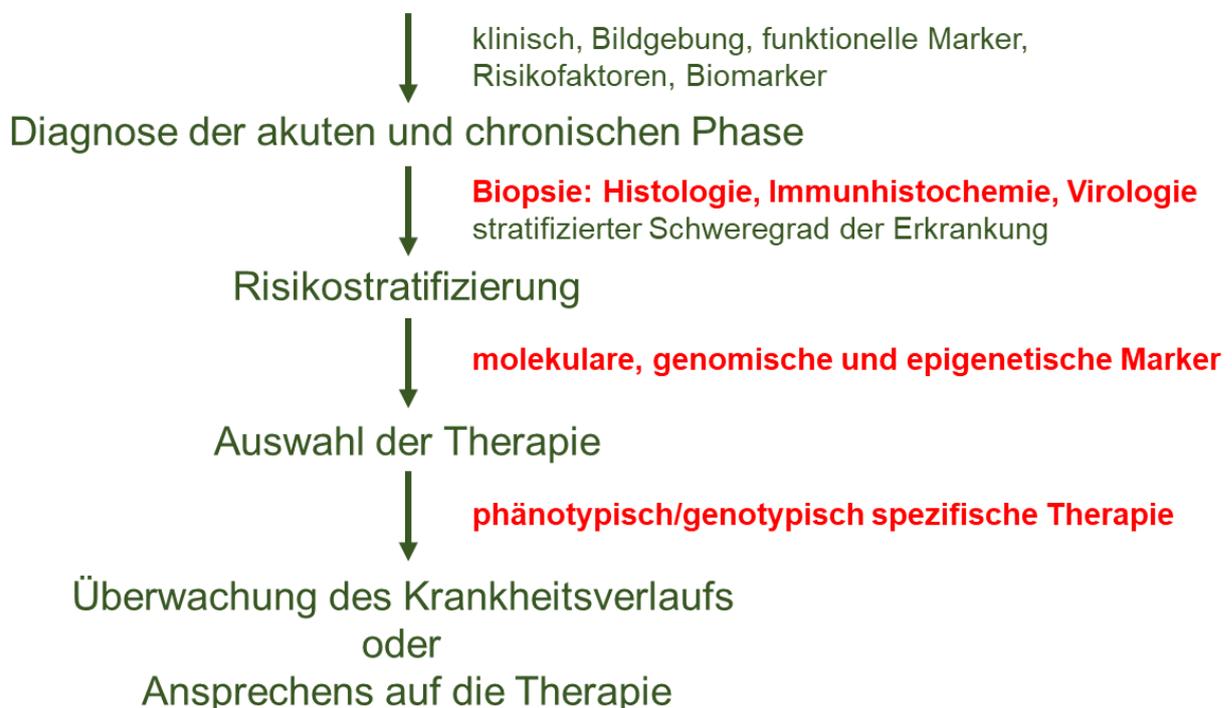


- darüber hinaus zeigen neue Analysen von miRNAs in Myokardbiopsien u.a. eine hohe Spezifität bezüglich einer aktiven B19V Virusreplikation hat, was nicht nur bezüglich der Diagnostik von enormer Bedeutung ist, sondern in Zukunft zusätzlich eine realistische Option für neue therapeutische Ansätze darstellt.

IKDT GmbH, Moltkestrasse 31, D – 12203 Berlin

Zusammenfassend konnten wir durch die Weiterentwicklung der methodischen Grundpfeiler der Analyse von Endomyokardbiopsien das Verständnis der pathophysiologischen Mechanismen deutlich vertiefen und so die Grundlage für eine kausale, zielgerichtete und personalisierte Therapie deutlich verbessern (2,3,11,12).

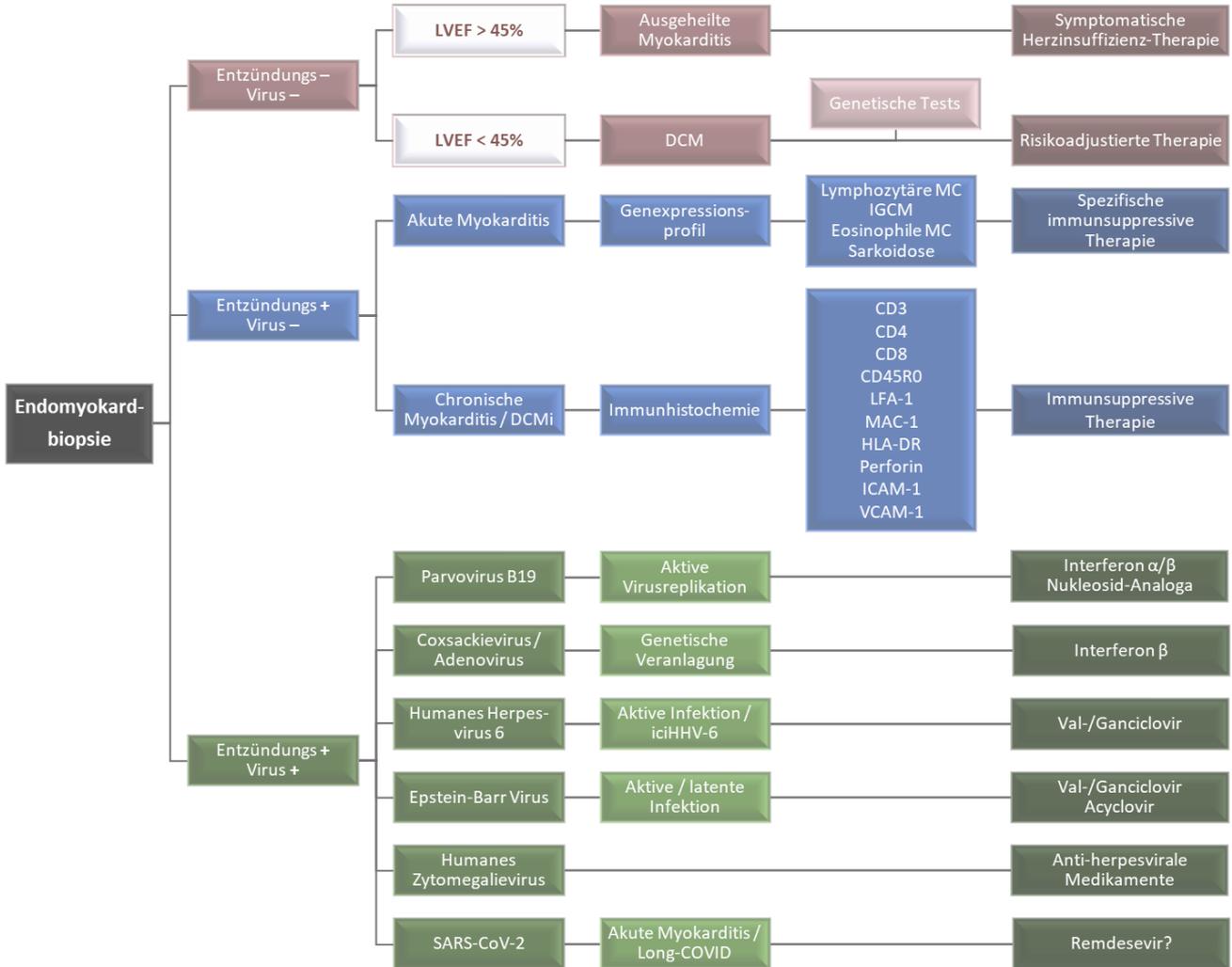
frühzeitige Erkennung subklinischer Erkrankungen



Die aktuellen Daten belegen, dass die Myokardbiopsie die einzige Möglichkeit darstellt, eine exakte Diagnose als Grundlage für eine spezifische Therapie zu stellen (13). In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, dass mit keiner anderen Methode – einschließlich der MRT-Bildgebung – eine verlässliche Diagnose als Grundlage für eine spezifische Therapie gestellt werden kann. Dies betrifft in erster Linie den Nachweis einer Virusinfektion, da keine nicht-invasive Methodik in der Lage ist, eine myokardiale Virusinfektion auszuschließen bzw. zu belegen. Darüber hinaus ist es für die Therapieentscheidung von eminenter Bedeutung, sowohl eine exakte Viruserkennung als auch eine mögliche aktive Virusreplikation nachzuweisen. In diesem Zusammenhang sei noch einmal darauf hingewiesen, dass eine immunsuppressive Therapie nur nach einem Ausschluss einer myokardialen Virusinfektion durchgeführt werden darf.

Letztlich sei darauf hingewiesen, dass die Qualität und Intensität der Entzündungsreaktion für die Therapieentscheidung von eminenter Bedeutung sind. Auch diese Frage kann nur über die immunhistologische Analyse der Biopsie beantwortet werden.

IKDT GmbH, Moltkestrasse 31, D – 12203 Berlin



IKDT GmbH, Moltkestrasse 31, D – 12203 Berlin

Sehr geehrte Kollegen, wir hoffen, Sie von der Qualität und der sich hieraus ergebenden klinischen Relevanz unserer Myokardbiopsie-Diagnostik überzeugen zu können und – basierend auf diesen Überlegungen - die Zusammenarbeit mit Ihrer Klinik intensivieren bzw. neu beginnen zu können.

Sollten Sie eine Zusammenarbeit anstreben, würden wir Ihnen auf Ihre Bitte hin umgehend die mit RNA-later gefüllten Röhrchen zur Versendung der Biopsieproben zukommen lassen.

Selbstverständlich stehen wir für Rückfragen jederzeit zur Verfügung und sind auch prinzipiell an einer möglichen wissenschaftlichen Kooperation sehr interessiert.

In der Hoffnung von Ihnen zu hören, verbleibe ich mit besten kollegialen Grüßen,



Heinz-Peter Schultheiss

Prof. Dr. med. Heinz-Peter Schultheiss
CEO Institut Kardiale Diagnostik und Therapie (IKDT) GmbH
em. Professor und Vorsitzender des Kardiovaskulären Zentrums der Charité – Universitätsmedizin Berlin
Moltkestrasse 31, D-12203 Berlin
Tel.: +49 30 8441-5550
Email: Heinz-Peter.Schultheiss@ikdt.de

IKDT GmbH, Moltkestrasse 31, D – 12203 Berlin

Referenzen:

1. Schultheiss HP, Fairweather DL, Caforio ALP, Escher F, Hershberger RE, Lipshultz SE, et al. Dilated cardiomyopathy. *Nat Rev Dis Prim.* 2019;5(1):32.
2. Baumeier C, Harms D, Aleshcheva G, Gross U, Escher F, Schultheiss H-P. Advancing Precision Medicine in Myocarditis: Current Status and Future Perspectives in Endomyocardial Biopsy-Based Diagnostics and Therapeutic Approaches. Vol. 12, *Journal of Clinical Medicine.* 2023.
3. Schultheiss H-P, Baumeier C, Aleshcheva G, Bock C-T, Escher F. Viral Myocarditis—From Pathophysiology to Treatment. Vol. 10, *Journal of Clinical Medicine.* 2021.
4. Schultheiss H-P, Baumeier C, Pietsch H, Bock CT, Poller W, Escher F. Cardiovascular consequences of viral infections: from COVID to other viral diseases. *Cardiovasc Res [Internet].* 2021 Oct 5;cvab315. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34609508>
5. Escher F, Aleshcheva G, Pietsch H, Baumeier C, Gross UM, Schrage BN, et al. Transcriptional Active Parvovirus B19 Infection Predicts Adverse Long-Term Outcome in Patients with Non-Ischemic Cardiomyopathy. *Biomedicines.* 2021 Dec;9(12).
6. Schultheiss H-P, Bock C-T, Aleshcheva G, Baumeier C, Poller W, Escher F. Interferon-β Suppresses Transcriptionally Active Parvovirus B19 Infection in Viral Cardiomyopathy: A Subgroup Analysis of the BICC-Trial. Vol. 14, *Viruses.* 2022.
7. Lassner D, Kühl U, Siegismund CS, Rohde M, Elezkurtaj S, Escher F, et al. Improved diagnosis of idiopathic giant cell myocarditis and cardiac sarcoidosis by myocardial gene expression profiling. *Eur Heart J [Internet].* 2014 Aug 21 [cited 2017 Nov 2];35(32):2186–95. Available from: <https://academic.oup.com/eurheartj/article-lookup/doi/10.1093/eurheartj/ehu101>
8. Escher F, Pietsch H, Aleshcheva G, Wenzel P, Fruhwald F, Stumpf C, et al. Evaluation of Myocardial Gene Expression Profiling for Superior Diagnosis of Idiopathic Giant-Cell Myocarditis and Clinical Feasibility in a Large Cohort of Patients with Acute Cardiac Decompensation. *J Clin Med.* 2020 Aug;9(9):2689.
9. Wang Y, Wessel N, Kohse F, Khan A, Schultheiss H-P, Moreira M da C V, et al. Measurement of multiple cytokines for discrimination and risk stratification in patients with Chagas' disease and idiopathic dilated cardiomyopathy. *PLoS Negl Trop Dis [Internet].* 2021 Mar 23;15(3):e0008906. Available from: <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0008906>
10. Aleshcheva G, Pietsch H, Escher F, Schultheiss H-P. MicroRNA profiling as a novel diagnostic tool for identification of patients with inflammatory and/or virally induced cardiomyopathies. *ESC Hear Fail [Internet].* 2020 Nov 20;8(1):408–22. Available from: <https://doi.org/10.1002/ehf2.13090>
11. Escher F, Kühl U, Lassner D, Poller W, Westermann D, Pieske B, et al. Long-term outcome of patients with virus-negative chronic myocarditis or inflammatory cardiomyopathy after immunosuppressive therapy. *Clin Res Cardiol [Internet].* 2016 Dec 16 [cited 2017 Nov 3];105(12):1011–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27312326>
12. Schultheiss H-P, Escher F. Myocarditis: treatment of myocarditis. In: *ESC CardioMed.* Oxford, UK: Oxford University Press; 2018.
13. Schultheiss HP, Escher F. Advanced diagnostics in inflammatory cardiomyopathy for personalized therapeutic decision-making. *Eur Heart J [Internet].* 2022 Sep 21;43(36):3474–6. Available from: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehac412>