

Aus der  
Medizinischen Klinik und Poliklinik I der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Professor Dr. med. S. Massberg

**Präklinische und klinische Ansätze zur Verbesserung von Diagnostik und Therapie der  
Herzinsuffizienz**



**Kumulative Habilitationsschrift**

Zum Erlangen der Lehrbefugnis (venia legendi)

für das Fach Innere Medizin

vorgelegt von

**Dr. med. Ulrich Grabmaier**

(2018)

## Inhaltsverzeichnis

1. Verzeichnis der in der Habilitationsschrift zusammengefassten Publikationen	S. 2
2. Einleitung	S. 4
3. Ergebnisse und Diskussion	S. 6
- Die Rolle von <i>vascular cell adhesion molecule 1</i> in präklinischen Kardiomyopathiemodellen	S. 6
- Die duale Stammzelltherapie nach akutem Myokardinfarkt	S. 14
- Die nicht-selektive prähospitaler Gabe von Aspirin und Heparin bei Patienten mit extrahospitaler kardiopulmonaler Reanimation	S. 25
4. Ausblick	S. 30
5. Zusammenfassung	S. 31
6. Literaturverzeichnis	S. 33
7. Abkürzungsverzeichnis	S. 39
8. Danksagung	S. 41
9. Lebenslauf	S. 42

## 1. Verzeichnis der in der Habilitationsschrift zusammengefassten Publikationen

Brunner S, Theiss HD, Leiss M, **Grabmaier U**, Grabmeier J, Huber B, et al. Enhanced stem cell migration mediated by VCAM-1/VLA-4 interaction improves cardiac function in virus-induced dilated cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol.* 2013;108(6):388.

**Grabmaier U**, Kania G, Kreiner J, Grabmeier J, Uhl A, Huber BC, et al. Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) as a Biomarker in the Mouse Model of Experimental Autoimmune Myocarditis (EAM). *PLoS One.* 2016;11(8):e0158299.

Brenner C, Adrion C, **Grabmaier U**, Theisen D, von Ziegler F, Leber A, et al. Sitagliptin plus granulocyte colony-stimulating factor in patients suffering from acute myocardial infarction: A double-blind, randomized placebo-controlled trial of efficacy and safety (SITAGRAMI trial). *Int J Cardiol.* 2016;205:23-30.

Gross L, Theiss HD, **Grabmaier U**, Adrion C, Mansmann U, Sohn HY, et al. Combined therapy with sitagliptin plus granulocyte-colony stimulating factor in patients with acute myocardial infarction - Long-term results of the SITAGRAMI trial. *Int J Cardiol.* 2016;215:441-5.

**Grabmaier U**, Clauss S, Gross L, Klier I, Franz WM, Steinbeck G, Wakili R, Theiss HD, Brenner C. Diagnostic and prognostic value of miR-1 and miR-29b on adverse ventricular remodeling after acute myocardial infarction - The SITAGRAMI-miR analysis. *Int J Cardiol.* 2017 Oct 1;244:30-36.

**Grabmaier U\***, Rizas KD\*, Berghof J, Huflaender Y, Wiegers C, Wakili R, Kaspar M, Angstwurm M, Massberg S, Weckbach LT, Brunner S. Association between survival and non-selective prehospital aspirin and heparin administration in patients with out-of-hospital cardiac arrest: a propensity score-matched analysis.

Intensive Care Med. 2018 Mar 9. doi: 10.1007/s00134-018-5111-2. [Epub ahead of print]

## 2. Einleitung

Herzinsuffizienz ist ein klinisches Syndrom welches durch typische Symptome wie Kurzatmigkeit, Müdigkeit und Beinödeme charakterisiert ist und durch unterschiedliche strukturelle oder funktionelle Herzerkrankungen verursacht werden kann, welche einen verminderte Herzleistung oder einen erhöhten intrakardialen Druck bedingen.<sup>1</sup>

Die Diagnose der Herzinsuffizienz stützt sich zuallererst auf das Vorhandensein von typischen Symptomen und klinischen Zeichen. Diese sind jedoch unspezifisch und vermögen nicht zwischen Herzinsuffizienz und anderen Erkrankungen mit ähnlichem klinischem Bild zu differenzieren.<sup>2</sup> Zudem sind sie, je nach Komorbiditäten wie z.B. Übergewicht oder Lungenerkrankungen, schwierig zu identifizieren.<sup>3</sup> Die Bestimmung der natriuretischen Peptide (BNP und NT-proBNP) sowie das Elektrokardiogramm und die Echokardiographie sind diagnostische Grundlagen, um dann das Vorliegen einer Herzinsuffizienz zu beweisen oder auszuschließen.<sup>4-8</sup> Weiterhin können nicht-invasive diagnostische Verfahren wie die Stressechokardiographie, die Computertomographie oder die myokardiale MRT-Diagnostik sowie invasive Katheterverfahren (Links- und Rechtsherzkatheterverfahren und Myokardbiopsie) zur Eingrenzung der Ursache der vorliegenden Herzinsuffizienz genutzt werden.<sup>9-12</sup>

Die Einteilung der Herzinsuffizienz erfolgt gemäß den neuesten ESC-Leitlinien anhand des Grades der Ejektionsfraktionseinschränkung: So wird eine Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion (linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF)  $\geq 50\%$ ; HFpEF) von einer Herzinsuffizienz mit moderat reduzierter LVEF (40-49%, HFmrEF) sowie einer Herzinsuffizienz mit reduzierter LVEF ( $< 40\%$ , HFrEF) unterschieden.<sup>1,13</sup>

Die medikamentöse Therapie der Herzinsuffizienz richtet sich je nach Zugehörigkeit zu einer der oben genannten Gruppen HFpEF, HFmrEF oder HFrEF. Für die Gruppe HFpEF stehen Mineralokortikoidrezeptorantagonisten (MRA) sowie Diuretika zur symptomatischen Therapie

zur Verfügung. Für MRA gibt es zudem Hinweise, dass diese die Hospitalisierungsraten von Patienten mit HFpEF reduzieren könnten.<sup>14</sup> Für die neu definierte Gruppe der HFmrEF stehen noch keine durch Studien belegte Therapieoptionen zur Verfügung. Retrospektive Daten weisen jedoch darauf hin, dass auch diese Gruppe z.B. von Inhibitoren des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) profitieren könnten.<sup>15</sup> Dies höchste Evidenz besteht derzeit für die medikamentöse Therapie der Patienten mit HFrEF. Betablocker, ACE-Hemmer bzw. Angiotensin-Rezeptor-Blocker sowie MRA stellen dabei neben einer begleitenden Therapie mit Diuretika die 3 Säulen der Herzinsuffizienztherapie dar.<sup>1</sup> Die neuartige Wirkstoffkombination der Angiotensinrezeptor-Nepriylisin-Hemmer bietet darüber hinaus einen Zusatznutzen bzgl. der Hospitalisationsrate sowie Tod durch Herzinsuffizienz.<sup>16</sup>

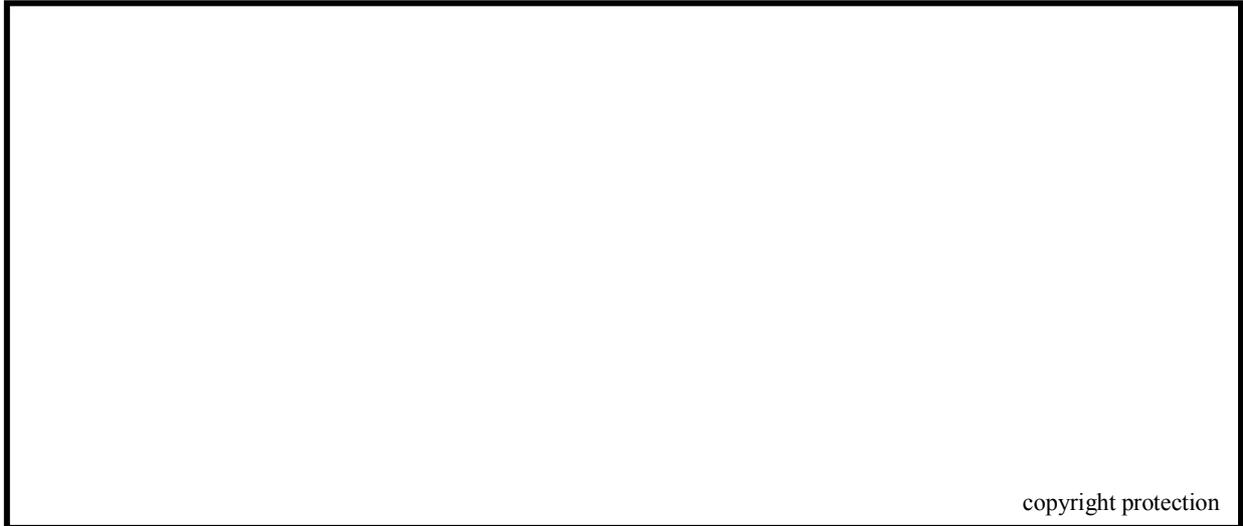
Trotz erwiesener Wirksamkeit der einzelnen medikamentösen Ansätze auf die Morbidität und die Sterblichkeit ist die Herzinsuffizienz volkswirtschaftlich ein weiterhin höchst relevantes Thema: Ca. 1-2% aller Erwachsenen in entwickelten Ländern leiden an Herzinsuffizienz, unter den  $\geq 70$ -jährigen mehr als 10%.<sup>1</sup> Laut statistischem Bundesamt ist die Herzinsuffizienz unter den 3 häufigsten Todesursachen in Deutschland zu finden(Stand 2015).<sup>17</sup> Dabei stellt die ischämische Kardiomyopathie (ICM) neben der dilatativen Kardiomyopathie (DCM) die häufigste Ursache der Herzinsuffizienz dar. Die DCM führt noch vor der ICM als häufigste Ursache für die Herztransplantation.<sup>1,18,19</sup>

Dies erklärt die Notwendigkeit zur Erforschung weiterer diagnostischer und therapeutischer Maßnahmen um Morbidität und Sterblichkeit von Patienten mit ICM und DCM weiter reduzieren zu können. In der vorliegenden Habilitationsschrift soll auf präklinische und klinische Ansätze zur Verbesserung von Diagnostik und Therapie der ICM sowie der DCM eingegangen werden.

### 3. Ergebnisse und Diskussion

#### **Die Rolle von *vascular cell adhesion molecule 1* in präklinischen Kardiomyopathie-modellen:**

Etablierte Therapiekonzepte zur Regeneration von kontraktilen Gewebe stehen derzeit noch nicht zur Verfügung.<sup>20</sup> Präklinischen Daten zeigen, dass CD34+ Knochenmarkstammzellen in Reparaturmechanismen des Herzens nach Myokardinfarkt involviert sind.<sup>21</sup> Zur Migration in das Myokard nutzen sie dabei den Rezeptor *CXC chemokine receptor type 4* (CXCR4), der an den auf dem Endothel exprimierten und ins periphere Blut ausgeschütteten *stromal cell-derived factor-1* (SDF-1) bindet.<sup>22</sup> Bei Patienten mit DCM konnte gezeigt werden, dass die Anzahl der CD34+ Knochenmarkstammzellen im peripheren Blut ebenfalls erhöht ist, obwohl SDF-1 im Gegensatz zu Patienten mit ICM im peripheren Blut nicht erhöht war. Es zeigte sich, dass ein anderes Adhäsionsmolekül, nämlich *vascular cell adhesion molecule 1* (VCAM-1) im peripheren Blut von Patienten mit DCM im Trend erhöht war.<sup>23</sup> Um zu untersuchen, ob VCAM-1 für die Migration von Stammzellen bei Patienten mit inflammatorischer DCM (DCMi) eine Rolle spielen könnte, untersuchten wir die Expression von VCAM-1 bei Patienten mit virus-induzierter DCMi und verglichen sie mit Patienten mit einer nicht-inflammatorischen Genese der DCM. Hierbei zeigte sich eine deutliche Überexpression von VCAM-1 im Herzen von DCMi-Patienten im Vergleich zu Patienten mit einer nicht-inflammatorischen Ursache der DCM (Abb. 1). Zur weiteren Untersuchung, ob VCAM-1 eine Rolle bei der Migration von CD34+ Stammzellen in das entzündete Myokard spielt, verwendeten wir das Coxsackievirus B3 (CVB3)-induzierte DCMi-Tiermodell.<sup>24</sup> Hierbei zeigte sich, dass in Maus Herzen mit CVB3-induzierter DCMi VCAM-1 als einziges der untersuchten Adhäsionsmoleküle verstärkt exprimiert wird (Abb. 2).

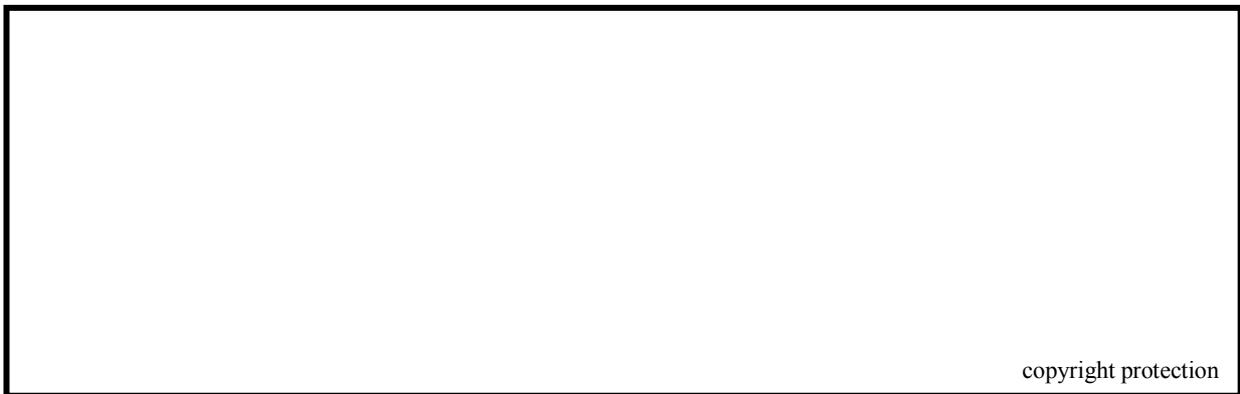


*Abbildung 1: Immunhisto-chemische Färbung auf VCAM-1 in menschlichen Herzen von Patienten mit (A) DCMi (oben beschriftet als virus-induced inflammatory cardiomyopathy) und (B) DCM (beschriftet als chronic dilated cardiomyopathy). Das obere Bild zeigt die jeweilige Färbung auf VCAM-1, das untere Bild die korrespondierende Quantifizierung.<sup>25</sup>*



*Abbildung 2: Expression von Adhensionsmolekülen im murinen Herzen. (A) mRNA-Expressionslevels in gesunden murinen Herzen (weißer Balken) und in Mäusen mit CVB3-induzierter DCMi (schwarze Balken). (B) Proteinlevel von VCAM-1 ermittelt mittels ELISA. Repräsentative Schnitte für die immun-histochemische Färbung auf VCAM-1 (oberes Bild) sowie die korrespondierende Quantifizierung (unteres Bild) von (C) nicht-infizierten Kontrollen und (D) Mäusen mit CVB3-induzierter DCMi.<sup>25</sup>*

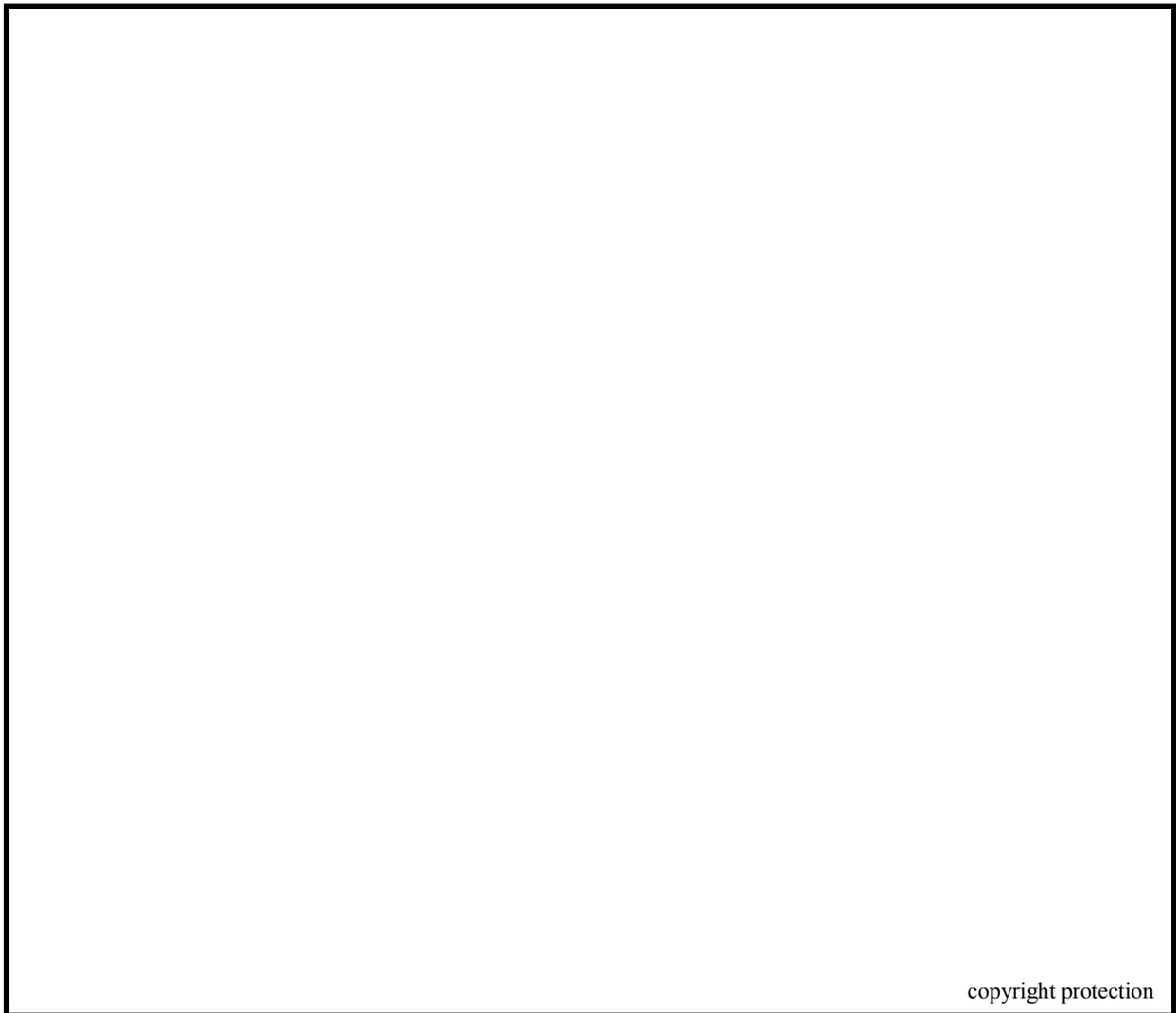
Analog zur verstärkten Expression von VCAM-1 im Herzen, zeigten Mäuse mit CVB3-induzierter DCMi eine erhöhte Mobilisation von endothelialen Progenitorzellen (EPC; definiert als CD45+CD34+CD31+) sowie CD45+CD34+VLA-4+ Stammzellen in das periphere Blut mit gleichzeitiger Depletion im Knochenmark (Abb. 3A+B). Um zu untersuchen, ob diese Stammzellen bei Mäusen mit CVB3-induzierter DCMi in das entzündete Myokard migrieren, führten wir auch FACS-Analysen von Mäuseherzen durch. Hierbei konnten wir eine verstärkte Migration von EPC und CD45+CD34+VLA-4+ Stammzellen in das Myokard nachweisen (Abb. 3C).



*Abbildung 3: FACS-Analysen von Knochenmarkstammzellen in gesunden Mäusen (weiße Balken) und Mäusen mit CVB3-induzierter DCMi (schwarze Balken). (A) Erkrankte Tiere zeigen eine deutlich erhöhte Anzahl von EPC sowie CD45+CD34+VLA-4+ Stammzellen im peripheren Blut bei (B) gleichzeitiger Depletion im Knochenmark auf. (C) Im entzündeten Myokard zeigen sich signifikant mehr Stammzellen als in Herzen von gesunden Kontrollen (modifiziert nach Brunner, Theiss et al. – Basic Research in Cardiology 2013).*

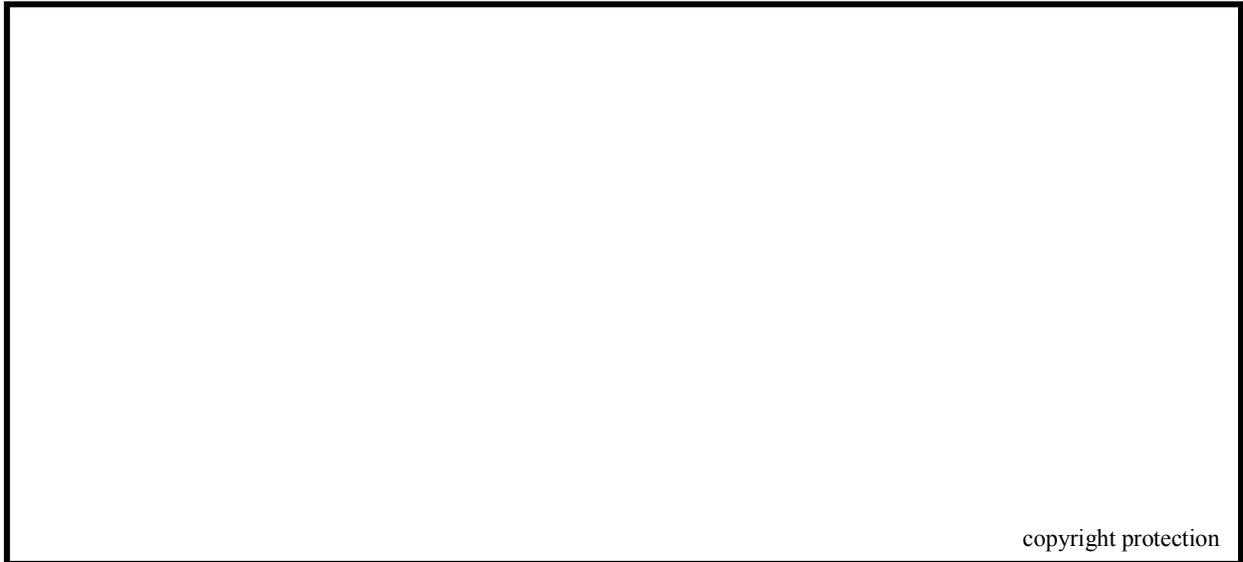
Hierauf untersuchten wir, ob mittels Gabe von *granulocyte-colony stimulating factor* (G-CSF) die Anzahl der in das Herz migrierenden Knochenmarkstammzellen gesteigert und dieser Ansatz therapeutisch genutzt werden könnte. Nach Gabe von G-CSF zeigte sich im Vergleich zur Placebogabe eine deutlich stärkere Migration von EPC in das entzündete Myokard. G-CSF behandelte Mäuse zeigten dabei eine signifikant reduzierte Apoptose sowie Fibrosierung des Myokards (Abbildung 4).

Darüber hinaus wiesen G-CSF behandelte Tiere auch eine verbesserte myokardiale Funktion auf. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die VCAM-1-/VLA-4 Achse für die Mobilisation und die Rekrutierung von Stammzellen in das Myokard im Rahmen der virus-induzierten DCMi eine wichtige Rolle spielt. Die Förderung dieser Migration mittels G-CSF zeigte dabei positive Effekte auf Apoptose, Fibrose und die myokardiale Funktion und könnte ein mögliches neues Therapiekonzept für Patienten mit DCMi darstellen.



*Abbildung 4: Immunhistochemische Färbung auf Marker für Apoptose und Fibrose. (A) G-CSF-therapierte Tiere wiesen eine deutliche Reduktion von Apoptosemarkern wie Caspase 3 sowie (B) in situ oligo ligation auf. (C) Tiere wiesen nach einer Behandlung mit G-CSF eine deutliche Reduktion myokardialer fibrotischer Areale in der Masson-Trichrom-Färbung auf (modifiziert nach Brunner, Theiss et al. – Basic Research in Cardiology 2013).*

In einem nächsten Schritt untersuchten wir, ob die verstärkte myokardiale Expression von VCAM-1 abhängig von einer viralen Infektion ist oder auch eine Reaktion auf eine autoimmun getriggerte Inflammation darstellt. Zu diesem Zweck untersuchten wir die myokardiale Expression von VCAM-1 im Tiermodell für experimentelle Autoimmunmyokarditis (EAM). In diesem Tiermodell führt die subkutane Applikation von kardialem Myosin-Peptid zusammen mit einem starken T-Zell-Aktivator (*complete Freund's adjuvant*, CFA) zu einer T-Zell-vermittelten Autoimmunmyokarditis, welche an Tag 21 der Erkrankung einen inflammatorischen Höhepunkt erreicht und ab Tag 32 in ein chronisches Stadium übergeht.<sup>26</sup> Während VCAM-1 in Herzen von gesunden Tieren mittels ELISA nicht nachweisbar ist, zeigen EAM-Tiere eine starke Überexpression von myokardialem VCAM-1 (cVCAM-1) sowohl im akuten Stadium (Tag 14, Tag 21) als auch im chronischen Stadium (Tag 49 bzw. Tag 77, Abb. 5A). Analog hierzu zeigt sich bei erkrankten Tieren im Vergleich zu gesunden Tieren eine erhöhte Konzentration von löslichem VCAM-1 (sVCAM-1) im peripheren Blut (Abb. 5B). Dies zeigte, dass VCAM-1 bei Myokarditis - unabhängig von viralen Infektionen - myokardial überexprimiert wird. Da die lösliche Form (sVCAM-1) mit der Erkrankungsaktivität in unterschiedlichen autoimmunen Erkrankungen wie rheumatoider Arthritis<sup>27</sup> oder Systemischer Lupus Erythematosus<sup>28</sup> einhergeht, untersuchten wir im EAM-Modell, ob die Konzentration von sVCAM-1 mit der Krankheitsausprägung korreliert.



*Abbildung 5: Erhöhte kardiale und lösliche VCAM-1-Konzentrationen in Tieren mit EAM. (A) ELISA von Herzen zeigte eine ausgeprägte Überexpression von cVCAM-1 mit Beginn der Leukozyteninfiltration (Tag 14) und zu späteren Zeitpunkten. (B) Analog hierzu zeigt sich eine erhöhte Plasmakonzentration von sVCAM-1 zu allen Zeitpunkten der EAM. n = 3–9 für cVCAM-1; n = 6–12 für sVCAM-1. \* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$ ; n. d. = nicht nachweisbar.<sup>29</sup>*

Hierfür korrelierten wir die Konzentration von sVCAM-1 im peripheren Blut von Tieren mit EAM mit der akuten Entzündung (abgebildet durch den semiquantitativen und histologisch erhobenen EAM-Score) sowie mit inflammatorischen und profibrotischen Zytokinen (Abb. 6). Weder der Grad der myokardialen Inflammation gemessen am EAM-Score noch die Konzentration an Interleukin-6 (IL-6) oder des profibrotischen Zytokins *tumor growth factor*  $\beta$  (TGF $\beta$ ) zeigten eine positive Korrelation mit sVCAM-1. Vielmehr zeigte sich eine Korrelation mit dem Quotienten aus Herzgewicht und Körpergewicht – einem Maß für die Dilatation des Herzens im chronischen Stadium (Abb. 7).<sup>30</sup>

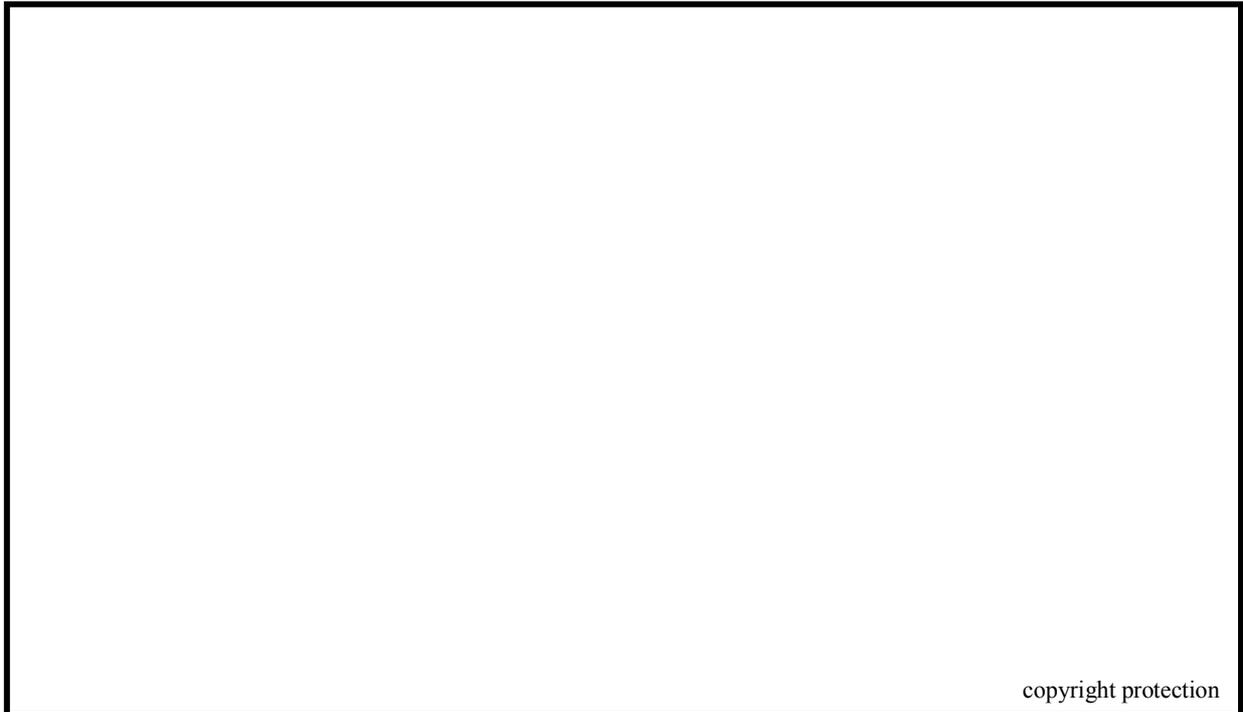
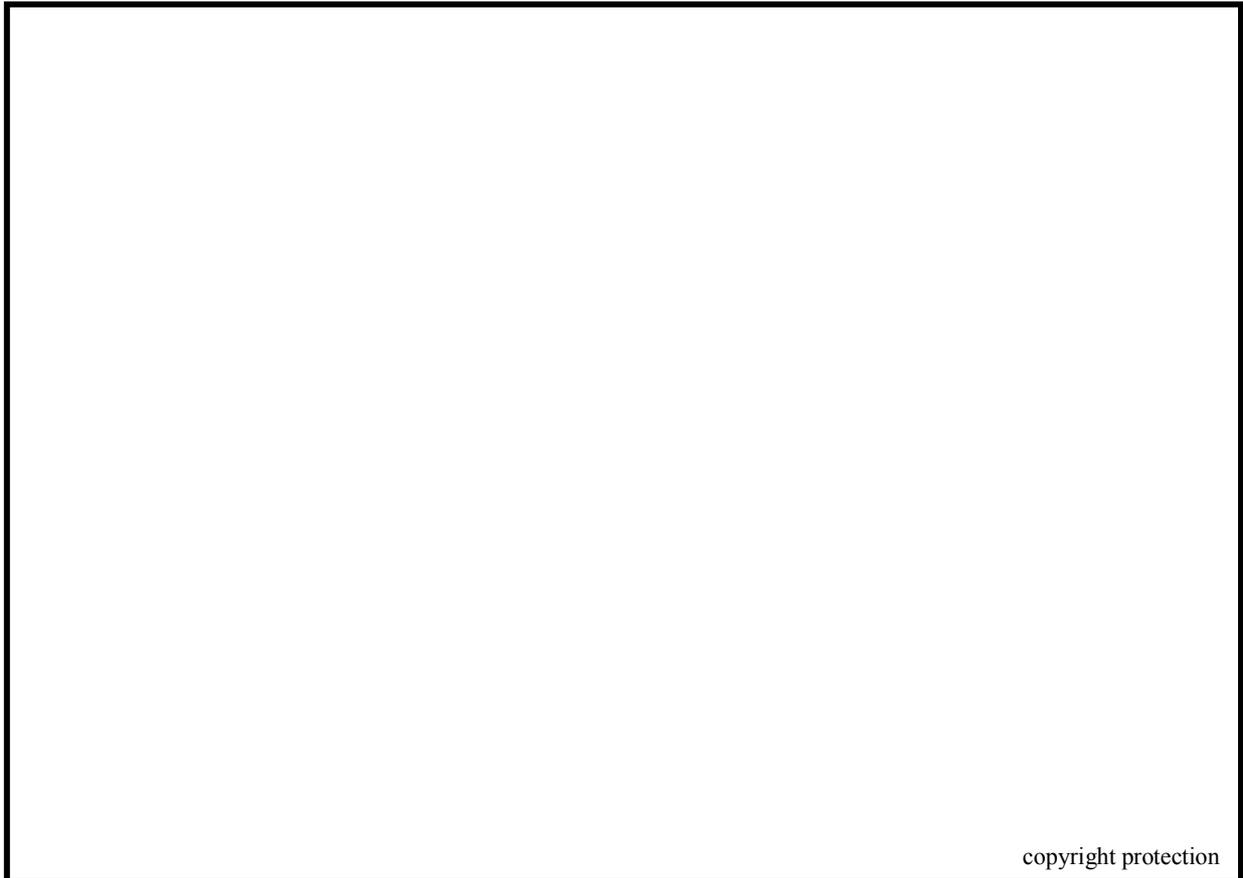


Abbildung 6: sVCAM-1 korreliert nicht mit dem Grad der akuten Inflammation oder mit proinflammatorischen oder profibrotischen Entzündungsmarkern. (A) Repräsentative Schnitte des Myokards nach H&E-Färbung. Es zeigt sich keine Korrelation des histologischen EAM-Scores mit sVCAM-1. (B) Zudem zeigt sich keine Korrelation mit myokardialen Proteinkonzentrationen des proinflammatorischen Zytokins IL-6 oder des profibrotischen Zytokins TGF $\beta$ . Balken stellt 1mm in der Übersicht bzw. 100 $\mu$ m in der Vergrößerung dar. n = 9 für EAM-Score und n = 10 für Zytokin-ELISA.<sup>29</sup>



Abbildung 7: sVCAM-1 korreliert mit dem Quotienten aus Herz- und Körpergewicht zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Erkrankung. (A) Korrelation von sVCAM-1 an Tag 49 sowie (B) an Tag 77 der Erkrankung. N = 12 für Tag 49, n = 10 für Tag 77<sup>29</sup>.

Um zu verifizieren, ob sVCAM-1 somit mit dem Grad der kardialen Dilatation korreliert, führten wir eine Positronen Emissionstomographie (PET)-Untersuchung mit einem dezidierten Kleintier-PET-Gerät (micro-PET) bei Tieren mit EAM durch. Hierbei konnte die Korrelation mit der myokardialen Dilatation nicht verifiziert werden. Zudem zeigte sich keine Korrelation mit der myokardialen Funktion bei Tieren mit EAM (Abb. 8).



*Abbildung 8: sVCAM-1 korreliert nicht mit der im micro-PET gemessenen kardialen Dilatation oder der kardialen Funktion. (A) Repräsentative Darstellung des im micro-PET ermittelten kurze-Achse und lange-Achse-Schnittes in der enddiastolischen (ED) und endsystolischen (ES) Phase. (B) sVCAM-1 korreliert nicht mit dem im micro-PET gemessenen enddiastolischen Volumen (EDV). Zudem zeigt sich keine Korrelation mit der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) oder mit dem Schlagvolumenindex (SVI). N = 7. <sup>29</sup>*

### **Die duale Stammzelltherapie nach akutem Myokardinfarkt:**

In Tiermodellen für den akuten Myokardinfarkt (AMI) führte die Gabe von G-CSF sowie einem Dipeptidylpeptidase 4 (DPP4)-Inhibitor (im folgenden duale Stammzelltherapie genannt) zu einer verstärkten Migration von Knochenmarkstammzellen in das Myokard über die SDF-1/CXCR4-Achse und damit verbunden zu einem verbesserten kardialen Remodeling, einer verbesserten myokardialen Funktion und einem verbesserten Überleben.<sup>31</sup> Aufgrund der eindeutigen präklinischen Daten initiierte unsere Arbeitsgruppe eine prospektive, randomisierte, doppelblinde, placebo-kontrollierte Studie um zu untersuchen, ob eine Kombination aus G-CSF mit dem DPP4-Inhibitor Sitagliptin im Vergleich zu Placebo zu einer besseren myokardialen Funktion 6 Monate nach Myokardinfarkt führt (*Safety and efficacy of SITAgliptin plus GRanulocyte-colony-stimulating factor in patients suffering from Acute Myocardial Infarction*, SITAGRAMI-Studie).

In der SITAGRAMI-Studie wurden Patienten mit einem relevanten AMI (Creatin-kinase > 540 U/l sowie regionale Wandbewegungsstörungen im MRT nachweisbar) zwischen März 2008 und Juni 2013 eingeschlossen und jeweils 12 Monate beobachtet. Nicht-ST-Hebungsmyokardinfarkt-Patienten wurden nur eingeschlossen, wenn in der initialen Koronarangiographie ein kompletter Verschluss des Zielgefäßes festgestellt werden konnte. Patienten wurden nach einem initialen MRT spätestens 6 Tage nach AMI im Falle des Zutreffens aller Einschlusskriterien und keiner Ausschlusskriterien randomisiert und erhielten 10µk/kg/Tag s.c. G-CSF für 5 Tage und Sitagliptin 100mg p.o. für 28 Tage (GS) oder jeweils Placebo. Der primäre Endpunkt bestand aus der absoluten Veränderung der linksventrikulären und rechtsventrikulären Ejektionsfraktion ( $\Delta$ LVEF,  $\Delta$ RVEF), die im MRT zwischen Einschluss und 6-Monatsverlaufskontrolle gemessen werden konnte. Unterschiede in der globalen und regionalen Myokardfunktion, der Myokardperfusion, des Infarktolumens, ein kombinierter sekundärer Endpunkt zur Evaluation der maximalen Erholung beider Ventrikel sowie *major*

*adverse cardiac events* (MACE) stellten jeweils sekundäre Endpunkte dar. Abbildung 9 zeigt den Flowchart der SITAGRAMI-Studie auf.

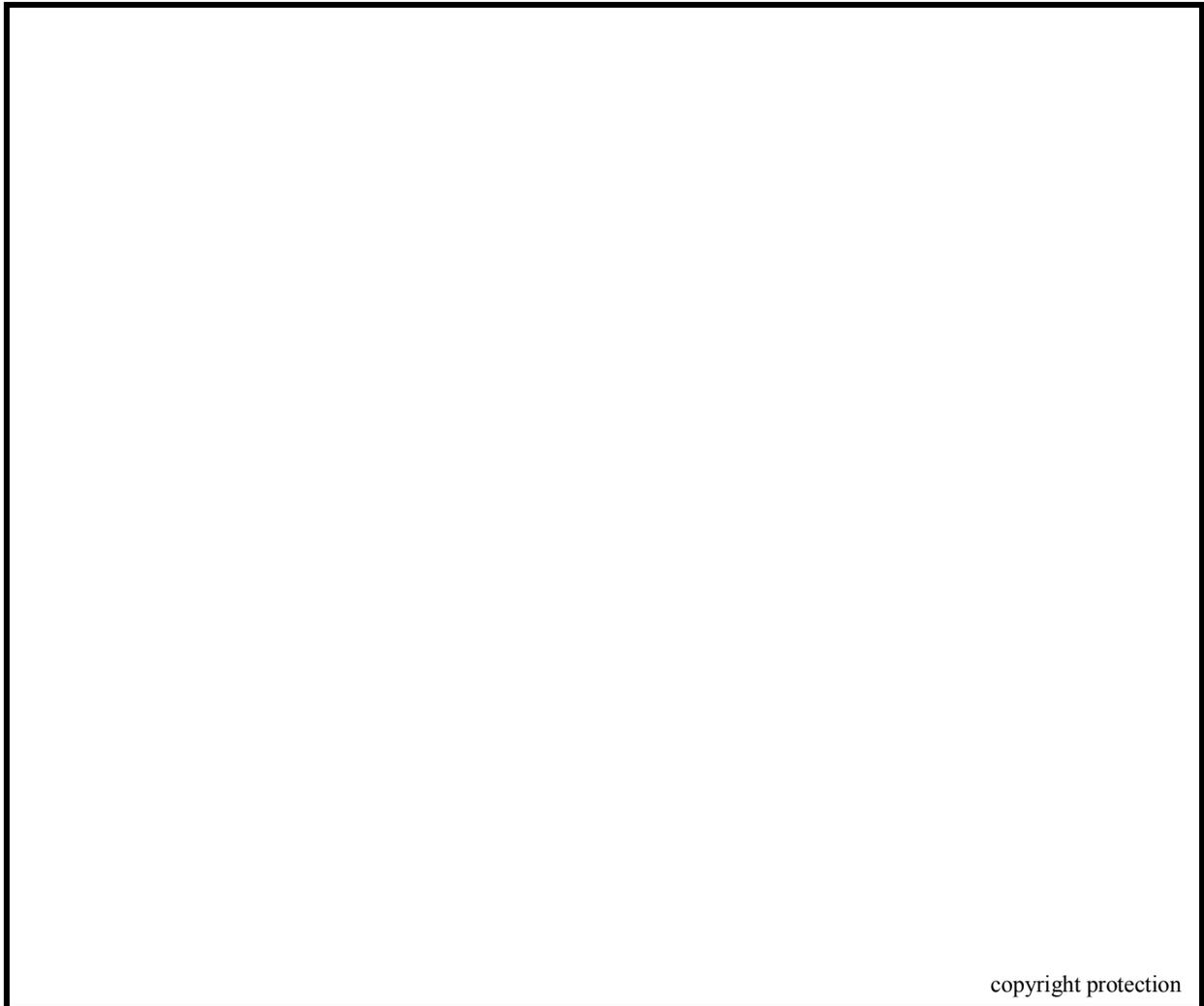
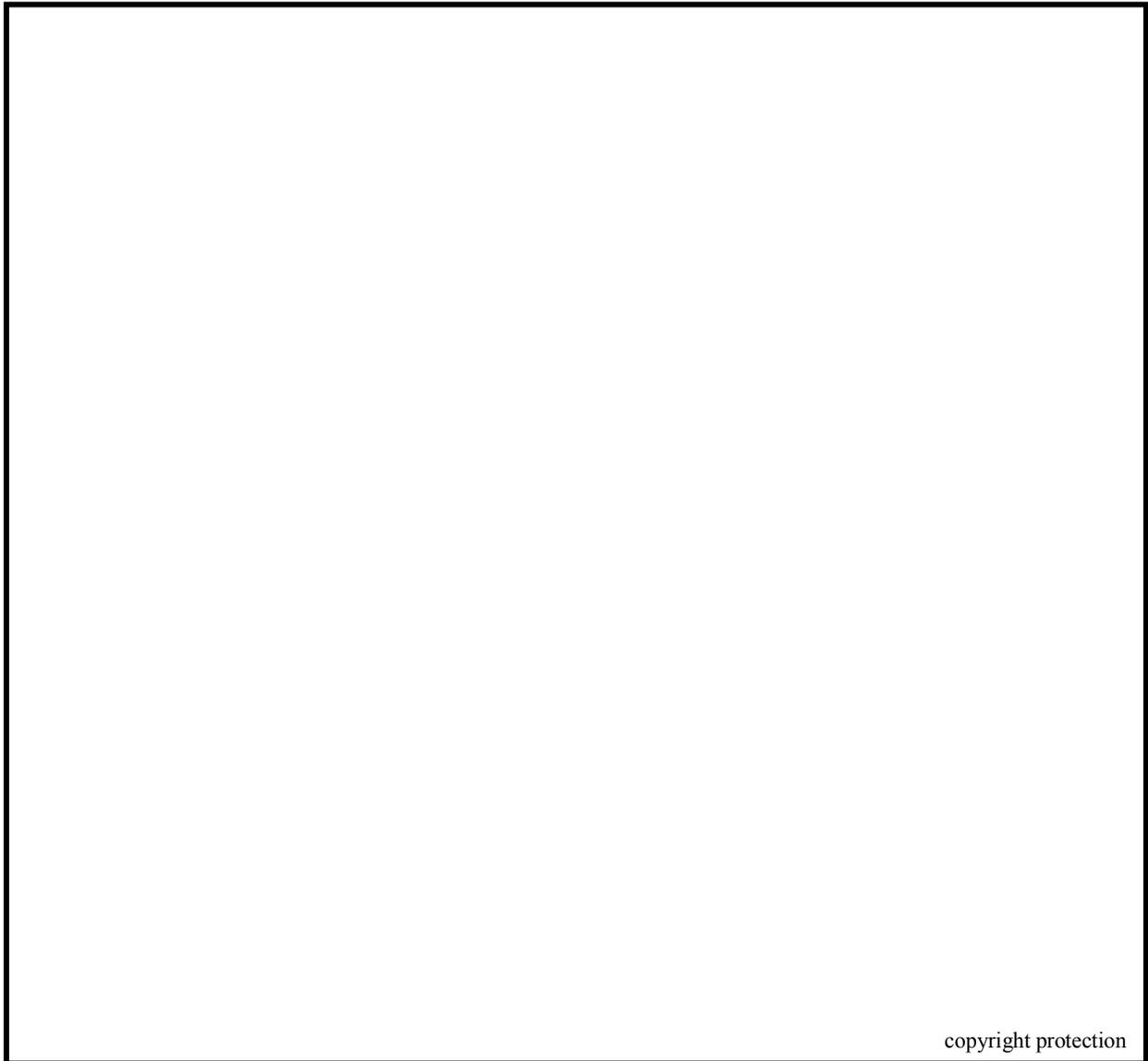


Abbildung 9: Flowchart der SITAGRAMI-Studie.<sup>20</sup>

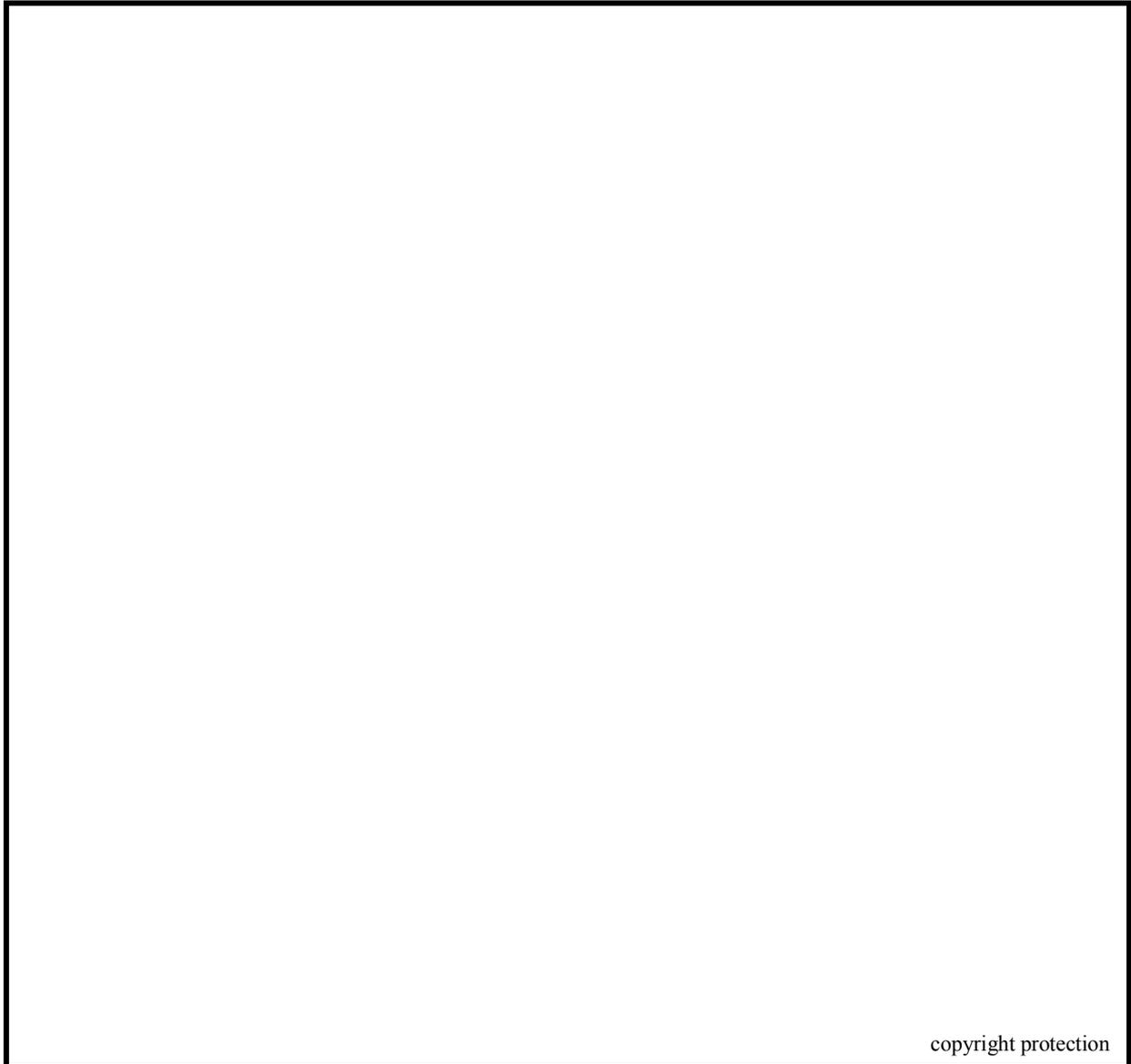
Tabelle 1 zeigt die Patientencharakteristika der *intention-to-treat* Population. Die Patienten zeigten eine vergleichbare Verteilung hinsichtlich Alter, Geschlecht, kardiovaskulärer Risikofaktoren, Zielläsion, invasiver Infarktbehandlung und der Medikation.



*Tabelle 1: Patientencharakteristika der intention-to-treat-Population.<sup>20</sup> GS =*

*Verumgruppe*

In der Verlaufskontrolle nach 6 Monaten zeigten sich keine Unterschiede von primärem und sekundären Endpunkten zwischen den Gruppen. Tabelle 2 listet die im MRT-erhobenen primären und sekundären Endpunkte auf. Auch hinsichtlich der MACE zeigte sich schlussendlich kein Unterschied zwischen den Gruppen (Abb. 10).



copyright protection

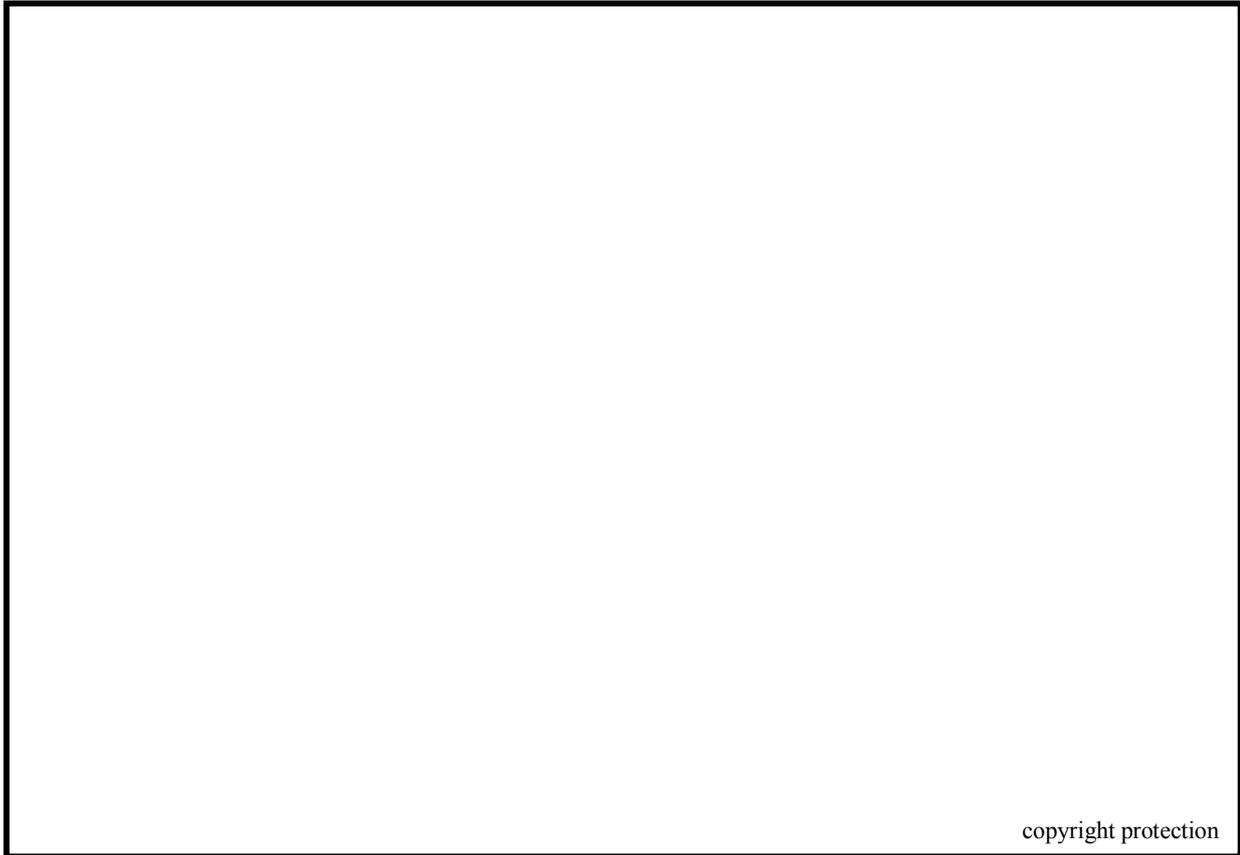
*Tabelle 2: MRT-Messungen der intention-to-treat-Population bei Einschluss sowie der 6-Monats-Verlaufskontrolle.<sup>20</sup> GS = Verumgruppe*

*a Mittelwerte (mit 95% CI) wurden für kontinuierliche Variablen und Proportionen (mit Clopper-Pearson 95% CI) für kategoriale Variablen dargestellt.*

*b Präspezifizierter kombinierter Endpunkt zur Evaluation des maximalen Unterschieds der EF für Patienten mit late gadolinium enhancement bei Einschluss (Austausch von  $\Delta$ LVEF mit  $\Delta$ RVEF in 14 Patienten beider Gruppen)*

*c Odds Ratio (mit 95% CI) wurde mit gepaarten Gruppen kalkuliert*

*d Präspezifizierte Subgruppenanalyse gemäß Protokoll*



*Abbildung 10: Time-to-event-Kurven für kombinierte MACE für Patienten in der Verum- (GS) und der Placebogruppe.<sup>20</sup>*

Zusammenfassend zeigte die SITAGRAMI-Studie, dass die duale Stammzelltherapie bei Patienten mit Z.n. AMI zu keiner Verbesserung der myokardialen Funktion oder zu einer Reduktion der MACE führte.

Zur weiteren Evaluation möglicher Langzeit-Effekte nach dualer Stammzelltherapie führten wir eine Langzeit-Verlaufsbeobachtung nach im Median 4,5 (3,6-6,0) Jahren durch. Für diese Untersuchung wurden ein kombinierter primärer Endpunkt bestehend aus Tod, AMI und Schlaganfall sowie ein kombinierter kardiovaskulärer Endpunkt bestehend aus Tod, AMI, Schlaganfall, Bypass-OP, koronare Re-Intervention oder Hospitalisierung wegen instabiler AP gewählt. Die Datenerhebung wurde dabei entweder mittels Visite oder per Telefonanruf durchgeführt.

Nach einer medianen Beobachtungszeit von 4,5 Jahren zeigte sich kein Unterschied im kombinierten primären Endpunkt bestehend aus Tod, AMI oder Schlaganfall. Ebenso zeigte sich kein Unterschied in der Sterberate jeder Ursache (Abb. 11).

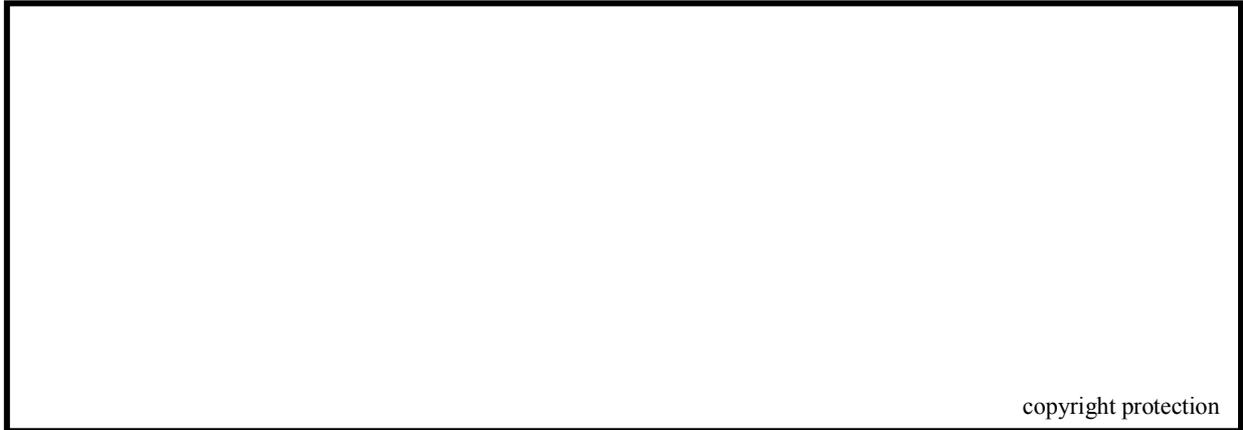


Abbildung 11: Kaplan-Meier-Kurven für den primären Endpunkt (links) sowie Tod jeder Ursache. GS = Verumgruppe.<sup>32</sup>

Auch bei dem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt (Tod, AMI, Schlaganfall, Bypass-OP, koronare Re-Intervention oder Hospitalisierung wegen instabiler AP) zeigte sich kein Unterschied zwischen den Gruppen (Abb. 12). Tabelle 3 fasst die unterschiedlichen kardiovaskulären Events für beide Gruppen zusammen.



Abbildung 12: Kaplan-Meier-Kurve des kombinierten kardiovaskulären Endpunktes bestehend aus Tod, AMI, Schlaganfall, Bypass-OP, koronare Re-Intervention oder Hospitalisierung wegen instabiler AP. GS = Verumgruppe.<sup>32</sup>



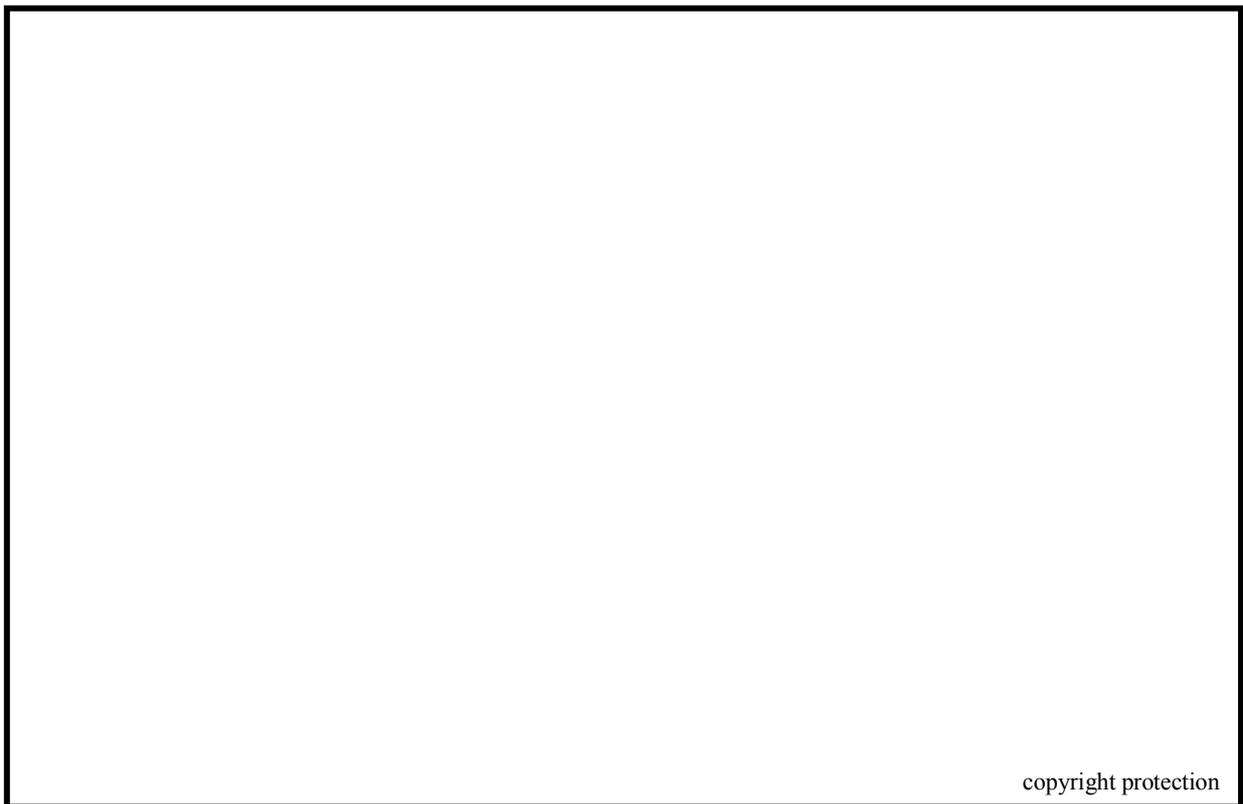
*Tabelle 3: Darstellung der einzelnen kardiovaskulären Events beider Gruppen. Die statistische Auswertung erfolgte mittels Chi-Quadrat-Test oder Fisher's exact test. GS = Verumgruppe.<sup>32</sup>*

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die duale Stammzelltherapie keine Auswirkung auf die Langzeitprognose von Patienten mit AMI hat. Eine Limitation hierbei ist, dass die SITAGRAMI-Studie nicht für klinische Endpunkte, sondern für MRT-Endpunkte gepowert war. Trotz der negativen Ergebnisse ist die SITAGRAMI-Studie weiterhin die weltweite größte Studie zur pharmakologischen Mobilisation von Stammzellen zum Zweck der Förderung kardialer Reparaturmechanismen.

Der AMI führt zum Untergang von Herzmuskelgewebe, das durch Fibroblasten ersetzt wird.<sup>33</sup> Parakrine und hormonelle Effekte sowie Veränderungen von Druckverhältnissen im Ventrikel nach Myokardinfarkt führen zusätzlich zu reaktiver Fibrose und komplettieren somit den Prozess des negativen Remodelings.<sup>33,34</sup> In präklinischen als auch klinischen Studien konnte gezeigt werden, dass die microRNAs miR-1, miR-21, miR-29b sowie miR-92a mechanistisch in das negative Remodeling involviert sind.<sup>35-38</sup> Wir untersuchten deshalb die diagnostische und prognostische Relevanz dieser microRNAs für das negative Remodeling bei 44 Patienten mit AMI aus dem SITAGRAMI-Kollektiv. Als Kontrollen wurden Probanden ohne KHK gewählt, die in Bezug auf Alter, Geschlecht und kardiovaskuläre Risikofaktoren mit dem AMI-Kollektiv vergleichbar waren. Tabelle 4 zeigt die Patientencharakteristika der 44 Patienten mit AMI sowie der 18 Kontrollen auf.



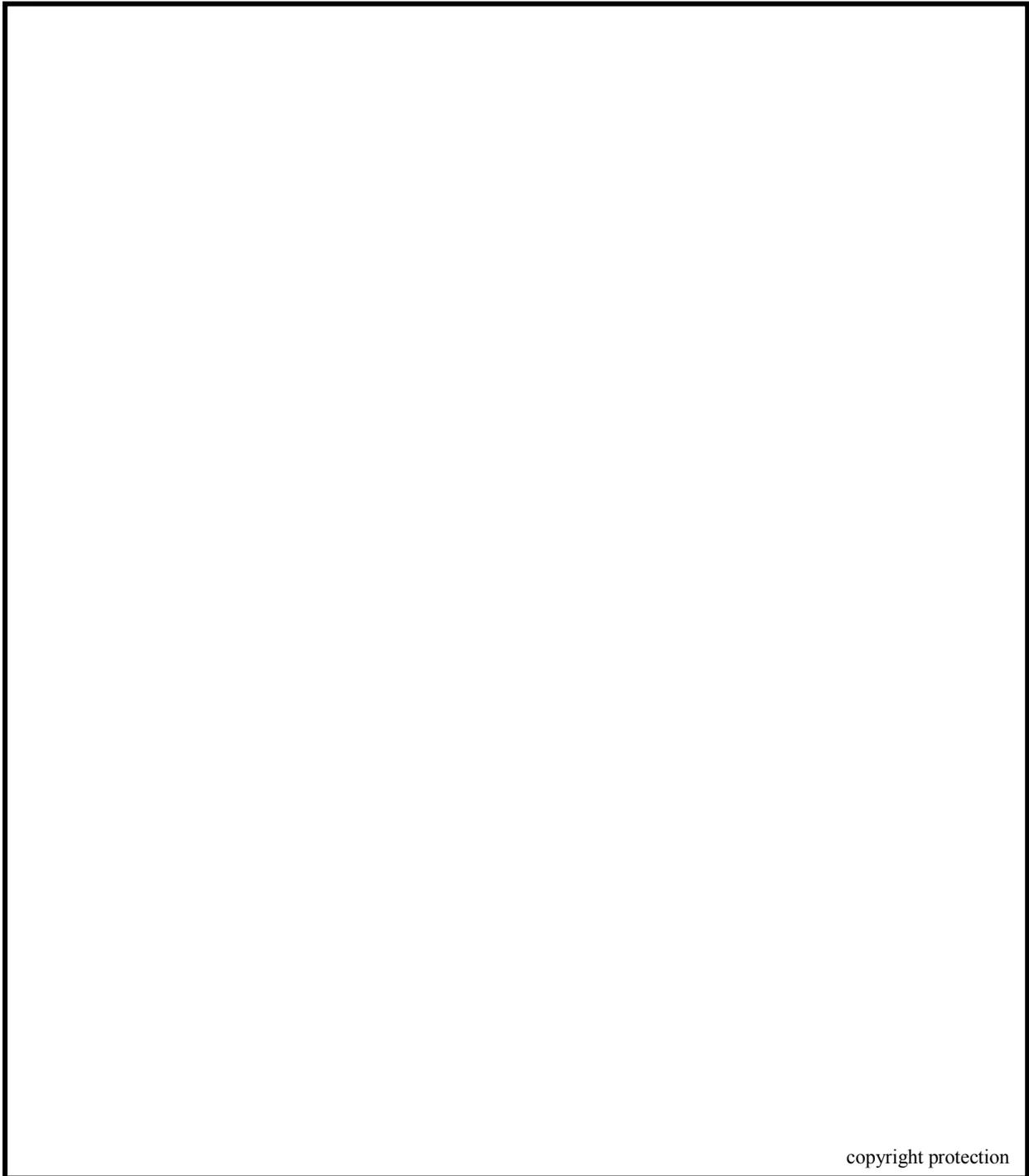
*Tabelle 4: Patientencharakteristika der Patienten mit AMI sowie der Kontrollgruppe sowie Infarktcharakteristika der AMI-Gruppe.<sup>39</sup>*



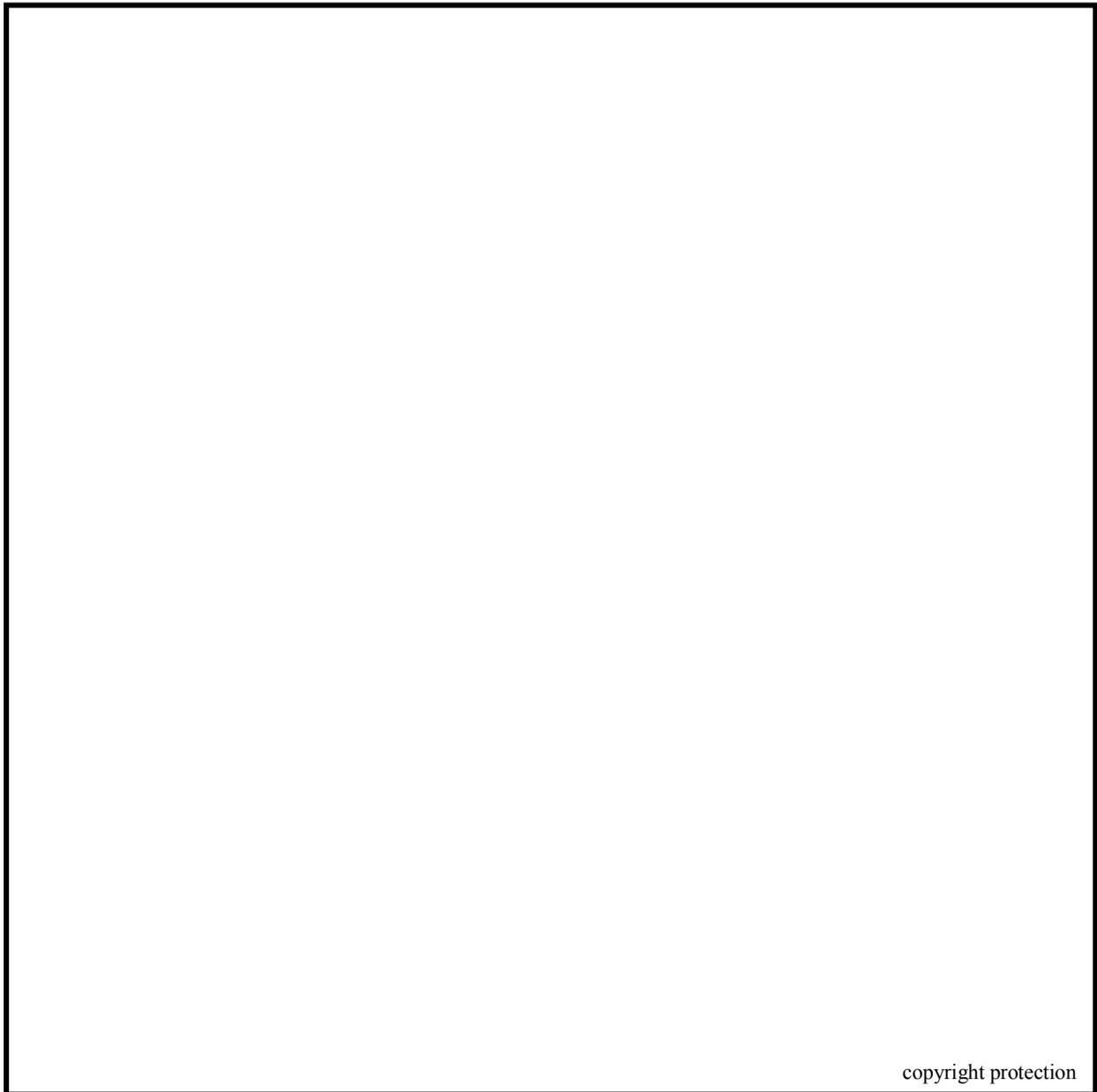
*Abbildung 13: Plasmakonzentrationen von miR-1, miR-21, miR-29b und mi-R92. Sowohl (A) miR-1 als auch (B) miR-21 sowie (C) miR-29b zeigten einen ähnlichen Zeitverlauf mit der stärksten Expression 9 Tage nach AMI sowie erhöhte Konzentrationen auch 6 Monate nach AMI auf. (D) miR-92 wies im Vergleich zu gesunden Kontrollen keine veränderte Plasmakonzentration nach AMI auf. Kontrollen: n = 18; post-AMI-Gruppe: n = 44. Für miR-1: \* = p < 0,001; für miR-21 und miR-29b: \* = p < 0,01.<sup>39</sup>*

MicroRNA miR-1, miR-21 sowie miR-29b zeigten einen relevanten Anstieg nach AMI sowie an allen gemessenen Zeitpunkten im Verlauf. miR-92 zeigte keine gesteigerte Expression in unserem AMI-Kollektiv, weshalb im Folgenden nur miR-1, miR-21 sowie miR-29b mit Parametern für negatives Remodeling und kardialen Endpunkten korreliert wurden (Abb. 13). Alsdann untersuchten wir, ob die Plasmakonzentrationen von miR-1, miR-21 sowie miR-29b mit dem Grad des negativen Remodelings korrelieren. Folgende MRT-Parameter wurden hierfür ausgewählt: die absolute Veränderung des Infarktolumens über die Zeit ( $\Delta IV = IV_{6\text{-mo-FU}} - IV_{\text{baseline}}$ ), die absolute Veränderung des linksventrikulären Volumens über die Zeit ( $\Delta LVEDV = LVEDV_{6\text{-mo-FU}} - LVEDV_{\text{baseline}}$ ) sowie die absolute Veränderung der linksventrikulären Ejektionsfraktion über die Zeit ( $\Delta EF = EF_{6\text{-mo-FU}} - EF_{\text{baseline}}$ ).

Es zeigte sich eine signifikante negative Korrelation der 6 Monate nach AMI gemessenen Plasmakonzentrationen von miR-1 sowie miR-29b mit  $\Delta IV$ . Patienten mit höheren Werten von miR-1 sowie miR-29b 6 Monate nach AMI wiesen somit ein reduziertes negatives Remodeling – gemessen an der absoluten Zunahme des Infarktolumens - auf (Abb. 14A). Die microRNA miR-21 zeigte im Gegensatz zu miR-1 und miR-29b jedoch keinen diagnostischen Wert bzgl. der absoluten Zunahme des Infarktolumens auf (Abb. 14A). Es zeigte sich keine Korrelation der Plasmakonzentrationen aller microRNAs mit der absoluten Veränderung der EF nach 6 Monaten. (Abb. 14B). miR-29b wies auch einen prognostischen Wert 9 Tage nach AMI auf: Es zeigte sich eine signifikante negative Korrelation mit der absoluten Zunahme der linksventrikulären enddiastolischen Volumina 6 Monate nach AMI auf. Patienten die demnach höhere Plasmakonzentrationen von miR-29b an Tag 9 nach AMI aufwiesen, hatten eine geringere Zunahme von LVEDV 6 Monate nach Infarkt zu verzeichnen (Abb. 14C)



*Abbildung 14: Regressionsanalysen. (A) Diagnostischer Wert von miR-1 und miR-29b hinsichtlich der absoluten Zunahme des Infarkt Volumens 6 Monate nach AMI. (B) Es zeigt sich keine Korrelation der Plasmakonzentrationen mit der absoluten Veränderung der Ejektionsfraktion. (C) Prognostischer Wert von miR-29b hinsichtlich der absoluten Veränderung der linksventrikulären enddiastolischen Volumina. N = 44 für alle Korrelationen. N.s. = nicht signifikant.<sup>39</sup>*



*Abbildung 15: Korrelation der microRNA-Plasmakonzentrationen mit einem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt. N = 44 für alle Korrelationen.<sup>39</sup>*

Schlussendlich untersuchten wir mögliche Korrelationen der Plasmakonzentrationen der microRNAs mit einem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt. Keine der untersuchten und 4 Tage (Abb. 15A) oder 6 Monate (Abb. 15B) nach AMI gemessenen microRNA-Konzentrationen zeigte dabei eine Korrelation mit den klinischen Endpunkten.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass miR-1 sowie miR-29b einen diagnostischen Wert hinsichtlich des negativen Remodelings aufwiesen: Höhere Plasmakonzentrationen von

miR-1 und miR-29b korrelierten mit reduziertem negativem Remodeling. Zudem konnte für miR-29b ein prognostischer Wert nachgewiesen werden: Höhere Plasmakonzentrationen von miR-29b 9 Tage nach AMI prognostizierten ein reduziertes negatives Remodeling 6 Monate nach AMI. Es zeigten sich jedoch keine Korrelationen mit dem LVEF-Verlauf sowie mit klinischen Endpunkten.

### **Die nicht-selektive prähospitaler Gabe von Aspirin und Heparin bei Patienten mit extrahospitaler kardiopulmonaler Reanimation:**

Patienten mit akuter Herzinsuffizienz schwerster Ausprägung können in einen kardiogenen Schock geraten.<sup>1</sup> Der Herzstillstand mit Notwendigkeit der kardiopulmonalen Reanimation stellt dabei die Maximalform dar. In westlichen Ländern werden jedes Jahr ca. 84-115 Individuen pro 100.000 Einwohner extrahospital reanimiert (*out-of-hospital cardiac arrest*, OHCA), die Sterberate innerhalb des Krankenaufenthaltes liegt dabei in dieser Kohorte bei ca. 90%.<sup>40,41</sup> Bis dato konnte keine medikamentöse Maßgabe im prähospitalen Setting zeigen, dass sie das Überleben der Patienten verbessert. Epinephrin und Amiodaron, die einzigen Medikamente, die namentlich im *advanced life support*-Algorithmus genannt werden, hatten laut einer Metaanalyse (Epinephrin) sowie einer randomisierten Studie (Amiodaron) keine positive Auswirkung auf das Überleben.<sup>42-44</sup>

Der AMI ist die häufigste Ursache für die extrahospitaler kardiopulmonaler Reanimation.<sup>45</sup> Die Gabe von Aspirin und Heparin ist essentiell in der Therapie des AMI. Zuletzt konnte gezeigt werden, dass die prähospitaler Gabe einer Kombination aus Aspirin und Heparin den koronaren Fluss im Zielgefäß entscheidend verbessert. Ein Einfluss auf das Überleben konnte bisher jedoch nicht gezeigt werden.<sup>46</sup>

Wir untersuchten, ob die nicht-selektive prähospitaler Gabe von Aspirin und Heparin (AH) das Überleben von Patienten mit OHCA verbessern kann und ob hierunter eine erhöhte Blutungsrate zu verzeichnen ist.

Hierzu werteten wir retrospektiv die Daten von 527 Patienten mit OHCA aus, die zwischen den Jahren 2003 bis 2016 an den beiden Standorten der Klinik der Universität München nach Kreislaufstillstand behandelt wurden. Der primäre Endpunkt war Überleben bis zur Entlassung aus dem Krankenhaus, der Sicherheitsendpunkt waren Blutungen mit einem Bleeding Academic Research Consortium (BARC) Score von  $\geq 2$ .

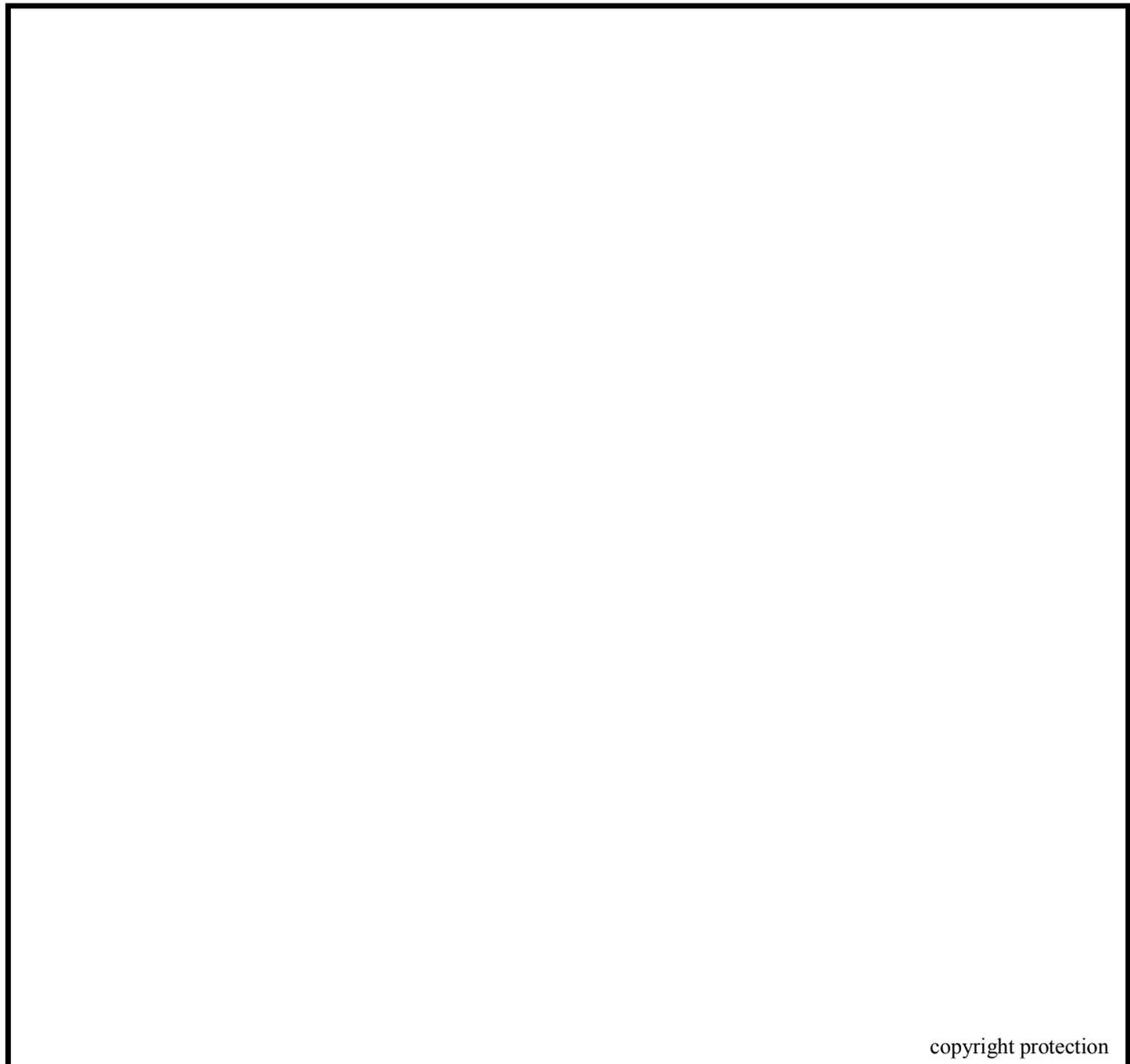


Abbildung 16: Studienflussdiagramm.<sup>47</sup>

Die Gruppen wurden wie folgt definiert: Jene Patienten, die AH prähospital erhalten hatten wurden mit Patienten verglichen, die kein AH prähospital erhalten hatten. Aufgrund der heterogenen Verteilung der Patienten hinsichtlich relevanter Variablen wie defibrillierbarer

Rhythmus, Dauer der fehlenden Durchblutung sowie beobachteter Kollaps wurden die Patienten mittels *propensity score matching* so auf die Gruppen verteilt, dass diese Variablen sowie Alter und Geschlecht gleichmäßig verteilt waren. Auf diese Weise konnten insgesamt 384 Patienten ausgewertet werden. Abbildung 16 zeigt das Studienflussdiagramm.

Abbildung 17 zeigt das kumulative 30-Tage-Überleben in der *propensity-score-matched* Population stratifiziert nach AH Gabe. Das Überleben bis zur Krankenhausentlassung war in der AH-Gruppe signifikant höher als in der nicht-AH-Gruppe (59.4% vs. 34.0%;  $p < 0.001$ , Abb. 17).

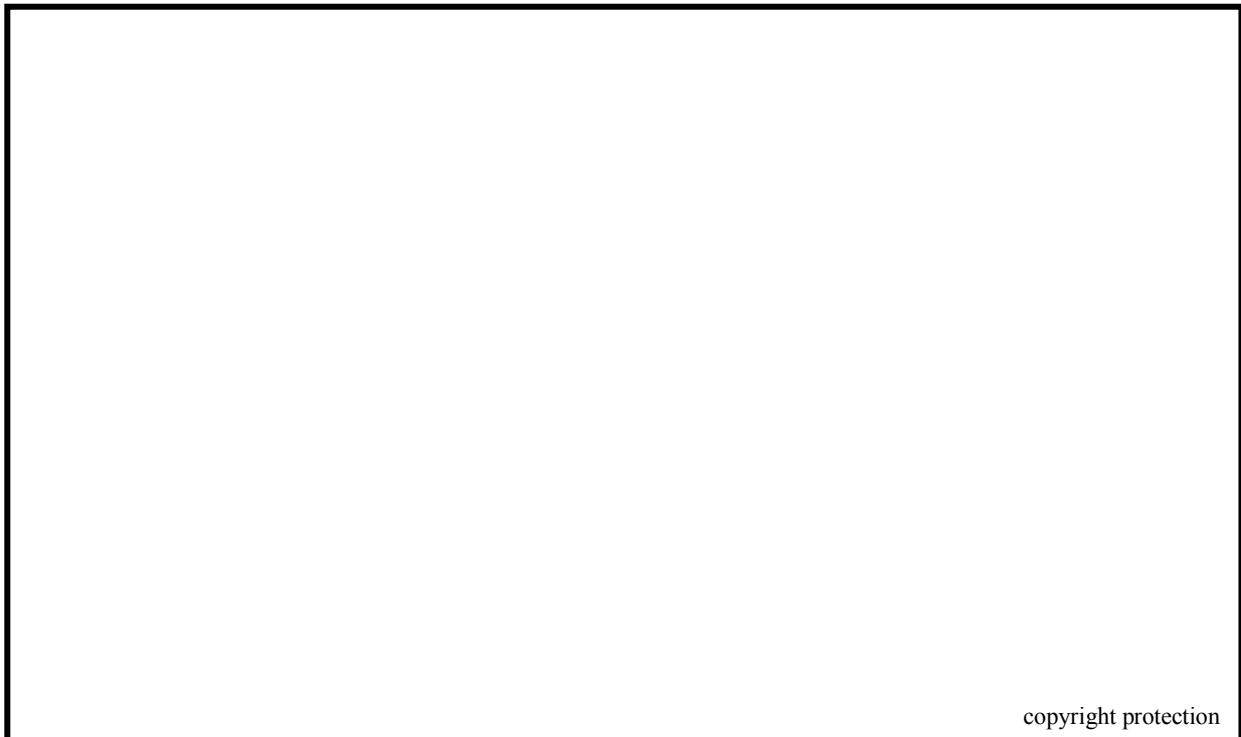


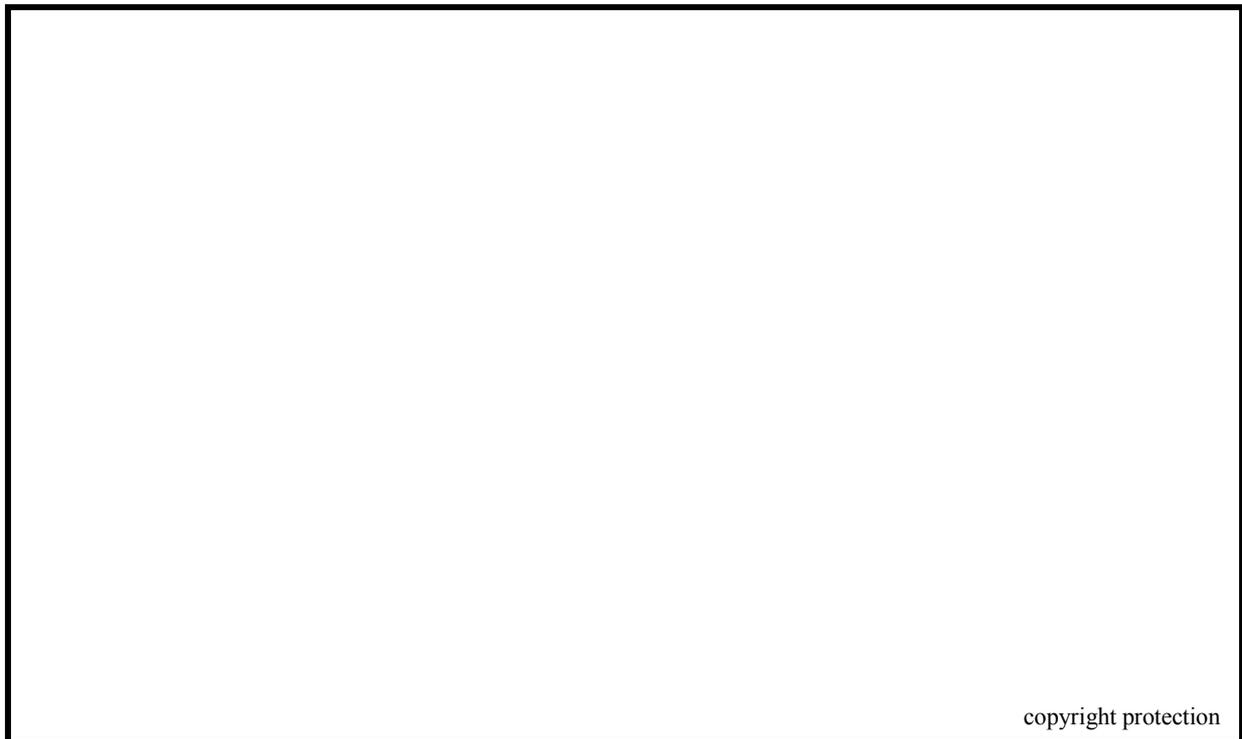
Abbildung 17: Die Kaplan-Meier-Kurve stellt das kumulative 30-Tage Überleben in beiden Gruppen dar.<sup>47</sup>

In der uni- als auch in der multivariablen Cox-Regressionsanalyse zeigte sich, dass die prähospitalen AH-Gabe in dieser Kohorte den einzigen Prädiktor für Überleben darstellt (Tab. 5).



*Tabelle 5: Uni- und multivariable Cox-Regressionsanalyse. Sowohl in der uni- als auch in der multivariablen Cox-Regressionsanalyse ist die prähospitalen AH-Gabe der einzige Prädiktor für Überleben.<sup>47</sup>*

In der Subgruppenanalyse zeigte sich eine signifikante Interaktion mit einem Alter  $\leq 65$  Jahren sowie mit der Diagnose AMI (Abb. 18).



*Abbildung 18: Subgruppenanalyse. Es zeigt sich eine signifikante Interaktion mit dem Alter  $\leq 65$  sowie mit der Diagnose AMI.<sup>47</sup>*

Es besteht also zusammenfassend eine Korrelation zwischen einer prähospitalen, nicht-selektiven AH-Gabe mit Überleben bei Patienten mit OHCA. Aufgrund der lediglich retrospektiven Datenanalyse ist die Aussage jedoch nur Hypothesen-generierend. Ob die prähospitale, nicht-selektive Gabe von AH das Überleben von Patienten mit OHCA tatsächlich verbessert, muss mittels randomisierter klinischer Studien verifiziert werden.

#### 4. Ausblick

Die im Rahmen dieser Habilitation gewonnene Erfahrung mit dem EAM-Tiermodell wird für die Evaluation neuer Therapiemechanismen für die DCMi verwendet. So untersucht unsere Arbeitsgruppe gerade die Rolle des Zytokins Midkine im Rahmen der EAM. Midkine scheint wesentlich am Entzündungsprozess sowie auch am durch die Entzündungsreaktion induzierten negativen Remodeling sowie an der Verschlechterung der myokardialen Funktion beteiligt zu sein. Erste Versuche mit einem Midkine-Antikörper im EAM-Tiermodell zeigten hier bereits protektive Effekte, müssen jedoch weiter verifiziert werden.

Zudem ist ein Antrag an das Deutsche Zentrum für Herz-Kreislaufforschung (DZHK) zur Durchführung einer randomisierten klinischen Studie zur Überprüfung der Wirksamkeit einer Immunsuppression bei Patienten mit DCMi in Planung. Hierdurch soll die Evidenz, die bis dato durch eine kleine randomisierte doppelblinde monozentrische Studie sowie eine randomisierte nicht verblindete Studie generiert wurde, weiter ausgebaut werden.<sup>48,49</sup>

Schlussendlich sollen die vielversprechenden retrospektiven Ergebnisse zur Assoziation einer nicht-selektiven prähospitalen Aspirin und Heparin -Gabe mit dem Überleben von Patienten mit OHCA anhand einer randomisierten, doppelblinden, placebo-kontrollierten Studie verifiziert werden. Hierfür ist ein Antrag an das Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geplant.

## 5. Zusammenfassung

Trotz deutlicher Fortschritte auf dem Feld der medikamentösen sowie interventionellen Therapie für Patienten mit Herzinsuffizienz bleibt die Herzinsuffizienz weiterhin eine der häufigsten Todesursachen in westlichen Ländern. Dies unterstreicht die Notwendigkeit neuer, besserer Diagnostik- und Therapiemöglichkeiten, insbesondere um die unterschiedlichen Ursachen der Herzinsuffizienz besser adressieren zu können.

In der vorliegenden Habilitationsschrift wurden sowohl präklinische als auch klinische Ansätze zur Verbesserung von Diagnostik und Therapie der Herzinsuffizienz ausgearbeitet.

Zunächst untersuchten wir die Rolle der VCAM-1/VLA-4 Achse für das Homing von Knochenmarkstammzellen im Rahmen der murinen CVB3-induzierten Kardiomyopathie. Wir konnten zeigen, dass EPC diese Achse zur Migration in das entzündete Myokard nutzen und eine gesteigerte Mobilisation dieser Stammzellen in das periphere Blut mittels G-CSF im Tiermodell der CVB3-induzierten DCMi zu einer reduzierten Apoptose, Fibrosierung sowie zu einer gesteigerten myokardialen Funktion führt.

Zudem konnten wir zeigen, dass VCAM-1 im Myokard auch bei rein immunologisch getriggerten myokardialen Entzündungen – wie z.B. im Rahmen der EAM – verstärkt exprimiert sowie in seiner löslichen Form sVCAM-1 in das periphere Blut abgegeben wird. Zur Beantwortung der Frage, ob diese Expression sowie Ausschüttung mit dem Grad der myokardialen Inflammation korreliert, wurden die Konzentrationen von VCAM-1 sowie sVCAM-1 mit unterschiedlichen Parametern einer akuten Inflammation sowie Chronifizierung der Erkrankung korreliert. Dabei konnte keine Korrelation der VCAM-1-Expression oder Ausschüttung mit histologischen, serologischen oder funktionellen Parametern im EAM-Tiermodell gezeigt werden.

Bis dato gibt es keine therapeutischen Möglichkeiten kontraktiles Gewebe zu regenerieren, um nach Myokardinfarkt die Ausbildung einer Herzinsuffizienz zu verhindern. Wir evaluierten

präklinisch erhobene Ergebnisse zur Effektivität einer endogenen Stammzelltherapie nach AMI anhand einer randomisierten klinischen Studie. Hierzu schlossen wir 174 Patienten in die SITAGRAMI-Studie ein und verglichen eine Therapie mit Sitagliptin plus G-CSF (duale Stammzelltherapie) mit einer Placebothherapie. Funktionelle und klinische Parameter wurden nach 6 Monaten mittels MRT erhoben. Die duale Stammzelltherapie zeigte im Vergleich zu Placebo keine Besserung der myokardialen Funktion sowie klinischer Endpunkte im 6-Monats-Follow-Up sowie im Langzeit-Follow-Up.

Anhand des SITAGRAMI-Kollektivs sowie eines kardial gesunden Kontrollkollektivs konnten microRNAs bestimmt werden, die in Bezug auf das negative Remodeling diagnostische und prognostische Aussagekraft besitzen. So zeigten miR-1 sowie miR-29b eine negative Korrelation mit Parametern für das negative Remodeling 6 Monate nach AMI. Hohe miR-29b Plasmakonzentrationen wenige Tage nach Infarkt konnten zudem mit reduziertem negativen Remodeling nach 6 Monaten korreliert werden.

Der plötzliche Herzkreislaufstillstand stellt die Maximalform des kardiogenen Schocks im Rahmen einer akuten Herzinsuffizienz dar. Die extrahospitale Reanimation von Patienten mit plötzlichem Herzkreislaufstillstand geht mit einer hohen Sterblichkeit einher. Der Myokardinfarkt ist die häufigste Ursache für eine extrahospitale Reanimation, wird jedoch im prähospitalen Setting nicht regelhaft mit Aspirin und Heparin therapiert, obwohl beide Medikamente Eckpfeiler der Herzinfarkttherapie darstellen. In einer retrospektiven Analyse von 527 Patienten mit extrahospitaler Reanimation konnten wir zeigen, dass die nicht-selektive prähospitaler Gabe von Aspirin und Heparin zu einem verbesserten Überleben führte, ohne dabei die Blutungsrate zu erhöhen. Subgruppenanalysen zeigten dabei auf, dass wie erwartet v.a. Patienten mit Myokardinfarkt als Ursache für den Herzkreislaufstillstand von dieser Therapie zu profitieren schienen. Es bedarf jedoch weiterer randomisierter klinischer Studien, um den Effekt einer nicht-selektiven prähospitalen Gabe von Aspirin und Heparin bei Patienten mit extrahospitaler Reanimation überprüfen zu können.

## 6. Literaturverzeichnis:

1. Ponikowski P, Voors AA, Anker SD, et al. 2016 ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure: The Task Force for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2016;37(27):2129-2200.
2. Davie AP, Francis CM, Caruana L, Sutherland GR, McMurray JJ. Assessing diagnosis in heart failure: which features are any use? *QJM*. 1997;90(5):335-339.
3. Rutten FH, Moons KG, Cramer MJ, et al. Recognising heart failure in elderly patients with stable chronic obstructive pulmonary disease in primary care: cross sectional diagnostic study. *BMJ*. 2005;331(7529):1379.
4. Davie AP, Francis CM, Love MP, et al. Value of the electrocardiogram in identifying heart failure due to left ventricular systolic dysfunction. *BMJ*. 1996;312(7025):222.
5. Kirkpatrick JN, Vannan MA, Narula J, Lang RM. Echocardiography in heart failure: applications, utility, and new horizons. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50(5):381-396.
6. Roberts E, Ludman AJ, Dworzynski K, et al. The diagnostic accuracy of the natriuretic peptides in heart failure: systematic review and diagnostic meta-analysis in the acute care setting. *BMJ*. 2015;350:h910.
7. Maisel A, Mueller C, Adams K, Jr., et al. State of the art: using natriuretic peptide levels in clinical practice. *Eur J Heart Fail*. 2008;10(9):824-839.
8. Krishnaswamy P, Lubien E, Clopton P, et al. Utility of B-natriuretic peptide levels in identifying patients with left ventricular systolic or diastolic dysfunction. *Am J Med*. 2001;111(4):274-279.

9. Gonzalez JA, Kramer CM. Role of Imaging Techniques for Diagnosis, Prognosis and Management of Heart Failure Patients: Cardiac Magnetic Resonance. *Curr Heart Fail Rep.* 2015;12(4):276-283.
10. Cooper LT, Baughman KL, Feldman AM, et al. 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 America and the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J.* 2007;28(24):3076-3093.
11. Jolicœur EM, Dunning A, Castelvechio S, et al. Importance of angina in patients with coronary disease, heart failure, and left ventricular systolic dysfunction: insights from STICH. *J Am Coll Cardiol.* 2015;66(19):2092-2100.
12. Sicari R, Nihoyannopoulos P, Evangelista A, et al. Stress Echocardiography Expert Consensus Statement--Executive Summary: European Association of Echocardiography (EAE) (a registered branch of the ESC). *Eur Heart J.* 2009;30(3):278-289.
13. Kempf T, Bavendiek U, Bauersachs J. [New pharmacologic therapies for chronic heart failure]. *Internist (Berl).* 2017;58(9):990-999.
14. Pitt B, Pfeffer MA, Assmann SF, et al. Spironolactone for heart failure with preserved ejection fraction. *N Engl J Med.* 2014;370(15):1383-1392.
15. Solomon SD, Claggett B, Lewis EF, et al. Influence of ejection fraction on outcomes and efficacy of spironolactone in patients with heart failure with preserved ejection fraction. *Eur Heart J.* 2016;37(5):455-462.
16. McMurray JJ, Packer M, Desai AS, et al. Angiotensin-neprilysin inhibition versus enalapril in heart failure. *N Engl J Med.* 2014;371(11):993-1004.

17. Statistisches Bundesamt. <https://www.destatis.de/DE/ZahlenFakten/GesellschaftStaat/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/HaeufigsteTodesursachen.html>. Accessed 22.06.2017, 2017.
18. Lund LH, Edwards LB, Kucheryavaya AY, et al. The registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: thirty-first official adult heart transplant report--2014; focus theme: retransplantation. *J Heart Lung Transplant.* 2014;33(10):996-1008.
19. Weckbach LT, Maurer U, Schramm R, et al. Lower frequency routine surveillance endomyocardial biopsies after heart transplantation. *PLoS One.* 2017;12(8):e0182880.
20. Brenner C, Adrion C, Grabmaier U, et al. Sitagliptin plus granulocyte colony-stimulating factor in patients suffering from acute myocardial infarction: A double-blind, randomized placebo-controlled trial of efficacy and safety (SITAGRAMI trial). *Int J Cardiol.* 2016;205:23-30.
21. Buccini S, Haider KH, Ahmed RP, Jiang S, Ashraf M. Cardiac progenitors derived from reprogrammed mesenchymal stem cells contribute to angiomyogenic repair of the infarcted heart. *Basic Res Cardiol.* 2012;107(6):301.
22. Askari AT, Unzek S, Popovic ZB, et al. Effect of stromal-cell-derived factor 1 on stem-cell homing and tissue regeneration in ischaemic cardiomyopathy. *Lancet.* 2003;362(9385):697-703.
23. Theiss HD, David R, Engelmann MG, et al. Circulation of CD34+ progenitor cell populations in patients with idiopathic dilated and ischaemic cardiomyopathy (DCM and ICM). *Eur Heart J.* 2007;28(10):1258-1264.
24. Kandolf R, Hofschneider PH. Molecular cloning of the genome of a cardiotropic Coxsackie B3 virus: full-length reverse-transcribed recombinant cDNA generates infectious virus in mammalian cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1985;82(14):4818-4822.

25. Brunner S, Theiss HD, Leiss M, et al. Enhanced stem cell migration mediated by VCAM-1/VLA-4 interaction improves cardiac function in virus-induced dilated cardiomyopathy. *Basic Res Cardiol.* 2013;108(6):388.
26. Afanasyeva M, Georgakopoulos D, Rose NR. Autoimmune myocarditis: cellular mediators of cardiac dysfunction. *Autoimmun Rev.* 2004;3(7-8):476-486.
27. Mason JC, Kapahi P, Haskard DO. Detection of increased levels of circulating intercellular adhesion molecule 1 in some patients with rheumatoid arthritis but not in patients with systemic lupus erythematosus. Lack of correlation with levels of circulating vascular cell adhesion molecule 1. *Arthritis Rheum.* 1993;36(4):519-527.
28. Lewis MJ, Vyse S, Shields AM, et al. Improved monitoring of clinical response in Systemic Lupus Erythematosus by longitudinal trend in soluble vascular cell adhesion molecule-1. *Arthritis Res Ther.* 2016;18:5.
29. Grabmaier U, Kania G, Kreiner J, et al. Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) as a Biomarker in the Mouse Model of Experimental Autoimmune Myocarditis (EAM). *PLoS One.* 2016;11(8):e0158299.
30. Wu L, Ong S, Talor MV, et al. Cardiac fibroblasts mediate IL-17A-driven inflammatory dilated cardiomyopathy. *J Exp Med.* 2014;211(7):1449-1464.
31. Zaruba MM, Theiss HD, Vallaster M, et al. Synergy between CD26/DPP-IV inhibition and G-CSF improves cardiac function after acute myocardial infarction. *Cell Stem Cell.* 2009;4(4):313-323.
32. Gross L, Theiss HD, Grabmaier U, et al. Combined therapy with sitagliptin plus granulocyte-colony stimulating factor in patients with acute myocardial infarction - Long-term results of the SITAGRAMI trial. *Int J Cardiol.* 2016;215:441-445.
33. Laflamme MA, Murry CE. Regenerating the heart. *Nat Biotechnol.* 2005;23(7):845-856.

34. Talman V, Ruskoaho H. Cardiac fibrosis in myocardial infarction-from repair and remodeling to regeneration. *Cell Tissue Res.* 2016;365(3):563-581.
35. Xu C, Lu Y, Pan Z, et al. The muscle-specific microRNAs miR-1 and miR-133 produce opposing effects on apoptosis by targeting HSP60, HSP70 and caspase-9 in cardiomyocytes. *J Cell Sci.* 2007;120(Pt 17):3045-3052.
36. Thum T, Gross C, Fiedler J, et al. MicroRNA-21 contributes to myocardial disease by stimulating MAP kinase signalling in fibroblasts. *Nature.* 2008;456(7224):980-984.
37. van Rooij E, Sutherland LB, Thatcher JE, et al. Dysregulation of microRNAs after myocardial infarction reveals a role of miR-29 in cardiac fibrosis. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(35):13027-13032.
38. Hinkel R, Penzkofer D, Zuhlke S, et al. Inhibition of microRNA-92a protects against ischemia/reperfusion injury in a large-animal model. *Circulation.* 2013;128(10):1066-1075.
39. Grabmaier U, Clauss S, Gross L, et al. Diagnostic and prognostic value of miR-1 and miR-29b on adverse ventricular remodeling after acute myocardial infarction - The SITAGRAMI-miR analysis. *Int J Cardiol.* 2017;244:30-36.
40. Writing Group M, Mozaffarian D, Benjamin EJ, et al. Executive Summary: Heart Disease and Stroke Statistics--2016 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation.* 2016;133(4):447-454.
41. Grasner JT, Lefering R, Koster RW, et al. EuReCa ONE-27 Nations, ONE Europe, ONE Registry: A prospective one month analysis of out-of-hospital cardiac arrest outcomes in 27 countries in Europe. *Resuscitation.* 2016;105:188-195.
42. Soar J, Nolan JP, Bottiger BW, et al. European Resuscitation Council Guidelines for Resuscitation 2015: Section 3. Adult advanced life support. *Resuscitation.* 2015;95:100-147.

43. Kudenchuk PJ, Brown SP, Daya M, et al. Amiodarone, Lidocaine, or Placebo in Out-of-Hospital Cardiac Arrest. *N Engl J Med.* 2016;374(18):1711-1722.
44. Patanwala AE, Slack MK, Martin JR, Basken RL, Nolan PE. Effect of epinephrine on survival after cardiac arrest: a systematic review and meta-analysis. *Minerva Anesthesiol.* 2014;80(7):831-843.
45. Spaulding CM, Joly LM, Rosenberg A, et al. Immediate coronary angiography in survivors of out-of-hospital cardiac arrest. *N Engl J Med.* 1997;336(23):1629-1633.
46. Zijlstra F, Ernst N, de Boer MJ, et al. Influence of prehospital administration of aspirin and heparin on initial patency of the infarct-related artery in patients with acute ST elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* 2002;39(11):1733-1737.
47. Grabmaier U, Rizas KD, Berghof J, et al. Association between survival and non-selective prehospital aspirin and heparin administration in patients with out-of-hospital cardiac arrest: a propensity score-matched analysis. *Intensive Care Med.* 2018.
48. Wojnicz R, Nowalany-Kozielska E, Wojciechowska C, et al. Randomized, placebo-controlled study for immunosuppressive treatment of inflammatory dilated cardiomyopathy: two-year follow-up results. *Circulation.* 2001;104(1):39-45.
49. Frustaci A, Russo MA, Chimenti C. Randomized study on the efficacy of immunosuppressive therapy in patients with virus-negative inflammatory cardiomyopathy: the TIMIC study. *Eur Heart J.* 2009;30(16):1995-2002.

## 7. Abkürzungsverzeichnis

AH	Aspirin und Heparin
AMI	Akuter Myokardinfarkt
BARC	Bleeding Academic Research Consortium
CFA	komplettes Freund's Adjuvant
CVB3	Coxsackievirus B3
cVCAM-1	kardiales VCAM-1
CXCR4	<i>CXC chemokine receptor type 4</i>
DCM	dilatative Kardiomyopathie
DCMi	inflammatorische DCM
DPP4	Dipeptidylpeptidase 4
EAM	Experimentelle Autoimmunmyokarditis
EDV	enddiastolisches Volumen
EPC	endotheliale Progenitorzellen
G-CSF	<i>granulocyte-colony stimulating factor</i>
HFmrEF	Herzinsuffizienz mit moderat reduzierter Ejektionsfraktion
HFpEF	Herzinsuffizienz mit erhaltener Ejektionsfraktion
HFrEF	Herzinsuffizienz mit reduzierter Ejektionsfraktion
ICM	ischämische Kardiomyopathie
IL-6	Interleukin 6
ISHLT	<i>The International Society for Heart &amp; Lung Transplantation</i>
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LVEDV	linksventrikuläres enddiastolisches Volumen
MACE	<i>major adverse cardiac events</i>
MMF	Medetomidin, Midazolam, Fentanyl

MMF	Mycophenolatmofetil
MRA	Mineralokortikoidrezeptorantagonist
MRT	Magnetresonanztomographen
mTOR	mammalian target of rapamycin inhibitor
OHCA	out-of-hospital cardiac arrest
PET	Positronen Emissions Tomographie
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
rsEMB	routine surveillance endomyocardial biopsy
SDF-1	<i>stromal cell-derived factor-1</i>
stEMB	symptom-triggered endomyocardial biopsy
SITAGRAMI	Safety and efficacy of SITAgliptin plus GRanulocyte-colony-stimulating factor in patients suffering from Acute Myocardial Infarction
sVCAM-1	lösliches VCAM-1
SVI	Schlagvolumenindex
TAC	Tacrolimus
TGF $\beta$	<i>tumor growth factor <math>\beta</math></i>
VCAM-1	<i>vascular cell adhesion molecule 1</i>

## **8. Danksagung**

Mein Dank gilt vor allem meiner Ehefrau Christine, die mir die vielen Jahre auf dem Weg zur Habilitation zur Seite gestanden ist. Ich danke ebenso meinen Eltern, dass sie mich stets unterstützt und an mich geglaubt haben. Des Weiteren danke ich Stefan Brunner für die fachliche und kollegiale Unterstützung. Ein großer Dank gilt meinem Freund Ludwig Weckbach, der mir in so mancher nachdenklichen Stunde die Freude an wissenschaftlicher Arbeit wiedergeben konnte. Nicht zuletzt danke ich Herrn Professor Massberg für die Möglichkeit an seiner Klinik habilitieren zu dürfen.

## 9. Lebenslauf

### Publikationsverzeichnis

#### *Originalarbeiten:*

Association between survival and non-selective prehospital aspirin and heparin administration in patients with out-of-hospital cardiac arrest: a propensity score-matched analysis.

Grabmaier U\*, Rizas KD\*, Berghof J, Huflaender Y, Wieggers C, Wakili R, Kaspar M, Angstwurm M, Massberg S, Weckbach LT, Brunner S.

Intensive Care Med. 2018 Mar 9. doi: 10.1007/s00134-018-5111-2.

Monitoring of Cardiac Remodeling in a Mouse Model of Pressure-Overload Left Ventricular Hypertrophy with [18F]FDG MicroPET.

Todica A, Beetz NL, Günther L, Zacherl MJ, Grabmaier U, Huber B, Bartenstein P, Brunner S, Lehner S.

Mol Imaging Biol. 2018 Apr;20(2):268-274. doi: 10.1007/s11307-017-1114-6.

Effects of Anacetrapib in Patients with Atherosclerotic Vascular Disease.

HPS3/TIMI55–REVEAL Collaborative Group, Bowman L, Hopewell JC, Chen F, Wallendszus K, Stevens W, Collins R, Wiviott SD, Cannon CP, Braunwald E, Sammons E, Landray MJ.

N Engl J Med. 2017 Sep 28;377(13):1217-1227. doi: 10.1056/NEJMoa1706444. Epub 2017 Aug 28.

Lower frequency routine surveillance endomyocardial biopsies after heart transplantation.

Weckbach LT, Maurer U, Schramm R, Huber BC, Lackermair K, Weiss M, Meiser B, Hagl C, Massberg S, Eifert S, Grabmaier U.

PLoS One. 2017 Aug 25;12(8):e0182880. doi: 10.1371/journal.pone.0182880. eCollection 2017.

Diagnostic and prognostic value of miR-1 and miR-29b on adverse ventricular remodeling after acute myocardial infarction - The SITAGRAMI-miR analysis.

Grabmaier U, Clauss S, Gross L, Klier I, Franz WM, Steinbeck G, Wakili R, Theiss HD, Brenner C.

Int J Cardiol. 2017 Oct 1;244:30-36. doi: 10.1016/j.ijcard.2017.06.054. Epub 2017 Jun 19.

Soluble Vascular Cell Adhesion Molecule-1 (VCAM-1) as a Biomarker in the Mouse Model of Experimental Autoimmune Myocarditis (EAM).

Grabmaier U, Kania G, Kreiner J, Grabmeier J, Uhl A, Huber BC, Lackermair K, Herbach N, Todica A, Eriksson U, Weckbach LT, Brunner S.

PLoS One. 2016 Aug 8;11(8):e0158299. doi: 10.1371/journal.pone.0158299. eCollection 2016.

Retrospective analysis of circulatory support with the Impella CP® device in patients with therapy refractory cardiogenic shock.

Lackermair K, Sattler S, Huber BC, Grabmaier U, Weckbach LT, Bauer A, Theiss HD, Hausleiter J, Mehilli J, Massberg S, Brunner S.

Int J Cardiol. 2016 Sep 15;219:200-3. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.06.023. Epub 2016 Jun 14.

Combined therapy with sitagliptin plus granulocyte-colony stimulating factor in patients with acute myocardial infarction - Long-term results of the SITAGRAMI trial.

Gross L, Theiss HD, Grabmaier U, Adrion C, Mansmann U, Sohn HY, Hoffmann E, Steinbeck G, Franz WM, Brenner C.

Int J Cardiol. 2016 Jul 15;215:441-5. doi: 10.1016/j.ijcard.2016.04.134. Epub 2016 Apr 20.

Sitagliptin plus granulocyte colony-stimulating factor in patients suffering from acute myocardial infarction: A double-blind, randomized placebo-controlled trial of efficacy and safety (SITAGRAMI trial).

Brenner C, Adrion C, Grabmaier U, Theisen D, von Ziegler F, Leber A, Becker A, Sohn HY, Hoffmann E, Mansmann U, Steinbeck G, Franz WM, Theiss HD.

Int J Cardiol. 2016 Feb 15;205:23-30. doi: 10.1016/j.ijcard.2015.11.180. Epub 2015 Nov 30.

FDG-PET reveals improved cardiac regeneration and attenuated adverse remodelling following Sitagliptin + G-CSF therapy after acute myocardial infarction.

Gross L, Paintmayer L, Lehner S, Brandl L, Brenner C, Grabmaier U, Huber B, Bartenstein P, Theiss HD, Franz WM, Massberg S, Todica A, Brunner S.

Eur Heart J Cardiovasc Imaging. 2016 Feb;17(2):136-45. doi: 10.1093/ehjci/jev237. Epub 2015 Sep 28.

Isolation and expansion of cytokeratin positive progenitor cells from adult murine pancreatic ducts expressing Pdx-1, Nestin, Sox9, MafA and hepatic nuclear factors.

Grabmaier U, Rottstegge I, Offers M, Ziegler T, Brenner C, Huber BC, Seissler J.

Minerva Endocrinol. 2017 Mar;42(1):30-40. doi: 10.23736/S0391-1977.16.02351-8. Epub 2015 Sep 3.

Mobilisation of haemopoietic stem cells in teriparatide-treated patients.

Grabmaier U\*, Huber BC\*, Franz WM, Koch E, Brunner S.

Intern Med J. 2015 Aug;45(8):872-6. doi: 10.1111/imj.12830.

Attenuation of cardiac hypertrophy by G-CSF is associated with enhanced migration of bone marrow-derived cells.

Huber BC, Beetz NL, Laskowski A, Ziegler T, Grabmaier U, Kupatt C, Herbach N, Wanke R, Franz WM, Massberg S, Brunner S.

J Cell Mol Med. 2015 May;19(5):1033-41. doi: 10.1111/jcmm.12494. Epub 2015 Mar 8.

Short-term inhibition of DPP-4 enhances endothelial regeneration after acute arterial injury via enhanced recruitment of circulating progenitor cells.

Brenner C, Kränkel N, Köhlenthal S, Israel L, Remm F, Fischer C, Herbach N, Speer T, Grabmaier U, Laskowski A, Gross L, Theiss H, Wanke R, Landmesser U, Franz WM.

Int J Cardiol. 2014 Nov 15;177(1):266-75. doi: 10.1016/j.ijcard.2014.09.016. Epub 2014 Sep 22.

Increased numbers of bone marrow-derived cells in parathyroid adenoma.

Grabmaier U\*, Brandl L\*, Kreiner J, Negele T, Huber BC, Rimbach C, David R, Brunner S.

Eur J Clin Invest. 2014 Sep;44(9):833-9. doi: 10.1111/eci.12302.

The role of 1.5 tesla MRI and anesthetic regimen concerning cardiac analysis in mice with cardiomyopathy.

Grabmaier U\*, Theiss HD\*, Keithahn A, Kreiner J, Brenner C, Huber B, von der Helm C, Gross L, Klingel K, Franz WM, Brunner S.

PLoS One. 2014 Apr 18;9(4):e94615. doi: 10.1371/journal.pone.0094615. eCollection 2014.

Preconditioning with levosimendan before implantation of left ventricular assist devices.

Theiss HD, Grabmaier U, Kreissl N, Hagl C, Steinbeck G, Sodian R, Franz WM, Kaczmarek I.

Artif Organs. 2014 Mar;38(3):231-4. doi: 10.1111/aor.12150. Epub 2013 Oct 22.

Enhanced stem cell migration mediated by VCAM-1/VLA-4 interaction improves cardiac function in virus-induced dilated cardiomyopathy.

Brunner S, Theiss HD, Leiss M, Grabmaier U, Grabmeier J, Huber B, Vallaster M, Clevert DA, Sauter M, Kandolf R, Rimmbach C, David R, Klingel K, Franz WM.

Basic Res Cardiol. 2013 Nov;108(6):388. doi: 10.1007/s00395-013-0388-3. Epub 2013 Sep 25.

*Case reports:*

An alternative immunosuppressive regimen to prolong transplant free survival in a patient with giant cell myocarditis.

Grabmaier U\*, Brenner C\*, Methe H, Kaczmarek I, Schramm R, Klingel K, Hagl C, Franz WM. Int J Cardiol. 2013 Sep 20;168(1):e27-8. doi: 10.1016/j.ijcard.2013.05.078. Epub 2013 Jun 2.

ECMO therapy after thrombotic left main occlusion bridges prolonged cardiac arrest.

Grabmaier U, Theiss HD, Hagl C, Franz WM. Resuscitation. 2013 Apr;84(4):e57. doi: 10.1016/j.resuscitation.2013.01.016. Epub 2013 Jan 26.

**Reviews:**

Impact of parathyroid hormone on bone marrow-derived stem cell mobilization and migration.

Huber BC, Grabmaier U, Brunner S.

World J Stem Cells. 2014 Nov 26;6(5):637-43. doi: 10.4252/wjsc.v6.i5.637. Review.

MicroRNAs as a diagnostic tool for heart failure and atrial fibrillation.

Weckbach LT\*, Grabmaier U\*, Clauss S, Wakili R.

Curr Opin Pharmacol. 2016 Apr;27:24-30. doi: 10.1016/j.coph.2016.01.001. Epub 2016 Feb 4.

Review.